

Untersuchung der Eigenschaften einzelner photoschaltbarer Moleküle an Oberflächen durch simultane Rasterkraft- und konfokale Fluoreszenzmikroskopie

Dissertation

zur Erlangung des Grades
„Doktor der Naturwissenschaften“
im Promotionsfach Chemie

am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

Tobias Wolfgang Hermann Fischer

geb. in Würzburg

Mainz, 2024

Dekanin:

1. Berichterstatter:

2. Berichterstatter:

Tag der mündlichen Prüfung: 07. März 2024

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Methodische und theoretische Grundlagen	7
2.1	Rasterkraftmikroskopie	7
2.1.1	Prinzip und Aufbau eines Rasterkraftmikroskops	8
2.1.2	Wechselwirkungen zwischen Cantileverspitze und Probenoberfläche	12
2.1.2.1	Van-der-Waals-Wechselwirkung	13
2.1.2.2	Elektrostatische und magnetische Wechselwirkung	15
2.1.2.3	Kapillarkräfte	16
2.1.2.4	Elastische Verformung und Kontaktregion	20
2.1.3	Intermittierender Kontaktmodus	22
2.1.3.1	Theoretische Betrachtung des intermittierenden Kontaktmodus	23
2.1.3.2	Repulsiver und attraktiver Messmodus	24
2.1.3.3	Auflösungslimits und Interpretation des Höhenkontrasts	25
2.2	Konfokale Fluoreszenzmikroskopie	29
2.2.1	Prinzip der konfokalen Mikroskopie	30
2.2.2	Optische Einzelmolekülmikroskopie	31
2.3	Runge-Kutta-Verfahren zur Lösung von Differentialgleichungen zweiter Ordnung	32
3	Experimenteller Teil	35
3.1	Experimenteller Aufbau	35
3.1.1	Rasterkraftmikroskop	35
3.1.2	Konfokales Fluoreszenzmikroskop	39
3.1.2.1	Anregungsquellen	39
3.1.2.2	Anregungs- und Detektionsstrahlengang	41
3.1.2.3	Feinjustage der drei Anregungsstrahlengänge	44
3.1.3	Simultaner Betrieb von Rasterkraft- und Konfokalmikroskop	45
3.1.3.1	Experimentelle Vorkehrungen	46
3.1.3.2	Anforderungen an die Probenbeschaffenheit	49

3.1.3.3	Gegenseitige Ausrichtung der Mikroskope	50
3.1.3.4	Thermische Stabilisierung	53
3.2	Untersuchte Systeme	55
3.2.1	Schaltbares Polyphenyl-Dendrimer mit PDI-Kern	55
3.2.2	Polymerbürste aus konjugierten Blockcopolymeren	59
3.3	Probenpräparation	61
3.3.1	Präparation von Muskovit als Substrat	61
3.3.2	Probenherstellung	63
3.4	Experimentelle Vorgehensweisen	64
3.4.1	Aufnahme von Zeitspuren der Emission	64
3.4.2	Bestimmung der Größenparameter einzelner Moleküle an der Auflösungsgrenze des Rasterkraftmikroskops	65
4	Charakterisierung des AFM-Störsignals bei Kontakt zwischen Probe und Ob- jektiv über einen Ölfilm	67
4.1	Feststellung der Frequenz des Störsignals	68
4.2	Identifizierung von Einflussfaktoren auf das Störsignal	70
4.3	Diskussion und Konsequenzen für die Durchführung von kombinierten Messungen	74
5	Detektion der Größenveränderung photoschaltbarer Dendrimere	77
5.1	Beobachtung der Photoisomerisierung durch polarisationsaufgelöste Intensitätszeitspuren	77
5.1.1	Aufnahme von polarisationsaufgelösten Zeitspuren	78
5.1.2	Identifizierung der Intensitätssprünge	79
5.1.3	Vergleich der Messreihen und Schlussfolgerungen	82
5.1.3.1	Häufigkeit des Auftretens von Stufen im Intensitätsver- lauf	82
5.1.3.2	Größe der Winkeländerung bei der Rotation	85
5.1.3.3	Zusammenfassung der Ergebnisse der polarisations- aufgelösten Detektion der Photoisomerisierung	85
5.2	Detektion der Größenänderung einzelner Dendrimere	86
5.2.1	Messbedingungen zur Detektion der Größenänderungen	86
5.2.1.1	Einfluss der Muskovit-Grenzfläche auf die photophysi- kalischen Eigenschaften der adsorbierten Dendrimere	88
5.2.1.2	Einfluss des repulsiven und attraktiven Betriebsmodus des intermittierenden Kontaktmodus	92
5.2.2	Identifizierung der Dendrimere auf Muskovit und systematische Untersuchung der photoinduzierten Größenänderung	98

5.2.3	Vergleich der Moleküle vor und nach den Bestrahlungsvorgängen	100
5.2.3.1	Qualitative Beschreibung der beobachteten Topografie vor und nach den Bestrahlungsvorgängen	100
5.2.3.2	Bestimmung der Größenparameter der Moleküle . . .	102
5.2.3.3	Vergleich der Größenparameter vor und nach den Bestrahlungsvorgängen	107
5.2.3.4	Beeinflussung der spektroskopischen Eigenschaften des PDI-Kerns durch die Schaltvorgänge	114
5.2.3.5	Beobachtungen von Lageänderungen der Dendrimere durch die Photoisomerisierung	116
5.3	Vergleich der Ergebnisse mit theoretischen Modellen	118
5.3.1	Diskussion des Höhenkontrasts	119
5.3.1.1	Hypothetische Modelle für ein adsorbiertes Dendrimer	119
5.3.1.2	Aufschlüsselung der Wechselwirkung in Einzelkomponenten	121
5.3.1.3	Modellierung der Wechselwirkung zwischen Cantilever und Probe	123
5.3.1.4	Näherung der unbekanntem materialspezifischen Konstanten	129
5.3.1.5	Numerische Kalkulation des erwarteten Höhenkontrastes	131
5.3.1.6	Errechnete Höhenkontraste für die hypothetischen Molekülmodelle	134
5.3.1.7	Vergleich mit den Ergebnissen aus den Rasterkraftmikroskopiemessungen	137
5.3.2	Erklärung des Ausbleibens der Rückreaktion	140
5.4	Zusammenfassung der Ergebnisse und Diskussion	145
6	Zeitabhängige Abnahme der Fluoreszenz von Polymerbürsten aus konjugierten Blockcopolymeren	147
6.1	Aggregation der Blockcopolymeren und Verdünnung der Stammlösung .	147
6.2	Zeitlicher Verlauf der Emission bei einzelnen Polymerbürsten	149
6.2.1	Untersuchung der zeitabhängigen Veränderung der Emission einzelner Polymerbürsten	150
6.2.2	Quantitative Beschreibung der Emissionsintensitätszeitpuren einzelner Polymerbürsten	151
6.2.3	Vergleich des Emissionsintensitätsabfalls unter verschiedenen Messbedingungen	154
6.2.4	Auswirkung des Intensitätsabfalls auf die Topografie einzelner Polymerbürsten	157

6.3	Rückschlüsse auf den Mechanismus der zeitabhängigen Intensitätsabnahme	159
7	Zusammenfassung	163
	Literaturverzeichnis	169
A	Anhang	189
A.1	Länge der Zeitspuren bis zum Bleichen oder bis zu Messende bei den Messungen des Dendrimers auf Glas	189
A.2	Variation der detektierten Molekülparameter im repulsiven Modus	190
A.3	Phasenbild der Nanokristalle: Vergleich von attraktiven und repulsiven Modus	190
A.4	Weitere Beispiele für die Ermittlung von Durchschnittstopografiebildern	191
A.4.1	Vor der Bestrahlung mit UV-Licht.	191
A.4.2	Nach der Bestrahlung mit blauem Licht	192
A.5	Simulation Aspektverhältnis der lateralen Radien	193
A.6	Abschätzung der Substituentenlänge des Dendrimers durch geometrische Überlegungen	194
A.7	Bestimmung der thermischen Drift zwischen zwei Aufnahmen ohne Berücksichtigung der Molekültopografie	195
A.8	Veränderung der Winkel zwischen x,y -Achsensystem und den Achsen der Ellipsoiden	196
A.9	Herleitung der Ausdrücke für den zusätzlichen Energiebetrag bei der Rückreaktion der Photoisomerisierung außerhalb eines Lösemittels	196
A.9.1	Kugel	196
A.9.2	Halbkugel	197
A.9.3	Kalotte	198
A.10	Rasterkraftmikroskopie-Aufnahmen der Polymerbürsten	200
A.10.1	Weitere Topografiebilder der Lösungen nVd und Vd1	200
A.10.2	Topografiebilder von Proben der Lösung Vd2 auf Muskovit, ausgerichtet zu Fluoreszenzflecken	201
A.11	Korrelation von spektraler Lage und Intensität	202
A.12	Regeneration der Emission nach Fluoreszenzbleichen bei Polymerbürsten	203
A.13	Polymerbürsten - Differenzbild nach Photobleichen	203
A.14	Abschätzung der Anzahl an Emittlern im Anregungsfokus	203

1 | Einleitung

Von den Errungenschaften und Entdeckungen auf dem Feld der Nanotechnologie - der Erforschung und Manipulation von Materie im nanoskopischen Bereich - erwarten viele, dass sie eine der treibenden Kräfte in den kommenden technologischen Entwicklungen des 21. Jahrhunderts sein werden [1]. Besondere Bedeutung kommt dabei auch dem Gebiet der molekularen Maschinen zu, welche das Potential haben, gezielt Arbeiten auf diesem Niveau durchzuführen. Für die Pionierarbeit auf diesem Gebiet wurden 2016 Savauge, Stoddard und Feringa der Chemie-Nobelpreis verliehen [2]. Savauge fand in den 1980er Jahren effektive Synthesewege für die vorher schwer zugänglichen Stoffklassen der Catenane und Rotaxane [3], welche aus zwei oder mehr mechanisch verbundenen Makromolekülen bestehen. Stoddard konnte einige Jahre später das Potential dieser Verbindungsklassen für die Verwendung als molekulare Maschinen aufzeigen [4]. Parallel zu dieser Entwicklung standen auch Moleküle, welche zu reversiblen Isomerisierungen angeregt werden können, im Fokus der Entwicklung molekularer Maschinen. Im Jahr 1999 schließlich stellte Feringa das erste Beispiel für einen molekularen Rotor vor, bei welchem gerichtete Rotation erreicht wurde durch eine Serie von Isomerisierungen eines Alkens mit sterisch sehr anspruchsvollen Substituenten. Kontrolliert wurde die Rotation durch eine Abfolge aus optischen Anregungen und zwischenzeitlichen thermischen Relaxationen [5].

Molekulare Schalter sind eine viel benutzte Klasse molekularer Maschinen und werden eingesetzt, um präzise Kontrolle über Prozesse auf der nanoskopischen Ebene auszuüben. In der Regel werden als molekulare Schalter solche Moleküle oder funktionelle Gruppen bezeichnet, welche ausgelöst durch einen Umweltreiz reversibel von einem stabilen Zustand in einen oder mehrere andere übergehen können [6], wie beispielsweise durch die Änderung der Temperatur [7] oder des pH-Wertes [8, 9], beziehungsweise durch die Wechselwirkung mit Photonen [10–12] oder bestimmten chemischen Substanzen [13, 14]. Diese Schaltung zwischen den verschiedenen Zuständen wird begleitet von der abrupten Änderung der physikalischen oder chemischen Eigenschaften des Moleküls. Ein weit verbreitetes und bereits lange benutztes Beispiel für molekulare Schalter sind pH-Indikatoren [15]. Auch in der Natur sind molekulare Schalter ubiquitär: das Protein Rhodopsin in den Stäbchen-Zellen der Netzhaut des menschlichen Auges enthält beispielsweise den Photoschalter Retinal, dessen Photoisomerisierung für die Hell-Dunkel-Sinneswahrnehmung verantwortlich ist [16, 17].

Die Applikation von Licht als Stimulus kann als die vielleicht vorteilhafteste Methode zur Auslösung eines molekularen Schalters gelten: Der Stimulus ist durch Aktivierung der Lichtquelle quasi-instantan verfügbar und auch wieder entfernbar. Es ist damit eine hohe zeitliche und auch räumliche Auflösung des Umweltreizes möglich und in der Regel werden keine oder nur sehr wenige Nebenprodukte produziert [11, 18]. Eine der typischen Vorgehensweisen, um die Funktionalität molekularer Schalter und auch anderer molekularer Maschinen mit der makroskopischen Welt zu koppeln, ist das Aufbringen dieser auf Oberflächen (z. B. Elektroden [6]), wobei die charakteristischen Eigenschaften der Moleküle bewahrt bleiben müssen [19]. Bei Photoschaltern auf Oberflächen, welche auch im Fokus dieser Arbeit stehen, wurde in vielen Fällen allerdings eine starke Beeinträchtigung oder gar ein vollständiger Verlust der für deren Funktionalität intrinsischen Fähigkeit zum reversiblen Übergang zwischen zwei stabilen Zuständen beobachtet [12, 20–23]. Hierfür wurden - je nach verwendetem Oberflächenmaterial und Photoschalter - eine Reihe von elektronischen und mechanischen Wechselwirkungen mit der Oberfläche als Ursache diskutiert. Es wurden jedoch auch Strategien gefunden, diese Wechselwirkungen zwischen Photoschalter und Oberfläche so zu modifizieren, dass die Funktionalität der Photoschalter in größerem Umfang bewahrt werden kann [12, 24, 25]. Die Wechselwirkung mit Oberfläche kann auch ausgenutzt werden, um neue Pfade für reversible Übergänge zwischen verschiedenen Zuständen des Photoschalters zu öffnen [26]. Die Veränderung der Eigenschaften der Photoschalter durch Aufbringung auf einer Oberfläche, mit welcher sie wechselwirken, bleiben Gegenstand aktueller Forschung. Das Verständnis der Mechanismen der Wechselwirkung zwischen Oberflächen und Photoschaltern ist eine wichtige Komponente auf dem Weg zur Entwicklung von Anwendungen für molekulare Maschinen.

Die Erforschung von solchen Phänomenen im nanoskopischen Bereich wird erst durch Messmethoden möglich, welche Strukturen in diesen Größenordnungen untersuchen können. Eine Gruppe von weitverbreiteten Methoden, welche dies leisten können, wird unter dem Oberbegriff der Rastersondenmikroskopie zusammengefasst. Darunter versteht man eine Reihe von Mikroskopiemethoden, welche gemein haben, dass eine nanoskopische Sonde in Wechselwirkung zu einer Probenoberfläche oder einem Probeneteilchen auf einer Oberfläche tritt und durch Rasterung der Sonde über die Probe eine Karte der Wechselwirkung mit einer Auflösung von nur wenigen Nanometern oder weniger gewonnen wird. Der Ursprung dieser Methoden ist die Erfindung der Rastertunnelmikroskopie Anfang der 1980er Jahre von Binnig und Rohrer [27], denen für diese gewichtige Errungenschaft 1986 der Nobelpreis für Physik verliehen wurde [28]. Die gemessene Wechselwirkung ist hier ein Tunnelstrom zwischen einer nanoskopischen Metallspitze und einer Probe aus Leiter- oder Halbleitermaterial. Für die 1986 ebenfalls von Binnig, sowie Quate und Gerber, entwickelte Rasterkraftmikroskopie gilt diese Beschränkung auf leitende Probenmaterialien nicht [29]. Bei dieser Methode wird ein Federbalken mit einer nanoskopischen Spitze in Abhängigkeit von attraktiven und repulsiven Kräften zwischen dieser Spitze und der Probe ausgelenkt und diese Auslenkung detektiert. Auf diese Weise kann die Topografie in nanoskopischer

Auflösung auch von Proben aus isolierenden Materialien erhalten werden. Die Rasterkraftmikroskopie ist dabei selbst zur Untersuchung sehr weicher Probenmaterialien, wie zum Beispiel Proteinen und anderen biologischen Proben oder auch synthetischen Makromolekülen, geeignet [30–38]. Diese universelle Einsetzbarkeit bei Proben aller Materialien und in Vakuum, Gasen und Flüssigkeiten als umgebendes Medium [39–42], sowie die Fähigkeit dieser Methode, auch zur Manipulation der Probe eingesetzt zu werden [43–47] und unter spezifischen Bedingungen Auflösungen bis in den subatomaren Bereich [48–50] zu erzielen, begründet ihre große Verbreitung in der Forschung zur Nanotechnologie.

Durch Kombination der Rasterkraftmikroskopie mit optischen Mikroskopiemethoden werden weitere Messgrößen für die Untersuchung nanoskopischer Strukturen zugänglich. Die Verknüpfung von Rasterkraftmikroskopie und zum Beispiel konfokaler Fluoreszenzmikroskopie ermöglicht es, das hohe räumliche Auflösungsvermögen der Rasterkraftmikroskopie mit photophysikalischen Analysemethoden, wie der spektroskopisch oder zeitlich aufgelösten Untersuchung der Emission, zu verbinden [51, 52]. Die konfokale Fluoreszenzmikroskopie ist ein etabliertes Verfahren zur Untersuchung photophysikalischer Phänomene und wird auch häufig zur Untersuchung einzelner Fluorophore eingesetzt [53]. Das Potential der spektroskopischen Untersuchung einzelner Moleküle wurde das erste Mal von Moerner und Kador durch die spektrale Unterscheidung einzelner Moleküle bei kryogenen Temperaturen aufgezeigt [54]. In der Folge wurde auch optische Mikroskopie bei Raumtemperatur zur spektroskopischen Einzelmolekül-Untersuchung erfolgreich verwendet [55–59]. Die optische Einzelmolekülmikroskopie konnte zur Erforschung einer Reihe von physikalischen Phänomenen von Fluorophoren eingesetzt werden, welche sonst durch die Ensemblemittelung nicht zugänglich waren, wie zum Beispiel Singulett-Triplett-Übergänge [60] oder Photonen-Antibunching [61].

Bei der Kombination von Rasterkraftmikroskopie mit optischer Mikroskopie können zwei prinzipiell verschiedene Ansätze verfolgt werden: Die Messungen mit beiden Methoden können nacheinander ausgeführt werden, wobei die Positionen auf der Probe in den beiden Messungen durch die Korrelation individueller Orientierungsmarkierungen zugeordnet werden [62], oder sie können simultan erfolgen. Durch die Kombination können spektroskopische oder andere photophysikalische Eigenschaften mit strukturellen Eigenschaften korreliert werden, welche durch das Rasterkraftmikroskop aufgelöst werden können [63–65]. Ein entscheidender Vorteil simultaner gegenüber aufeinanderfolgender Messung ist, dass auch zeitliche Zusammenhänge zwischen den Beobachtungen beider Mikroskopiemethoden hergestellt werden können. Notwendig wird dies insbesondere bei der Verwendung der Cantileverspitze als Manipulationswerkzeug. Durch die physische Annäherung einer Sonde mit fluoreszenzlöschenden Eigenschaften kann beispielsweise die Fluoreszenz einzelner Fluorophore gezielt unterdrückt werden [66–71]. Die Cantileverspitze kann außerdem benutzt werden, um Partikel oder Moleküle relativ zur Oberfläche zu bewegen und dabei zum Beispiel die Feldverstärkung zwischen Goldnanopartikeln [72] oder die Energietransfer-Effizienz zwischen einem Donor-Akzeptor-Paar zu steuern [73–75]. Sie kann außerdem

auch verwendet werden, um eine Kraft auf die Probe auszuüben und auf diese Weise die photophysikalischen Eigenschaften der Probe zu manipulieren [44, 76–78].

Im Fokus dieser Arbeit stand die Untersuchung der Eigenschaften von einzelnen, auf einer nicht-leitenden Oberfläche adsorbierten Dendrimeren, welche die Befähigung zur Größenveränderung mittels Photoschaltung besitzen, und einzelnen Aggregaten bestehend aus Blockcopolymeren, deren Fähigkeit zur Aggregation mit Photoschaltung gesteuert werden kann. Dazu wurde eine Kombination aus Rasterkraftmikroskop und konfokalem Fluoreszenzmikroskop eingesetzt, um mittels korrelativer Mikroskopie einzelne Moleküle auf einer Oberfläche zu detektieren und zu analysieren.

Bei dem ersten untersuchten Molekül handelte es sich um ein Dendrimer mit Perylendiimid-Kern, dessen Volumen und Form durch die gezielte Auslösung von Photoisomerisierungen in den Substituenten reversibel verändert werden kann [79]. Die Untersuchungen an diesen photoschaltbaren Dendrimeren hatten zum Ziel, die durch die Schaltung ausgelöste Form- und Volumenänderung bei einzelnen Molekülen zu detektieren, welche auf einer Oberfläche - typischerweise Muskovit - adsorbiert waren. Von besonderem Interesse waren bei den Experimenten die Auswirkungen der Adsorption der Dendrimere auf deren physikalische Eigenschaften, insbesondere auf die Fähigkeit zur Photoschaltung. Durch die Photoschaltung sind neben der Veränderung der Form, welche mit dem Rasterkraftmikroskop detektiert werden kann, auch Bewegungen relativ zur Oberfläche denkbar. Die Verwendung einer Kombination aus Rasterkraft- und Fluoreszenzmikroskopie kann hier zu einer sichereren Identifizierung der Dendrimere im Topografiebild benutzt werden. Dies ist möglich, da - neben der Detektion als Erhebung bestimmter Größe in der Topografie - durch die Messung der Emission der Perylendiimid-Kerne ein Informationskanal zur Verfügung steht, der auch eine spektroskopische Identifizierung der Dendrimere möglich macht. Dies ist von entscheidendem Vorteil zur Unterscheidung der gewünschten Molekülen von Kontaminationen ähnlicher Größe und erlaubt auch eine Identifizierung der Moleküle, wenn deren Größe im Topografiebild von den Erwartungen abweicht. Außerdem können mit Hilfe des konfokalen Mikroskops einzelne Moleküle gezielt zur Photoisomerisierung angeregt werden. Das Konfokalmikroskop wird also nicht nur zur photophysikalischen Untersuchung eingesetzt, sondern auch zur Manipulation der Moleküle durch das vorsätzliche Auslösen der Photoschaltungen. Durch die Analyse des zeitlichen Verlaufs der Polarisation des Emissionslichts können zusätzlich auch Hinweise auf Rotationsbewegungen relativ zur Oberfläche - z.B. ausgelöst durch die Photoschaltung - gewonnen werden. Die Charakterisierung der Topografie der Dendrimere vor und nach der Anregung zur Photoschaltung ermöglicht es, Hinweise auf eine erfolgreiche Schaltung zu sammeln. Außerdem kann auf diese Weise der Einfluss der Umgebungsbedingungen auf der Oberfläche auf die Struktur und die Strukturveränderungen der adsorbierten Moleküle untersucht werden. Zur Interpretation der zum Teil unerwarteten Ergebnisse bei den Messungen der Topografie war es außerdem von Interesse, theoretische Werte für die erwartete Topografie der Dendrimere auf Muskovit unter atmosphärischen Bedingungen zu erhalten. Dazu wurden die Wechselwirkungen der

Cantileverspitze und der Probe modelliert und die daraus zu erwartenden Höhenwerte der Dendrimere numerisch kalkuliert und mit den Messwerten verglichen. Die Modellierung der Wechselwirkung unter atmosphärischen Bedingungen konnte dabei in Anlehnung an frühere Arbeiten erfolgen, bei welchen eine starke Abhängigkeit der zu scheinbaren Höhe eines Partikels auf einer Oberfläche von den äußeren Bedingungen, wie der Luftfeuchtigkeit und der Größe der Cantileverspitze, sowie den chemischen und physikalischen Eigenschaften von Substrat und Partikel, gefunden werden konnte [80–82].

Als zweites Projekt dieser Arbeit wurden Blockcopolymere untersucht, deren Löslichkeit in Chloroform durch eine Photoschaltung so geändert werden kann, dass diese zu Polymerbürsten aggregieren. Es ist dabei möglich, die Länge der Polymerbürsten durch die Anregung der Photoschalter gezielt zu beeinflussen [83]. Die Polymerbürsten zeigen - adsorbiert auf einem nicht-leitendem Substrat - ein ungewöhnliches zeitabhängiges Fluoreszenzverhalten. Durch die Kombination aus Rasterkraft- und Fluoreszenzmikroskopie wurde diese zeitabhängige Veränderung der Emission systematisch untersucht. Es wurde außerdem ergründet, ob während der beobachteten Intensitätsabnahme Änderungen der spektroskopischen Eigenschaften oder der Topografie der Polymerbürsten beobachtet werden können.

Die Präsentation der hier durchgeführten Experimente und ihrer Ergebnisse ist, wie folgend beschrieben, gegliedert. In Kapitel 2 werden die verwendeten Mikroskopiemethoden beschrieben, sowie das mathematische Verfahren kurz erläutert, welches für die numerische Kalkulation von Höhenwerten in der Rasterkraftmikroskopie Anwendung fand. In Kapitel 3 finden sich die Beschreibung des verwendeten kombinierten Messaufbaus und der experimentellen Voraussetzungen, die für den simultanen Betrieb der beiden Mikroskope erforderlich sind. Anschließend wird die Präparation der Proben beschrieben und die beiden untersuchten Fluorophore detailliert charakterisiert. Zum Abschluss des Kapitels werden wiederkehrende Messroutinen erläutert. In vielen Rasterkraftmikroskopie-Experimenten trat eine oszillierende Störung auf, die in Kapitel 4 charakterisiert und auf ihre Ursachen untersucht wird. Daraus ergeben sich wichtige Schlussfolgerungen für die Kombination von Rasterkraftmikroskopie mit optischer Mikroskopie bei der Messung von Partikeln mit nur sehr geringer topografischer Höhe auf der Oberfläche, wie den untersuchten photoschaltbaren Dendrimeren. In Kapitel 5 findet sich schließlich die ausführliche Beschreibung, Auswertung und Diskussion der Experimente an den photoschaltbaren Dendrimeren. Die numerische Berechnung von theoretischen Vergleichswerten für die Topografie der Dendrimere und die dafür nötige mathematische Modellierung der Wechselwirkungen zwischen Probe und Cantilever werden diskutiert und mit den Messergebnissen verglichen. In Kapitel 6 finden sich die Resultate und die Diskussion der Untersuchungen des zeitabhängigen Fluoreszenzverhaltens der Polymerbürsten. Abschließend werden in Kapitel 7 die Erkenntnisse dieser Arbeit zusammengefasst.

2 | Methodische und theoretische Grundlagen

Bei den Experimenten dieser Arbeit wird eine Kombination aus Rasterkraftmikroskop und konfokalem Fluoreszenzmikroskop eingesetzt, um einzelne Moleküle oder Nanopartikel simultan zu untersuchen. In diesem Kapitel wird daher auf die Grundlagen der verwendeten Mikroskopiemethoden eingegangen. Außerdem wird kurz die mathematische Vorgehensweise beschrieben, welche benutzt wurde, um theoretische Vergleichswerte zu den Ergebnissen der Rasterkraftmikroskopie-Experimente zu erhalten.

Zunächst wird die Funktionsweise von Rasterkraftmikroskopen, sowie die Kräfte, die zwischen einer Probe und der Rastersonde wirken und der verwendete Betriebsmodus theoretisch beschrieben. Danach erfolgt eine kurze Diskussion des Prinzips von konfokalen Fluoreszenzmikroskopen und ihrer Anwendung zur spektroskopischen Untersuchung einzelner Moleküle. Abschließend erfolgt die Erläuterung des Algorithmus, welcher zur Berechnung theoretischer Höhenwerte des Rasterkraftmikroskops eingesetzt wurde.

2.1 Rasterkraftmikroskopie

Die Rasterkraftmikroskopie gehört zu den Rastersondenmikroskopiemethoden. Dieser Gruppe von Oberflächenuntersuchungsmethoden ist gemein, dass die Oberfläche der Probe durch Wechselwirkung mit einer Sonde charakterisiert wird. Die Probe wird dabei von der Sonde abgerastert und an jedem Punkt der abgerasterten Fläche die Wechselwirkung zwischen Sonde und Probe bestimmt, wodurch eine Interaktionskarte erhalten wird. Das Auflösungsvermögen, welches bei diesen Methoden typischerweise im Nanometerbereich liegt, wird vor allem limitiert durch physikalische Eigenschaften der Sonde, wie zum Beispiel ihrer Größe. Die Art der Sonde und die Art der Wechselwirkung bestimmen, um welchen Typ von Rastersondenmikroskopie es sich handelt. Die erste Methode dieser Art war die Rastertunnelmikroskopie [27], bei welcher durch Anlegen einer Spannung zwischen einer sehr spitz zulaufenden Spitze aus einem Leitermaterial und der Probe ein Tunnelstrom induziert wird, welcher als Messgröße dient. Das Probenmaterial ist bei dieser Methode auf Leiter- und Halbleitermaterialien beschränkt. Diese Einschränkung gilt für die 1986 entwickelte Rasterkraftmikroskopie [29] nicht, bei welcher sowohl Sonden- als

auch Probenmaterial nicht leitend sein müssen. Als Sonde dient hier eine nanoskopische Spitze am freien Ende eines Federbalkens (Cantilever), dessen Auslenkung aufgrund der Kräfte, welche zwischen Spitze und Probe wirken, zur Erstellung von Topografie-Bildern verwendet wird.

Neben der Aufnahme von Topographie-Bildern können Rasterkraftmikroskope auch verwendet werden, um die Kraft zwischen einer Cantileverspitze und einer Probe abstandsabhängig zu untersuchen ("Kraft-Abstands-Kurven") [84–86], um Zugexperimente an zwischen Spitze und Substrat befestigten Molekülen durchzuführen [87–90], um Materialeigenschaften - wie zum Beispiel das Elastizitätsmodul - auf nanoskopischer Ebene zu untersuchen [91–93] oder auch um die Probe mit Hilfe der Spitze - zum Beispiel durch das Ausüben von Kräften [43, 44, 77] oder durch gezieltes Platzieren von Partikeln [45, 94, 95] - präzise zu manipulieren. Dabei ist sogar die Gewinnung von in klassischer Synthese bislang nicht zugänglicher Verbindungen möglich [96]. Derartige Messungen können außerdem in verschiedenen Medien durchgeführt werden - neben Gasen auch in Flüssigkeiten [39, 41, 42] und im Vakuum [40, 48]. Diese vielseitigen Anwendungsgebiete haben die Rasterkraftmikroskopie zu einem der wichtigsten Werkzeuge zur Untersuchung und Beeinflussung von Nanopartikeln und Oberflächenstrukturen im nanoskopischen Bereich gemacht.

Im folgenden Kapitel wird die Funktionsweise und der Aufbau eines Rasterkraftmikroskops genauer erläutert. Anschließend wird der in dieser Arbeit hauptsächlich verwendete Betriebsmodus - der intermittierende Kontakt-Modus („Tapping Mode“) - detailliert vorgestellt. Außerdem werden die zwischen Spitze und Probe wirkenden Kräfte diskutiert, sowie die physikalischen Modelle, um diese mathematisch beschreiben zu können.

2.1.1 Prinzip und Aufbau eines Rasterkraftmikroskops

Der grundlegende Aufbau eines Rasterkraftmikroskops besteht aus einem Federbalken mit einer Spitze an dessen Ende (Cantilever), einem Detektionssystem für die Auslenkung dieses Cantilevers, sowie aus piezoelektrischen Positionierungssystemen, welche die Probe relativ zur Spitze verschieben können und welche die Höhenposition des Cantilevers kontrollieren (siehe Abbildung 2.1).

Bei einer Rasterkraftmikroskopiemessung wird die sehr scharfe Spitze in Wechselwirkung mit der Probenoberfläche gebracht. Der Apex der Spitze ist dabei typischerweise nur wenige Nanometer breit - in idealen Fällen besteht er sogar nur aus einem einzelnen Atom. Die Spitze befindet sich am Ende des Cantilevers, welcher abhängig von der Interaktion der Spitze mit der Probe ausgelenkt wird - zur Probe hin, wenn attraktive Kräfte und von der Probe weg, wenn repulsive Kräfte dominieren (siehe Kapitel 2.1.2). Die Detektion der Auslenkung des Cantilevers kann auf verschiedene Art und Weise erreicht werden. Im ersten Rasterkraftmikroskop wurde die Auslenkung des Cantilevers mit Hilfe eines Rastertunnelmikroskops gemessen [29]. Über dem leitenden Cantilever befand sich eine weitere leitende Metallspitze. Zwischen dieser und dem Cantilever wurde durch Anlegen

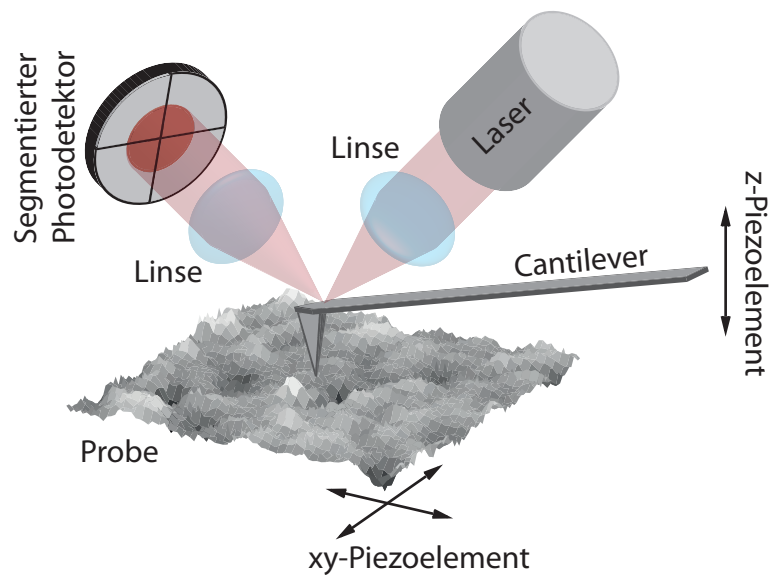


Abbildung 2.1: Schematischer Messaufbau eines Rasterkraftmikroskops. Die Auslenkung des Cantilevers wird durch Detektion des auf der Oberseite reflektierten Laserlichts auf einer Viersegmentphotodiode gemessen.

einer Spannung ein Tunnelstrom erzeugt, dessen Stärke abhängig vom Abstand und damit von der Auslenkung des Cantilevers war. Die heute am stärksten verbreitete Methode detektiert jedoch die Cantilever-Auslenkung über die Reflektion eines Lichtstrahls auf einer spiegelnden Fläche auf der Oberseite des Cantilevers [97]. Durch dessen Auslenkung ändert sich der Winkel zwischen eintreffendem Lichtstrahl und reflektierender Fläche, wodurch der reflektierte Strahl nun in einem anderen Winkel abgelenkt wird. Diese Änderung kann mit einer segmentierten Photodiode gemessen werden. Deren photosensitive Fläche ist typischerweise in vier Segmente aufgeteilt, welche unabhängig voneinander die auf ihre Detektionsfläche treffende Lichtintensität messen. Durch einen Vergleich der gemessenen Intensitäten auf den vier Segmenten wird der zentrale Auftreffpunkt des reflektierten Lichtstrahls auf der segmentierten Photodiode mit hoher Präzision ermittelt. Somit ist die Detektion von Änderungen möglich, welche durch sehr kleine Auslenkungen des Cantilevers verursacht werden. Die Auslenkung des Cantilevers z ist proportional zur Kraft F_z , die auf ihn wirkt. Dies kann durch das Hookesche Gesetz für Federpendel ausgedrückt werden (Gleichung 2.1) [98]. Die Proportionalitätskonstante ist die Federkonstante k .

$$F_z = -k \cdot z \quad (2.1)$$

Nachdem die Spitze nahe der Oberfläche der Probe platziert wurde und in Wechselwirkung zu dieser getreten ist, kann durch Rasterung der Spitze über die Probe Punkt für Punkt die Interaktion der Spitze mit der Probe aufgezeichnet werden und damit ein Bild von der Proben topografie erzeugt werden. Die für die Rasterung erforderliche Bewegung wird dabei

üblicherweise von einem piezoelektrisch gesteuertem x, y -Positionierungssystem ausgeführt, welches Bewegungen im sub-Nanometerbereich ermöglicht. Dabei kann je nach Aufbau des Mikroskops entweder die Spitze über die Probenoberfläche oder die Probe relativ zu einer in der x, y -Ebene unbewegten Spitze bewegt werden. Die Höhenpositionierung der Spitze über der Probenoberfläche wird ebenfalls über ein Piezosystem erreicht, welches Bewegung in z -Richtung ermöglicht. Das Auflösungsvermögen des Rasterkraftmikroskops ist hierbei im Wesentlichen durch die Dimensionen der Spitze begrenzt. Auf diese Weise können Oberflächenstrukturen aufgelöst werden, welche durch klassische Lichtmikroskopie aufgrund des Beugungslimits nicht zugänglich sind.

Die gemessene Interaktion zwischen Spitze und Probe wird in einen Regelkreis eingespeist. Dabei wird die gemessene Auslenkung des Cantilevers (Istwert) mit einem voreingestellten Sollwert verglichen. Aus der Differenz von Ist- und Sollwert kann der Regelkreis abhängig von wählbaren Verstärkungsfaktoren für die verschiedenen Regler einen Stellwert generieren, mit welchem der Abstand des Cantilevers zur Probe so verändert wird, dass diese Differenz möglichst klein ist. Die Benutzung bzw. Nicht-Benutzung dieses Regelkreises spielt eine entscheidende Rolle bei den verschiedenen Betriebsmodi des Rasterkraftmikroskops.

Wenn die Position des Cantilevers über der Probe festgehalten wird (hier wird der Regelkreis effektiv nicht benutzt), kann bei Rasterung über die Probe das Topografiebild aus der aufgezeichneten Auslenkung des Cantilevers erzeugt werden. Diesen Betriebsmodus nennt man den Konstante-Höhe-Modus. Da bei diesem die zwischen der Spitze und Probenoberfläche wirkende Kraft abhängig ist von der Topografie des Bildes, können bei Erhebungen auch Kräfte auftreten, welche so groß sind, dass die Spitze und/oder die Probe beschädigt werden. Auch kann es bei variierender Kraft durch druckabhängige Effekte zu Messartefakten kommen. Durch das Bewegen der Spitze auf der Oberfläche kann es außerdem (z. B. an Kanten) ebenfalls Beschädigungen durch laterale Kräfte geben.

Alternativ dazu kann man durch Nutzen des Regelkreises auch die Auslenkung des Cantilevers (und damit die Kraft) konstant halten, in dem die Position des Cantilevers über der Probe durch den Stellwert verändert wird. Mithilfe der Aufzeichnung des Stellwerts erhält man die Topografie der Probe. Hierbei handelt es sich um den Konstante-Kraft-Modus. Die starken Schwankungen vertikal zur Probenoberfläche wirkender Kräfte werden so weitestgehend vermieden. Der Regelkreis hat jedoch eine endliche Geschwindigkeit. Das bedeutet einerseits, dass bei sehr plötzlich auftretenden Höhenänderungen die Kräfte zwischen Spitze und Probe trotzdem stark ansteigen können, so dass es auf diese Weise zu Beschädigungen kommen kann, und andererseits, dass zusätzlich zum Topografiebild aus der Differenz der gemessenen realen Auslenkung des Cantilevers zum Sollwert ein Fehlerbild erhalten wird, welches zur vollständigen Interpretation der Daten benötigt wird. Auch im Konstante-Kraft-Modus können durch die Bewegung der Spitze über die Oberfläche starke laterale Kräfte auftreten, welche ebenfalls Beschädigungen an Spitze oder Probe verursachen können. Die Vorteile dieser statischen Betriebsmodi liegen in der hohen Mess-

geschwindigkeit, sowie in der einfachen Interpretation der Daten, da die wirkenden Kräfte zwischen Spitze und Probe stets proportional zur gemessenen Auslenkung des Cantilevers sind.

Der Cantilever kann vom Piezosystem auch zur Oszillation angeregt werden. Typischerweise geschieht dies nahe oder bei einer seiner Resonanzfrequenzen. Durch die Wechselwirkung der Spitze mit der Probenoberfläche wird die Amplitude der Oszillation des Cantilevers im Vergleich zum freischwingenden Fall in Abhängigkeit der wirkenden Kräfte gedämpft. Dies wird als intermittierender Kontaktmodus bezeichnet (auch „Tapping Mode“ [99]). Die Spitze des Cantilevers durchläuft innerhalb einer Oszillation dabei verschiedene Kraftwirkungsbereiche (attraktiv und repulsiv) in Abhängigkeit vom Abstand zur Oberfläche. Die Amplitude der Cantileveroszillation kann als Istwert in den Regelkreis eingespeist werden. Analog zu den statischen Betriebsmodi Konstante-Höhe- und Konstante-Kraft-Modus kann man hier zwischen einem Konstante-Höhe- und einem Konstante-Amplitude-Modus unterscheiden. In diesen dynamischen Betriebsmodi werden laterale Kräfte auf die Spitze im Vergleich zu den statischen Modi minimiert, wodurch Beschädigungen der Spitze oder Probe unwahrscheinlicher werden und die Messung von weichen, verformbaren Probenoberflächen möglich wird. Eine genauere Beschreibung der Vor- und Nachteile, sowie die theoretische Beschreibung des intermittierenden Kontakt-Modus findet sich in Kapitel 2.1.3.

Ein weiterer bildgebender Betriebsmodus ist der Frequenzmodulationsmodus - eine Art von Nicht-Kontakt-Modus [100]. Bei diesem wird der Cantilever ebenfalls zu einer Oszillation bei der Resonanzfrequenz angeregt, typischerweise mit Amplituden von nur wenigen Nanometern. Durch die Wechselwirkung des oszillierenden Cantilevers mit der Probenoberfläche kommt es ebenfalls zu einer Verschiebung der Resonanzfrequenz abhängig vom Gradient der Kraft zwischen Spitze und Oberfläche. Die gesamte Oszillation des Cantilevers findet dabei im attraktiven Kraftbereich direkt über der Oberfläche statt - die Spitze berührt im Umkehrpunkt der Schwingung nicht die Oberfläche (tritt also nicht in repulsive Wechselwirkung zur Oberfläche). Dieser Betriebsmodus hat vor allem bei im Vakuum durchgeführten Rasterkraftmikroskopie-Experimenten große Bedeutung. Aufgrund der fehlenden Dämpfung des Mediums haben Cantileverschwingungen im Vakuum hohe Qualitätsfaktoren, welche die Antwortzeit der Amplitudendämpfung des intermittierenden Kontakt-Modus verlängert. Es wären daher mit der Amplitude als Regelgröße sehr geringe Rastergeschwindigkeiten nötig. Die Frequenzverschiebung des Frequenzmodulationsmodus unterliegt nicht dieser Einschränkung. Mittels des Frequenzmodulationsmodus des Rasterkraftmikroskops können atomare [101], bzw. subatomare [48] Auflösungen von Kristallgittern erreicht werden, sowie die chemische Struktur von einzelnen Molekülen aufgelöst werden [49].

Weiterhin kann man die Spitze des Rasterkraftmikroskops auch an einer lateral fixierten Stelle der Probe heben und senken und durch Aufzeichnung der Cantilever-Auslenkung die Wechselwirkung zwischen Spitze und Probe abstandsabhängig messen (Kraft-Abstands-Kurve) [85, 86]. Auf diese Art können auch gezielt definierte Kräfte auf eine Position auf

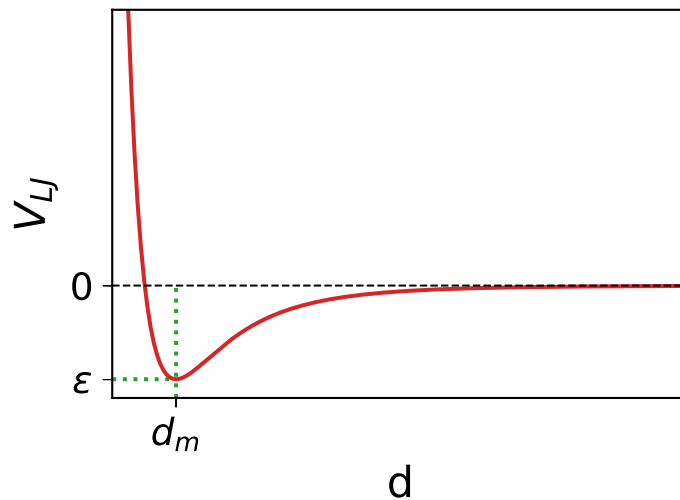


Abbildung 2.2: Lennard-Jones-Potential V_{LJ} als Funktion des Abstands d (siehe Gleichung 2.2).

der Probe ausgeübt werden. Außerdem kann man durch die Anbringung von Molekülen zwischen Spitze und Probenoberfläche Zugexperimente an diesen durchführen [87–90].

Da bei Messungen mit dem Rasterkraftmikroskop Topografien mit einer Empfindlichkeit im Subnanometer-Bereich detektiert werden, können schon sehr geringe Vibrationen des Messaufbaus diese Messungen unmöglich machen oder gar die Cantileverspitze beschädigen. Rasterkraftmikroskope müssen daher gegen äußere Vibrationen und Geräusche effektiv abgeschirmt werden [102]. Typischerweise werden zum Beispiel piezoelektrisch betriebene Vibrationsisolationstische eingesetzt, welche eine aktive und passive Isolation gegen Schwingungen leisten, die auf das Rasterkraftmikroskop übertragen werden könnten.

2.1.2 Wechselwirkungen zwischen Cantileverspitze und Probenoberfläche

Zwischen Cantileverspitze und Probenoberfläche wirken eine Reihe von Kräften, welche sowohl repulsiv, als auch attraktiv sein können und welche Reichweiten von weniger als hundert Pikometern bis zu einigen Nanometern oder mehr haben können. Häufig wird zur Veranschaulichung die Wechselwirkung zwischen Spitze und Probe mit dem Lennard-Jones-Potential V_{LJ} genähert [103–109]. Eine häufige Formulierung von diesem findet sich in Gleichung 2.2, sowie eine Auftragung gegen den Abstand d in Abbildung 2.2. Das Potentialminimum befindet sich hierbei beim Abstand d_m und hat eine Tiefe von ϵ .

$$V_{LJ} = \epsilon \left[\left(\frac{d_m}{d} \right)^{12} - 2 \left(\frac{d_m}{d} \right)^6 \right] \quad (2.2)$$

Beim Lennard-Jones-Potential werden sowohl Spitze als auch Probe als dimensionslose Punkte betrachtet. Es besteht einerseits aus einem attraktiven Teil, welches durch van-

der-Waals-Wechselwirkungen verursacht wird und der in diesem Modell mit der sechsten Potenz des Abstands abfällt. Außerdem besteht es aus einem sehr starken repulsiven Teil mit einer sehr kurzen Reichweite, welcher als Pauli-Repulsion bezeichnet wird. Hierbei handelt es sich um eine abstoßende Kraft, welche durch das Pauli-Verbot verursacht wird, wenn die Orbitale der Grenzflächenatome übereinander geschoben werden [110]. Diese Wirkung ist besonders stark, wenn durch den Druck der Spitze auf die Probe der Abstand zwischen den Kernen der Grenzflächenatome kleiner als der interatomare Abstand wird. Dieser repulsive Teil wird im Lennard-Jones Potential typischerweise als mit der zwölften Potenz des Abstands schwächer werdend modelliert [111]. Die zwischen der Spitze und der Probenoberfläche wirkende Kraft F_{TS} ergibt sich aus dem negativem Gradienten des Potentials (siehe Gleichung 2.3).

$$F_{TS}(r) = -\frac{dV_{LJ}}{dd} \quad (2.3)$$

Am Lennard-Jones-Potential als idealisierte Näherung für die Wechselwirkung zwischen Spitze und Probe lassen sich Eigenschaften aufzeigen, welche auch in realen Fällen auftreten: Es gibt ein attraktives Kraftregime, das zur Oberfläche hin zunimmt und welches jedoch ab einigen Nanometer Entfernung vernachlässigbar klein wird. Außerdem tritt eine starke repulsive Kraft auf, sobald Spitze und Oberfläche in Kontakt sind. Für eine Modellierung realer Systeme kann die für das Lennard-Jones-Potential verwendete Näherung von zwei dimensionslosen Punkten nicht verwendet werden (diese gilt nur für ein System aus zwei Atomen). In realen Cantileverspitze-Probenoberfläche Systemen treten außerdem weitere Kräfte auf, wie zum Beispiel elektrostatische Kräfte oder - in Atmosphäre als Medium - Kapillarkräfte durch Wasserfilme auf Spitze und Probe. Spitze und Probe sind außerdem nicht starr, sondern unterliegen je nach Material und ausgeübter Kraft reversiblen und irreversiblen Verformungen. In den folgenden Unterkapiteln werden die wichtigsten Kräfte zwischen Cantileverspitze und Probenoberfläche diskutiert und mathematische Modelle dazu vorgestellt.

2.1.2.1 Van-der-Waals-Wechselwirkung

Unter Van-der-Waals-Kräften versteht man eine Reihe von netto-attraktiven, intermolekularen Kräften, welche nicht zur Ausbildung von chemischen Bindungen führen und welche nicht durch elektrostatische Interaktion zwischen Ionen oder ionischen Gruppen zu Stande kommen. Der Begriff entstand aus der van-der-Waals-Gasgleichung, welcher unter anderem die Beobachtung zu Grunde liegt, dass Gase insbesondere bei hohen Drücken und kleinen Temperaturen ein von der idealen Gasgleichung abweichendes Verhalten zeigen. In der van-der-Waals-Gasgleichung ist deshalb ein Korrekturterm enthalten, welcher den attraktiven Wechselwirkungen zwischen den Molekülen geschuldet ist [112, 113]. Als van-der-Waals-Kräfte gelten im Einzelnen die Wechselwirkung zwischen Dipol und Dipol (Keesom-

Wechselwirkung), zwischen Dipol und induziertem Dipol (Debye-Wechselwirkung), sowie zwischen spontan induziertem Dipol und induziertem Dipol (London-Wechselwirkung) [113–116]. Die London-Kräfte, auch als Dispersionskräfte bezeichnet, sind ubiquitär und wirken in allen Materialien, also auch zwischen völlig unpolaren Molekülen und Atomen (z. B. in Edelgasen) und sind der Grund für die Existenz flüssiger und fester Aggregatzustände dieser Substanzen. Die Potentiale der drei Anteile der van-der-Waals-Wechselwirkungen nehmen mit d^{-6} ab [113], wobei d die Distanz zwischen den Zentren der wechselwirkenden Teilchen ist (siehe entsprechenden Term im Lennard-Jones-Potential in Gleichung 2.2). Zwischen Körpern aus kondensierter Materie stellen die London-Kräfte den Hauptanteil der van-der-Waals-Kräfte [117]. Wenn die Distanz zwischen den Teilchen groß genug wird, dass die Zeit, welche die elektrischen Felder brauchen, um sich über diese Distanz auszubreiten, sich in einer ähnlichen Größenordnung befindet, wie die mittlere Lebenszeit der induzierten Dipole, führt dies zusätzlich zur Abstandsabhängigkeit der Dipol-Dipol-Wechselwirkung zu einer Hemmung der van-der-Waals-Interaktion. Der Verlauf des Abfalls des Potentials mit zunehmender Distanz für solche Fälle zeigt eine d^{-7} -Abhängigkeit [118, 119].

Eine häufig benutzte Näherung für van-der-Waals-Kräfte zwischen makroskopischen Körpern ist die Hamaker-Theorie [120]. In dieser wird das Gesamt-van-der-Waals-Potential kalkuliert, indem die Einzel-van-der-Waals-Potentiale zwischen den Atomen der Körper aufsummiert werden. Dabei fließt die Näherung mit ein, dass es zu keiner gegenseitigen Abschirmung der wechselwirkenden Atome kommt. Das erhaltene Wechselwirkungsgesetz ist dabei abhängig von der Geometrie der wechselwirkenden Körper und deren Material. Im Fall der Wechselwirkung einer Cantileverspitze mit einer Probe werden der Apex der Spitze, sowie die Teilchen auf der Probe, meist als Kugeln modelliert, das Substrat hingegen als unendlich weit ausgedehnte Fläche. Für zwei Kugeln mit Radien R_1 und R_2 mit dem kleinsten Abstand d zwischen den Oberflächen der Kugeln, gilt unter den Bedingungen $d \ll R_1, R_2$ Gleichung 2.4.

$$F_{vdW:Kugel-Kugel} = \frac{H}{6} \cdot \frac{R_1 R_2}{R_1 + R_2} \cdot \frac{1}{d^2} \quad (2.4)$$

Für den Fall der Wechselwirkung einer Kugel mit einer Fläche vereinfacht sich dies zu Gleichung 2.5 (Es handelt sich um den Grenzfall $R_2 \rightarrow \infty$) [120, 121].

$$F_{vdW:Kugel-Fläche} = \frac{H}{6} \cdot \frac{R}{d^2} \quad (2.5)$$

Dabei ist H die materialspezifische Hamaker-Konstante, welche ebenfalls eine Abhängigkeit vom Medium besitzt, welches die Körper umgibt [117]. Im Vakuum ist sie definiert nach Gleichung 2.6. Dabei sind q_1 und q_2 die Anzahl der Atome pro Raumeinheit der beiden be-

trachteten Körper und λ_{12} die London-van-der-Waals-Konstante der beteiligten Materialien, welche von stoffspezifischen Eigenschaften wie der Polarisierbarkeit abhängt [120, 122].

$$H = \pi^2 \cdot q_1 \cdot q_2 \cdot \lambda_{12} \quad (2.6)$$

Ein genaueres Modell für die Hamaker-Konstante, welches die makroskopischen Körper als dielektrische kontinuierliche Medien betrachtet und damit die Näherung der vollständigen Additivität der Potentiale zwischen den Atompaaeren umgeht, ist die Lifshitz-Theorie [123, 124].

Grobe Abschätzungen unbekannter Hamaker-Konstanten können aus Kombinationen bekannter Hamaker-Konstanten erhalten werden [122]. In Gleichung 2.7 wird die Hamaker-Konstante H_{12} der Wechselwirkung von zwei Körpern aus verschiedenen Materialien 1 und 2 erhalten durch die Hamaker-Konstanten zwischen Körpern des gleichen Materials H_{11} und H_{22} . Voraussetzung ist, dass das gleiche Medium (oder Vakuum) zwischen den Körpern vorliegt. Die Hamaker-Konstante H_{131} für eine Wechselwirkung über ein Medium 3 kann nach Gleichung 2.8 abgeschätzt werden [117, 122]. H_{33} ist dabei die Hamaker-Konstante im Vakuum zwischen Körpern aus dem Material des Mediums 3.

$$H_{12} \approx \sqrt{H_{11} \cdot H_{22}} \quad (2.7)$$

$$H_{131} \approx (\sqrt{H_{11}} - \sqrt{H_{33}})^2 \quad (2.8)$$

Es existieren ebenfalls Abschätzungen für die van-der-Waals-Wechselwirkung zwischen Körpern, welche eine oder mehrere Schichten von weiteren Materialien (zum Beispiel Wasserfilme) tragen oder von mehreren Medien getrennt sind [117, 125–127]

2.1.2.2 Elektrostatische und magnetische Wechselwirkung

Befinden sich auf Spitze und Probe permanente Ladungen, führen diese - je nach Vorzeichen der Ladungen - zu anziehenden oder abstoßenden Kräften. Das Potential zwischen zwei punktförmigen Ladungsträgern fällt dabei nach dem Coulomb-Gesetz mit r^{-1} ab [128]. Dies bedeutet, dass elektrostatische Wechselwirkungen sehr viel größere Reichweiten haben als die anderen typischen Kräfte zwischen Cantileverspitze und Probe und darüber hinaus - zum Beispiel bei stärker geladenen Oberflächen - über große Teile des Wechselwirkungsbereiches dominieren können [129–132]. Bei der Rasterkraftmikroskopie können störende Ladungen bei der Probenpräparation entstehen, zum Beispiel beim Spalten von Schichtkristallen

[130], welche als Substrat dienen oder durch Potentialdifferenzen zwischen (leitenden) Proben und Cantileverspitzen. Typischerweise beeinträchtigen diese Ladungen die Messung mit dem Rasterkraftmikroskop und es wird daher meist versucht, diese zu vermeiden, indem Potentialdifferenzen zwischen Probe und Spitze ausgeglichen werden [132, 133] (z.B. durch Erdung dieser Teile). Außerdem kann die elektrostatische Aufladung nicht-leitender Teilchen mit Hilfe eines Deionisators durch die Erzeugung eines schwach-leitenden Luftstroms erreicht werden.

Neben elektrostatischen Wechselwirkungen kann es auch zum Auftreten von magnetischen Wechselwirkungen mit langer Reichweite zwischen Cantileverspitze und Probe kommen, wenn diese zum Beispiel aus ferro- oder ferrimagnetischen Materialien bestehen.

Während bei typischen Rasterkraftmikroskopie-Experimenten, deren Ziel es ist, die Topografie einer Probe zu messen, elektrostatische und magnetische Wechselwirkungen aufgrund ihrer langen Reichweite und potentiellen Dominanz über die anderen auftretenden Kräfte nach Möglichkeit vermieden werden, gibt es Spezialformen der Rasterkraftmikroskopie, bei denen speziell diese Kräfte gemessen werden. So können mittels „Magnetic Force Microscopy“ (MFM) die magnetischen Domänen einer Probe mit sehr hoher lateraler Auflösung durch Messung des magnetischen Potentialgradienten erhalten werden [134, 135]. „Electrostatic Force Microscopy“ (EFM) ist eine analoge Methode zur Messung des elektrostatischen Potentials [131, 135, 136]. Bei der mit EFM verwandten Methode „Kelvin-Probe-Force-Microscopy“ (KPFM) kann die Austrittsarbeit von Elektronen aus ungeladenen Oberflächen auf molekularen oder atomaren Skalen gemessen werden [135, 137].

2.1.2.3 Kapillarkräfte

Gasförmiges Wasser in Atmosphärenluft kondensiert spontan an Oberflächen, mit denen es einen kleinen Kontaktwinkel bildet, insbesondere in Poren und Spalten sowie an hydrophilen funktionellen Gruppen [122]. Dieser Effekt tritt typischerweise auch in atmosphärischer Umgebung zwischen dem Apex der Cantileverspitze und der Probenoberfläche oder Probenpartikeln bei sehr kleinen Abständen (wenige nm) auf [138]. Es bildet sich dadurch ein konkaver Wassermeniskus zwischen dem Spitzenapex und der Probe, welcher zu einer anziehenden Kapillarkraft zwischen beiden Körpern führt. Die Ursache für die Kapillarkraft ist die Oberflächenspannung des Wassers. Auf Ebene der Moleküle kann die Oberflächenspannung erklärt werden durch einen Vergleich von Molekülen, welche sich an der Grenzfläche zu Luft befinden und solchen, welche sich im Inneren eines Wasservolumens befinden: Bei Molekülen an der Luft/Wasser-Grenzfläche fehlen im Vergleich zu Molekülen im Inneren Beiträge von negativer Bindungsenergie (attraktive Wechselwirkung), aufgrund der geringeren Anzahl von Umgebungsmolekülen an der Grenzfläche [139, 140]. Aus diesem Grund hat ein gegebenes Wasservolumen stets den Drang seine Oberfläche zu minimieren. Die benötigte Arbeit W , um die Oberfläche eines Wasservolumens um eine bestimmte Fläche

A zu vergrößern, gleicht der zusätzlichen Oberflächenenergie, welche in der zusätzlich erzeugten Fläche enthalten ist [139].

$$dW = \gamma \cdot dA \quad (2.9)$$

Das Verhältnis zwischen der Flächenänderung dA und der Änderung der aufzuwendenden Arbeit dW ist durch die Oberflächenspannung γ gegeben, welche auch als Energiedichte der Oberfläche beschrieben werden kann [139]. Die Oberflächenspannung ist dabei spezifisch für die Medien A und B, zwischen denen die Oberfläche gebildet wird (zum Beispiel Luft und Wasser) und hängt nur von den intrinsischen materialspezifischen Eigenschaften der Medien ab, welche die Oberfläche bilden, und ist somit über alle Punkte der Oberfläche konstant. Die Oberflächenspannung ist außerdem stets positiv - eine negative Oberflächenspannung würde das Freisetzen von Energie bei Vergrößerung der Oberfläche bedeuten, was demnach zum vollständigen Durchmischen von Medien A und B führen würde [122, 139].

An jedem Punkt einer gekrümmten Oberfläche kann die Krümmung durch zwei Kreise mit den Radien r_1 und r_2 beschrieben werden (siehe Abbildung 2.3), deren Kreisflächen orthogonal zueinander sind und welche beide die Normale der Oberfläche enthalten [139]. Die Vorzeichen der Radien werden bestimmt davon, auf welcher Seite der Oberfläche sich das Kreiszentrum befindet. Aufgrund der Oberflächenspannung wirkt auf jede Strecke, welche Teil der Oberfläche ist, eine Kraft senkrecht zu dieser Strecke und entlang der Oberfläche. Diese Kraft ist proportional zur Streckenlänge und zur Oberflächenspannung. Bei gekrümmten Oberflächen führt dies zu einer Netto-Kraft in Richtung des Zentrums des vom Krümmungsradius gebildeten Kreises, sie wirkt also in konkaver Richtung. Dies führt zu einem erhöhten Druck auf das Medium unter der konvexen Oberfläche und zu einem negativen Druckbeitrag in dem Medium unter der konkaven Oberfläche. Dieser Druck wird als Laplace-Druck p_L bezeichnet und ist abhängig von den Krümmungsradien der Oberfläche (siehe Gleichung 2.10) [122, 139, 140].

$$p_L = \gamma \left(\frac{1}{r_1} + \frac{1}{r_2} \right) \quad (2.10)$$

Die Kapillarkraft ist ein Resultat aus diesem negativen Laplace-Druck. Sie führt im Falle des ausgebildeten Wassermeniskus zwischen einer sphärischen, hydrophilen Cantileverspitze mit Radius R_S und einer geraden Probenoberfläche zu einer attraktiven Kraft, welche in atmosphärischer Umgebung häufig *die* dominierende attraktive Kraft ist [138, 141–

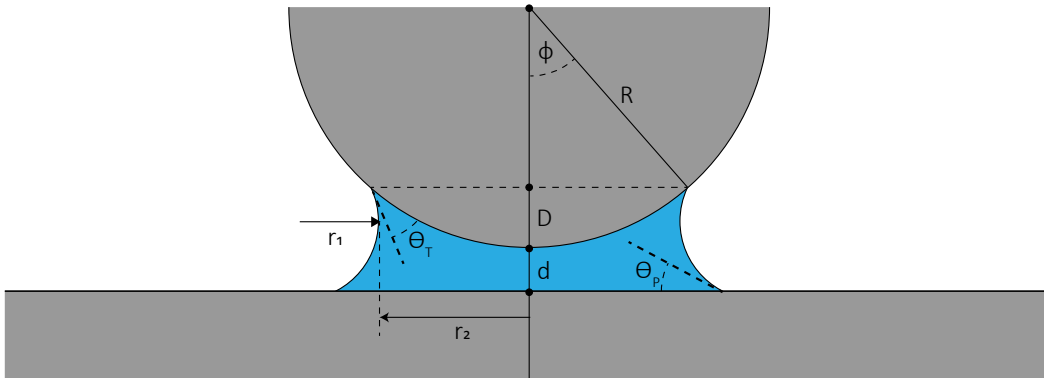


Abbildung 2.3: Schematische Darstellung eines kapillaren Meniskus zwischen einer als Kugel genäherten Cantileverspitze und einer Probenoberfläche im Abstand d als Querschnitt (angepasst aus [122]). Die Oberflächen beider Körper sind hydrophil, weshalb der Meniskus eine attraktive Kraftwirkung besitzt. Die Kraftwirkung ist dabei abhängig von den Radien r_1 und r_2 , welche die Krümmung der Oberfläche des Meniskus beschreiben. Die von r_1 und r_2 beschriebenen Kreisflächen sind senkrecht zur Oberfläche und zueinander. In der Abbildung ist die von r_2 gebildete Kreisfläche parallel zur Probenoberfläche, also orthogonal zur Bildebene.

143] und als Funktion vom Abstand d häufig wie in Gleichung 2.11 modelliert wird [122, 141, 144].

$$F_{Kap} = -2\pi R_S \gamma \chi (1 - (d/d_{off})) \quad (2.11)$$

$$\chi = \cos \theta_T + \cos \theta_P \quad (2.12)$$

Der Faktor χ ergibt sich dabei aus den Kontaktwinkeln θ_T und θ_P von Wasser mit der Spitze, beziehungsweise der Probenoberfläche (siehe Gleichung 2.12) [141, 145]. Beim Entfernen der Spitze von der Oberfläche elongiert sich der Meniskus und bricht bei der Distanz d_{off} , welche aus dem Meniskusvolumen V_{men} angenähert werden kann [144, 146, 147]. Beim Annähern der Spitze bildet sich der Meniskus bei einer Distanz d_{on} aus. Diese wird in der Literatur typischerweise durch das in Kontakttreten von Wasserfilmen mit Höhe h auf den Oberflächen von Spitze und Probe postuliert, welche auch zum Berechnen des Meniskusvolumens eine Rolle spielen [80, 144, 147, 148]. Generell gilt $d_{off} \geq d_{on}$, wodurch es zu einer Hysterese - also einer Energiedissipation - beim Annähern und anschließenden Entfernen der Cantileverspitze von der Probenoberfläche kommt.

Bei der oben vorgestellten Modellierung muss allerdings beachtet werden, dass davon ausgegangen wird, dass sich zu jedem Zeitpunkt beim Annähern oder Entfernen der Spitze das thermische Gleichgewicht eingestellt hat. Das bedeutet insbesondere, dass sich das Meniskusvolumen durch Kondensation und Evaporation von Wasser abstandsabhängig ändern kann. Wenn allerdings das Annähern oder Entfernen der Spitze auf mindestens

einer ähnlichen Zeitskala stattfindet, wie das Auskondensieren von Wasser im Spitze-Probe-Zwischenraum, kann dies nicht als gegeben angesehen werden. Vor allem bei Messungen im intermittierenden Kontakt-Modus („Tapping Mode“) kann dies erfüllt sein [141, 149]. Es ist hierbei außerdem zu beachten, dass die Nukleationszeit des Wassers von der Temperatur und der relativen Luftfeuchtigkeit der Umgebung, sowie von der Hydrophilie und der geometrischen Form (inklusive Oberflächenrauigkeit) von Cantileverspitze und Probenoberfläche abhängt [150, 151]. Bei anderen Modellen für die abstandsabhängige Kapillarkraft wird aus diesem Grund von einem konstanten Meniskusvolumen ausgegangen, was zu einem schnelleren Abfall der Kraft mit dem Abstand führt (siehe Gleichung 2.13) [144, 149].

$$F_{Kap} = -\frac{2\pi\gamma R_S \chi}{1 + \frac{\pi R_S d^2}{V_{men}}} \quad (2.13)$$

In der Literatur wird aber auch diskutiert, dass in einigen Fällen experimentelle Daten von Rasterkraftmikroskopen im dynamischen Messmodus von den oben beschriebenen Modellen, bei welchen die Kraft mit zunehmendem Abstand d abnimmt, nur unzureichend reproduziert werden. Bessere Übereinstimmungen werden dort mit Modellen erzielt, die für wenige Nanometer Abstand von der Oberfläche eine konstante attraktive Kraft postulieren. Diese Beobachtungen wurden damit erklärt, dass sich innerhalb eines Oszillationszyklus des Cantilevers der Wassermeniskus gar nicht ausbildet, sondern die Wasserfilme auf Spitze und Probe lediglich überlappen [144].

Die bisher diskutierten Modelle berücksichtigen lediglich den Anteil des Laplace-Drucks im Wassermeniskus an der Kapillarkraft. In einer vollständigen Betrachtung müsste auch die vertikale Komponente der Oberflächenspannung als Kraftkomponente berücksichtigt werden [138]. Ihr Anteil an der wirkenden Kapillarkraft ist jedoch in der Regel klein, weshalb sie in der Literatur meist vernachlässigt wird [145]. Eine weitere Einschränkung der hier diskutierten Modelle für Kapillarkräfte ist, dass sie den Einfluss der relativen Luftfeuchtigkeit nur über die postulierte Höhe h_w der Wasserfilme auf Spitze und Probenoberfläche berücksichtigen. Durch diese wird die Reichweite der Kapillarkraft bestimmt, da die Distanz d_{on} , ab welcher der Meniskus geformt wird, durch h_w angenommen wird (z.B. als $d_{on} = 2h_w$ [80, 144, 147]). Die Höhe der Wasserfilme spielt außerdem eine Rolle bei der Berechnung des Meniskusvolumens V_{men} und damit auch bei der Distanz d_{off} , bei welcher der Meniskus reißt [80, 144, 147]. In der Literatur ist es jedoch durch Experimente und theoretische Überlegungen belegt, dass die maximale Kapillarkraft und deren Reichweite beeinflusst werden durch ein komplexes Zusammenspiel von relativer Luftfeuchtigkeit, Temperatur sowie Hydrophilie und geometrischer Form von Spitze und Probe [111, 138, 143, 152]. Eine weitere Einschränkung der diskutierten Modelle rührt daher, dass das Wasser im Meniskus und in den Wasserfilmen stets als Kontinuum betrachtet wird. Bei Cantileverspitzen

mit Durchmessern von nur wenigen Nanometern ist dies jedoch häufig nicht gerechtfertigt und die Modelle können deshalb nur als sehr grobe Annäherungen an die tatsächlichen Wechselwirkungen gesehen werden.

2.1.2.4 Elastische Verformung und Kontaktregion

Wenn die Cantileverspitze so nahe an der Probenoberfläche ist, dass es zu einer relevanten Überlappung der Orbitale der peripheren Atome der Körper kommt, führt dies aufgrund des Pauli-Ausschlussprinzips zu einer starken repulsiven Kraft mit sehr kleiner Reichweite [110, 111] (siehe erster Term im Lennard-Jones-Potential in Gleichung 2.2), welche auch als Pauli-Repulsion bezeichnet wird. Dies verhindert effektiv eine weitere Annäherung der peripheren Atome. Durch die wirkenden Kräfte können jedoch sowohl Spitze als auch Probe elastisch oder plastisch verformt werden. Ein einfaches Modell für den Kontakt zwischen makroskopischen Kugeln und einer Fläche oder zwischen zwei Kugeln ist das Hertz-Modell [153], welches keine adhäsiven Kräfte berücksichtigt. Für sehr kleine Partikel oder auch im Falle des Apex' einer Cantileverspitze steigt jedoch das Oberfläche-zu-Volumenverhältnis stark an und adhäsive Kräfte zwischen den Oberflächen können nicht vernachlässigt werden [85, 154]. Zu diesem Zweck werden häufig das Johnson-Kendall-Roberts-Modell (JKR-Modell) [155] oder das Derjaguin-Müller-Toporov-Modell (DMT-Modell) [156] verwendet. Im JKR-Modell werden attraktive Kräfte nur innerhalb des Kontaktbereichs berücksichtigt. Es gilt für Kugeln mit großem Radius und aus weichem Material (kleines Elastizitätsmodul E). Das DMT-Modell berücksichtigt adhäsive Kräfte nur außerhalb des Kontaktbereichs und liefert gute Vorhersagen für Kugeln mit kleinem Radius und aus hartem Material (großes Elastizitätsmodul E). Beide Modelle gehen bei größeren angewendeten Kräften in das Hertz-Modell über und können als Grenzfälle der nur numerisch lösbaren Maugis-Theorie verstanden werden [85, 154].

Die Rückstellkraft bei elastischer Verformung ist nach diesen Modellen dabei abhängig von materialspezifischen und geometrischen Eigenschaften von Spitze und Probe, sowie von dem Ausmaß der Einkerbung δ . Die Einkerbung ist das Ausmaß der Verformung der Probe entlang der Achse parallel zum Lot der Probenoberfläche. Für den Fall eines Cantilevers, dessen Spitze in Kontakt zu einer flachen Oberfläche ist, kann die Rückstellkraft durch die Beziehung in Gleichung 2.14 erhalten werden, bei welcher der Apex der Spitze wieder als Kugel mit Radius R_S genähert wird [80, 156–158].

$$F_{rep(Kugel-Fl.)} = \frac{4}{3} \cdot E^* \cdot \sqrt{R_S} \cdot \delta^{3/2} \quad (2.14)$$

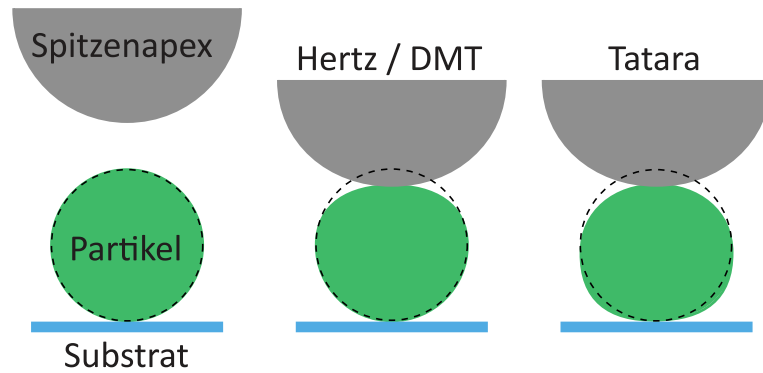


Abbildung 2.4: Schematische Gegenüberstellung (nach [80]) der Deformation eines auf einem Substrat adsorbierten kugelförmigen Partikel im Hertz- bzw. DMT-Kontaktmodell (Mitte) und im Tataro-Modell (rechts).

E^* bezeichnet hier das effektive Elastizitätsmodul, welches sich aus den Elastizitätsmodulen E_i und den Poissonzahlen ν_i von Spitze und Probe nach Gleichung 2.15 errechnen lässt.

$$\frac{1}{E^*} = \frac{1 - \nu_S^2}{E_S} + \frac{1 - \nu_P^2}{E_P} \quad (2.15)$$

Die Rückstellkraft F_{rep} entspricht dem repulsiven Anteil nach dem DMT-Kontaktmodell und wird häufig für theoretische Beschreibungen der wirkenden Kräfte bei Rasterkraftmikroskopie verwendet [80, 148, 157, 158]. Für den Fall des Kontakts der Spitze mit einem kugelförmigen Partikel auf der Probenoberfläche kann der Kugelradius des Spitzenapex R_S ersetzt werden durch den effektiven Kugelradius R^* , welcher aus der reziproken Addition von Spitzenradius und Partikelradius erhalten wird (vergleiche dazu auch Gleichungen 2.4 und 2.5). In diesem Modell würde jedoch nur eine Deformation in der Kontaktzone zwischen Partikel und Spitze berücksichtigt. Eine realistischere Betrachtung würde jedoch bei einem auf einer Substratoberfläche adsorbierten Partikel, auf welchen von einer Spitze Kraft ausgeübt wird, eine Verformung auch in der Kontaktzone zwischen Substrat und Partikel erwarten. Dies findet im Tataro-Modell Berücksichtigung [80, 159–161], welches in Gleichung 2.16 in Abhängigkeit von den Parametern a und a_c dargestellt wird. Die Definitionen der Parameter findet sich in Gleichungen 2.17 und 2.18.

$$F_{rep(Kugel-Kugel)} = a \cdot (\delta^*)^{(3/2)} + \left(\frac{3a^2}{2a_c} \right) \cdot (\delta^*)^2 + \left(\frac{15a^3}{8a_c^2} \right) \cdot (\delta^*)^{(5/2)} \quad (2.16)$$

$$a = \frac{4}{3} \cdot E^* \cdot \sqrt{R^*} \quad (2.17)$$

$$a_c = \frac{4\pi R_P E_P}{(1 + \nu_P)(3 - 2\nu_P)} \quad (2.18)$$

Der Parameter a aus Gleichung 2.17 ist dabei analog zu den geometrischen und material-spezifischen Beiträgen in Gleichung 2.14. Die Rückstellkraft ist hier in Abhängigkeit der Deformation des oberen Teils des sphärischen Partikels $\delta^* = \delta/2$ dargestellt.

In der Kontaktregion kann an den Grenzflächen die Wechselwirkung zwischen den Atomen der Cantileverspitze und der Probenoberfläche außerdem auch den Charakter von kovalenten Bindungen oder Wasserstoffbrückenbindungen einnehmen [162–164]. In Abwesenheit von anderen starken Adhäsionskräften wie Kapillarkräften (zum Beispiel bei Messungen in flüssigem Medium) kann dies dazu verwendet werden, die Kraft einzelner chemischer Bindungen zu charakterisieren [165–169].

2.1.3 Intermittierender Kontaktmodus

Der intermittierende Kontaktmodus (auch engl. *Tapping Mode* genannt) der Rasterkraftmikroskopie wurde zur Vermeidung der Abbildungsfehler des Kontaktmodus entwickelt, welche vor allem aufgrund der Scherkräfte entstehen, wenn die Cantileverspitze bei der Rasterung lateral über die Probe bewegt wird [93, 99, 170]. Im intermittierenden Kontaktmodus wird der Cantilever des Rasterkraftmikroskops zu Schwingungen bei oder nahe einer seiner Eigenfrequenzen angeregt. Die Bewegung des Cantilevers ist dabei phasenverschoben zur oszillierenden Antriebskraft - bei Anregung genau an der Resonanzfrequenz beträgt die Phasenverschiebung $\pi/2$ bzw. 90° [171, 172]. Durch Interaktion der Spitze mit der Probenoberfläche kommt es zu einer Dämpfung der Cantileverschwingung im Vergleich zur freien Oszillation. Zusätzlich tritt auch eine Verschiebung der Resonanzfrequenz auf, die aber in diesem Betriebsmodus nicht abgefragt wird. Je nach Auslenkung des Cantilevers, kann die Spitze während einer Oszillation den gesamten Wechselwirkungsbereich aus attraktiven und repulsiven Interaktionen durchlaufen. Typischerweise tritt die Spitze am der Probe zugewandten Umkehrpunkt der Oszillation in mechanischen Kontakt zur Oberfläche. Mit mechanischen Kontakt ist dabei gemeint, dass sich die Atome von Spitze und Probe aufgrund starker Pauli-Repulsion nicht weiter annähern können und es stattdessen zu Verformungen von Spitze und/oder Probe kommt (siehe Kapitel 2.1.2.4). Durch die kurze Kontaktzeit zur Probe während eines Oszillationszyklusses werden die lateralen Kräfte durch die Rasterung minimiert. Beim Rastern über die Probe kann durch die Änderung der Amplitude der gedämpften Schwingung (Konstante-Höhe-Modus) oder - wenn die Amplitude durch den Regelkreis bei einem Sollwert konstant gehalten wird - durch den Verfahrensweg des z-Piezopositionierungssystems (Konstante-Amplitude-Modus) ein Topografiebild der Oberfläche erhalten werden. In letzterem Fall ergeben sich aufgrund der Trägheit des Regelkreises leichte Abweichungen zwischen der realen Amplitude zum Sollwert, welche in einem Fehlerbild dargestellt werden können. Außerdem kommt es

durch die Interaktion der Spitze mit der Probe zu einer Veränderung der Phase zwischen Anregungszosillation und Schwingung. Dadurch erhält man als weitere Messgröße ein Bild der durch die Spitze-Probe-Interaktion verursachten Phasenverschiebung. Diese ermöglicht es, Informationen über Unterschiede bei der Energiedissipation durch die Wechselwirkung zwischen Spitze und Probe zu erhalten [173, 174].

2.1.3.1 Theoretische Betrachtung des intermittierenden Kontaktmodus

Vor dem direkten mechanischen Kontakt zwischen Spitze und Probe wechselwirken beide hauptsächlich durch attraktive Kräfte, wie van-der-Waals-Kräfte und Kapillarkräfte (siehe Kapitel 2.1.2.1 und 2.1.2.3). Nachdem Spitze und Probe in mechanischen Kontakt getreten sind, dominieren mit zunehmender Annäherung des Cantilevers an die Probe repulsive Kräfte, welche sich als Rückstellkraft aufgrund der elastischen Verformung von Spitze und Probe ergeben (siehe Kapitel 2.1.2.4). Sowohl attraktive als auch repulsive Kräfte führen dabei zu einer Dämpfung der Oszillation der Cantileverspitze im Vergleich zur freien Schwingung. Das Verhältnis zwischen der Amplitude der durch die Wechselwirkung mit der Probe gedämpften Schwingung zur Amplitude der freien Schwingung kann dabei als Maß für die maximalen Kräfte gelten, welche während eines Oszillationszyklusses zwischen Spitze und Probe auftreten. Je kleiner dieses Verhältnis, desto näher ist die Ruheposition des Cantilevers an der Probenoberfläche und desto größer sind die zwischen Spitze und Probe auftretenden Kräfte [171].

Zur quantitativen Beschreibung der Cantileverbewegung im intermittierenden Kontaktmodus dient das Modell eines gedämpften harmonischen Oszillators. Der Cantilever wird dazu als Punktmasse-Feder-System modelliert. Die dynamische Antwort dieses Systems in z -Richtung, welches von einer sinusförmigen externen Kraft angetrieben wird und durch Wechselwirkung mit der Umgebung gedämpft wird, hat als Bewegungsgleichung eine Differentialgleichung zweiter Ordnung [157, 175–179].

$$0 = -m \frac{d^2z}{dt^2} - \frac{\omega_0 \cdot m}{Q} \frac{dz}{dt} - k \cdot z + F_0 \cdot \cos(\omega t) + F_{S,P}(z, z_0) \quad (2.19)$$

Die einzelnen Terme dieser Bewegungsgleichung beschreiben von links nach rechts das zweite Newtonsche Gesetz, die hydrodynamische Dämpfung der Cantileverbewegung mit dem Medium (z.B. Atmosphärenluft oder ein Lösemittel), das Hookesche Federgesetz, die sinusförmige Antriebskraft und die zwischen Spitze und Probe wirkenden Kräfte. Letztere sind abhängig vom Abstand zwischen Spitze und Probe d , welcher durch die Ruheposition des Cantilevers z_0 und die Auslenkung der Spitze z als $d = z_0 + z$ beschrieben werden kann. Der Qualitätsfaktor Q ist ein Maß für die Güte der Schwingung. Ein hoher Qualitätsfaktor zeigt einen geringen Energieverlust der Schwingung durch innere Reibung und Reibung mit dem Medium an. Die Anregungskreisfrequenz ω kann verschieden von

der Resonanzkreisfrequenz ω_0 des Punktmasse-Feder-System ohne Einwirkung von $F_{S,P}$ sein. Die Resonanzkreisfrequenz ω_0 , die Masse m und die Federkonstante des Cantilevers k sind über die Beziehung in Gleichung 2.20 verknüpft [98].

$$\omega_0 = \sqrt{\frac{k}{m}} \quad (2.20)$$

Die allgemeine Lösung des Gleichungssystems besteht aus zwei additiven Teilen (siehe Gleichung 2.21). Der Einschwingvorgang von der Ausgangslage z_T mit der Resonanzkreisfrequenz ω_0 und der Phase ϕ_T wird vom transienten Teil der Lösung beschrieben, welcher mit $\tau = 2Q/\omega_0$ abklingt. Nach dem Abklingen des transienten Teils dominiert der stationäre Teil, bei welchem das Federsystem mit der Frequenz der sinusförmigen Antriebskraft ω schwingt, phasenverschoben um $\phi(\omega)$ [98, 180].

$$z(t) = z_T \cdot \exp(-\omega_0 t / 2Q) \cdot \sin(\omega_0 t + \phi_T) + A_{z,0}(\omega) \cdot \cos(\omega t + \phi(\omega)) \quad (2.21)$$

$$A_{z,0}(\omega) = \frac{F_0}{m \sqrt{(\omega_0^2 - \omega^2)^2 + \frac{\omega^2 \omega_0^2}{Q^2}}} \quad (2.22)$$

Im Falle der freien Schwingung, also ohne Wechselwirkung der Spitze mit der Probe, kann aus der Beziehung in Gleichung 2.22 die Amplitude $A_{z,0}(\omega)$ des stationären Teils der Cantileverantwort erhalten werden.

Da die Informationen bei Messungen mit intermittierendem Kontaktmodus des Rasterkraftmikroskops aus dem stationären Teil der Antwort des Cantilevers bezogen werden, hat die Abklingzeit des transienten Teils Implikationen für die Wahl der Abtastrate bei der Rasterung. Hohe Qualitätsfaktoren der Cantileverschwingung bewirken längere Abklingzeiten und machen daher langsamere Rasterungsgeschwindigkeiten notwendig, um dem Cantilever Zeit zu geben, zum stationären Teil der Antwort zu relaxieren [180].

2.1.3.2 Repulsiver und attraktiver Messmodus

Bei einem Rasterkraftmikroskop, welches im intermittierenden Kontaktmodus operiert, können unter bestimmten Bedingungen zwei stabile Oszillationen für einen Cantilever in Wechselwirkung mit der Probe existieren. Diese beiden Oszillationen unterscheiden sich in Phase und Amplitude [157, 158] und ihr Auftreten ist abhängig von Messparametern, wie gewähltem Sollwert, der Antriebsfrequenz und der freien Amplitude der Cantileverschwingung ohne Probenkontakt, sowie den physikalischen Eigenschaften von Spitze und Probe.

Bei Messbedingungen, in denen diese beiden stabilen Oszillationen auftreten können, kann es durch geringe äußere Einflüsse zu Übergängen zwischen diesen [181] und als Resultat davon zu sprunghaften Veränderungen im gemessenen Höhen- und Phasenkontrast kommen [182].

Die beiden Oszillationsmodi entsprechen den zwei Wechselwirkungsregimen des intermittierenden Kontaktmodus. Im repulsiven Regime ist die Kraft zwischen Spitze und Probe über einem Oszillationszyklus des Cantilevers im Durchschnitt positiv, also von der Probenoberfläche weg gerichtet. Im attraktiven Regime ist die durchschnittliche Kraft analog dazu negativ, also zur Probe hin gerichtet [157, 181, 183]. Wie im Kapitel 2.1.2 festgehalten, sind die repulsiven Kräfte zwischen Probe und Cantileverspitze von sehr kurzer Reichweite. Sie entstehen im wesentlichen über die Rückstellkraft aufgrund elastischer Verformung von Probe und Spitze, also bei direktem mechanischen Kontakt. Die attraktiven Kräfte hingegen wirken über einen Bereich von mehreren Nanometern oberhalb der Probenoberfläche. Damit die durchschnittliche Kraft über einen Oszillationszyklus repulsiv ist, muss daher eine große Kraftwirkung beim mechanischen Kontakt zwischen Spitze und Probe existieren, damit die repulsiven Kräfte über den gesamten Oszillationszyklus dominierend für die Dämpfung der Cantileverschwingung sind.

Um Sprünge zwischen den beiden Wechselwirkungsregimen zu verhindern, werden die Messparameter typischerweise so gewählt, dass nur eine stabile Oszillation auftritt. Es konnte gezeigt werden, dass bei vielen Proben durch die Wahl von großen freien Amplituden und von Anregungsfrequenzen, die kleiner¹ sind als die Resonanzfrequenz, die Messungen im repulsiven Regime stabil verlaufen. Dies bedeutet also, dass während der Messung keine Sprünge zu anderen Oszillationen vorkommen. Bei Anregungen oberhalb der Resonanzfrequenz und bei kleinen freien Amplituden sind Messungen mit netto-attraktiven Kräften stabil [180, 183]. Durch das Vermeiden von sehr großen repulsiven Kräften am Umkehrpunkt der Oszillation bei Messungen im attraktiven Regime, ist dieser Messmodus vor allem für weiche Proben (zum Beispiel biologische Proben) geeignet, da hier sonst starke Verformungen und auch Beschädigungen der Probe auftreten können [181, 184, 185].

2.1.3.3 Auflösungslimits und Interpretation des Höhenkontrasts

Beim Auflösungsvermögen des Rasterkraftmikroskops muss zwischen dem axialen und dem lateralen Auflösungsvermögen unterschieden werden. Das laterale Auflösungsvermögen Δl ist dabei eine Funktion der Abmessungen der Cantileverspitze [186]. Es kann durch ein simples Modell von zwei scharfen (in der lateralen Ebene punktförmigen) Zacken als Erhebungen von der Probenoberfläche beschrieben werden. In diesem Modell ist - analog zum optischen Auflösungslimit - das laterale Auflösungsvermögen eines Rasterkraftmikroskops

¹Es wird hier typischerweise über die Resonanzkurve des Cantilevers eine Frequenz bestimmt, welche bei gleicher Anregungskraft eine Amplitude liefert, die wenige Prozentpunkte kleiner ist als jene bei der Resonanzfrequenz. Je nachdem ob im repulsiven oder attraktiven Regime gemessen werden soll, wird von der Resonanzfrequenz aus die nächst-kleinere oder die nächst-größere Frequenz gewählt, welche diese Bedingung erfüllt.

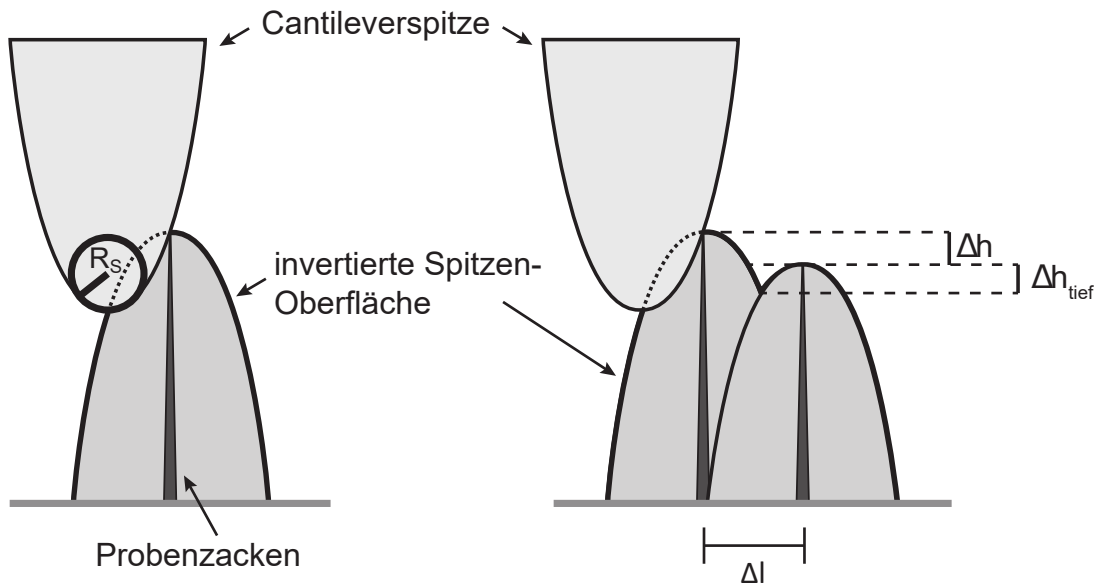


Abbildung 2.5: Schematische Darstellung des lateralen Auflösungsvermögens eines Rasterkraftmikroskops (angepasst übernommen aus [189] nach [188, 190]). Links: Oberflächenerhebungen werden aufgrund der Dimensionen der Cantileverspitze verbreitert abgebildet. Rechts: Der Mindestabstand Δl zwischen zwei Erhebungen mit Höhenunterschied Δh , welcher nötig ist, um beide Erhebungen getrennt voneinander abzubilden, ist definiert als der Abstand bei dem die gemessene Vertiefung zwischen den Erhebungen Δh_{tief} größer ist als das axiale Auflösungsvermögen des Rasterkraftmikroskops.

definiert als der minimale detektierbare Abstand zwischen diesen beiden Zacken (siehe Gleichung 2.23) [187, 188]. Die Zacken sollen im Rahmen dieses Modells punktförmig auf der x, y -Ebene sein und haben eine Höhendifferenz von Δh . Sie gelten als separat aufgelöst, wenn die gemessene Vertiefung Δh_{tief} zwischen den beiden Zacken mindestens dem axialen Auflösungsvermögen des Mikroskops Δz entspricht (siehe Abbildung 2.5).

$$\Delta l = \sqrt{2R_S} \cdot (\sqrt{\Delta z} + \sqrt{\Delta z + \Delta h}) \quad (2.23)$$

Der Parameter R_S steht für den Radius der als Halbkugel genäherten Cantileverspitze, deren Ausdehnung im Kontaktbereich der entscheidende auflösungslimitierende Faktor für ein gegebenes Probensystem ist [186]. Die Konsequenz ist, dass die gemessene Breite einer Erhebung stets größer ist², als deren tatsächliche Breite [158]. Die laterale Ausdehnung von Vertiefungen hingegen wird systematisch als kleiner gemessen, als sie in Realität vorliegt. Durch die direkte Wechselwirkung der Cantileverspitze mit der Probe während einer Messung können sich die Dimensionen der Spitze während der Messung ändern, zum Beispiel durch Abnutzung oder Kontamination, und damit ändert sich auch das laterale Auflösungsvermögen. Neben den Abmessungen der Cantileverspitze und der Höhendifferenz zwischen den Erhebungen hängt das laterale Auflösungsvermögen auch

²Bei Erhebungen, deren laterale Ausdehnung groß ist gegenüber dem Radius der Cantileverspitze, fällt diese Verbreiterung jedoch nicht ins Gewicht.

vom axialen Auflösungsvermögen Δz ab. Eine Folgerung daraus ist, dass Limitierungen der axialen Auflösung - wie zum Beispiel ein starkes Systemrauschen des Messaufbaus oder systematische Abweichungen beim Höhenkontrast (siehe unten) - sich auch auf die laterale Auflösung auswirken. Im verwendeten Modell werden Deformationen der Probe oder der Spitze nicht in Erwägung gezogen. Insbesondere bei weichen Proben können Deformationen aber signifikant sein und setzen das Auflösungsvermögen unter Umständen weiter herab [191].

Das axiale Auflösungsvermögen ist durch das thermische Rauschen des Detektionssystems zur Cantileverauslenkung begrenzt. Bei der häufig verwendeten optischen Detektion der Cantileverauslenkung kann das Rauschen in axialer Richtung z mit Gleichung 2.24 beschrieben werden [187, 192].

$$\Delta z = \sqrt{\frac{4k_B T}{3k}} \quad (2.24)$$

Hier ist k_B die Boltzmann-Konstante. Die obere Grenze des axialen Auflösungsvermögens ist hiermit abhängig von der Temperatur T und der Federkonstanten k des Cantilevers. Unter nicht-idealen Bedingungen ist das axiale Auflösungsvermögen allerdings auch noch durch das Gesamtrauschen des Messaufbau-Systems begrenzt. Beispielsweise nicht vollständig abgeschirmte Vibrationen durch Gebäudeschwingungen oder Geräusche von Störquellen können die Probe oder den Cantilever zu zusätzlichen Schwingungen anregen.

Neben diesen Fehlern treten auch systematische Abweichungen zwischen der tatsächlichen Höhe einer Erhebung in der Topografie und der gemessenen Höhe auf. Der erhaltene Höhenkontrast von nanoskopischen Erhebungen der Topografie (z.B. auf einem Substrat adsorbierte Nanopartikel oder Moleküle) ist dabei fast immer kleiner als deren nominale Höhe [81, 158, 193]. Dieser Verlust von Höhenkontrast in der Rasterkraftmikroskopie kann eine Reihe von Ursachen haben. Die Deformation, insbesondere von weichen Probenpartikeln mit kleinem Elastizitätsmodul, kann in Abhängigkeit von den Messparametern zu einem verkleinerten Höhenkontrast führen [81, 193–195]. Auch die Ablagerung eines Adsorbats auf der Substratoberfläche (z.B. Salze und Wasser auf Muskovit), in welches der Probenpartikel eingebettet ist, führt zu einer geringeren gemessenen Höhe [193].

Darüber hinaus gibt es aber auch einen geometrischen Effekt aufgrund der Form und Dimensionen der Cantileverspitze, der zu einem Verlust von Höhenkontrast führt. Dieser Effekt manifestiert sich insbesondere im attraktiven Bereich des Wechselwirkungsregimes zwischen Probe und Cantilever und ist besonders ausgeprägt, wenn die vermessenen Erhebungen ähnliche oder kleinere Dimensionen haben als die Cantileverspitze [81, 82]. Bei der Vermessung einer Erhebung mit solchen kleinen Dimensionen ist die Wechselwirkung zwischen Probe und Cantileverspitze nicht alleine dominiert von der Wechselwirkung mit der Erhebung, sondern auch die Wechselwirkung mit dem darunterliegenden Substrat fällt

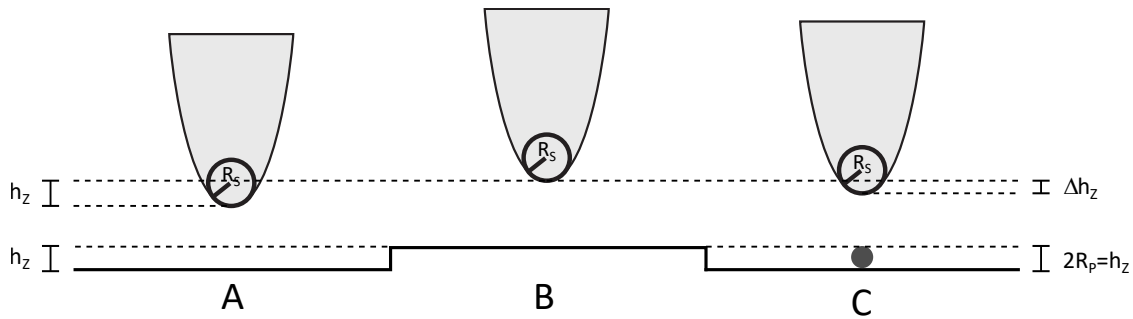


Abbildung 2.6: Verlust von Höhenkontrast durch geometrischen Effekt (angepasst aus [81]). Die Ruheposition des Cantilevers im intermittierenden Kontaktmodus befindet sich abhängig von der Wechselwirkung und den Messparametern etwas oberhalb der Probenoberfläche (A). Betrachtet man nun die Ruheposition oberhalb einer lateral ausgedehnten Erhebung aus der Probenoberfläche mit Höhe h_z und mit den selben physikochemischen Eigenschaften wie die Oberfläche, ist die Ruheposition des Cantilevers um relativ genau die Distanz h_z weiter von der ursprünglichen Position entfernt (B) - es kommt also zu keinem Verlust von Höhenkontrast. Dies geschieht unter der Voraussetzung, dass die lateralen Dimensionen dieser Erhebung deutlich größer sind als die der Cantileverspitze. Oberhalb einer Erhebung mit lateralen Ausdehnungen, welche sich in der gleichen Größenordnung befinden oder kleiner sind als die Cantileverspitze (zum Beispiel einer Kugel mit dem Durchmesser $2R_p = h_z$), kann die Wechselwirkung der Cantileverspitze mit der Probenoberfläche unterhalb der Erhebung nicht vernachlässigt werden (C). Die Ruheposition des Cantilevers befindet sich in diesem Fall also zwischen den Positionen von den Fällen A und B - es kommt zu einem Verlust von Höhenkontrast.

signifikant ins Gewicht. Dies führt zu einer Verteilung der Höheninformation der Erhebung auf den gesamten Wechselwirkungsbereich zwischen Spitze und Probe (siehe Abbildung 2.6). Es konnte gezeigt werden, dass durch diesen Effekt bis zu 90% des Höhenkontrastes verloren gehen können [81]. Neben diesen geometrischen Überlegungen können außerdem auch Unterschiede in der chemischen Natur zwischen Substrat und Probenpartikel sowie die gewählten Messparameter den erhaltenen Höhenkontrast beeinflussen. Gleichung 2.25 ist ein analytischer Ausdruck zur Abschätzung des Unterschiedes zwischen tatsächlicher und gemessener Höhe Δh_z im Nichtkontaktmodus, also ohne repulsive Wechselwirkungen [82]. Die Betrachtung der attraktiven Wechselwirkung wurde dafür auf van-der-Waals-Wechselwirkungen beschränkt. Die Cantileverspitze und der Probenpartikel wurden als Kugeln modelliert.

$$\Delta h_z = A_z \cdot \left(\sqrt{(H_r R_r)^{2/3} \cdot P + 1} - \sqrt{P + 1} \right) \quad (2.25)$$

Der Parameter $H_r = H_{part}/H_{sub}$ ist ein Maß für die unterschiedliche chemische Natur von Probenpartikel und Substrat, repräsentiert durch die Hamaker-Konstanten des Probenpartikels H_{part} und des Substrats H_{sub} , jeweils in Wechselwirkung mit der Cantileverspitze. Die geometrischen Einflüsse von Spitze und Probenpartikel sind im Parameter $R_r = R_{part}/(R_{part} + R_s)$ durch die jeweiligen Radien der Cantileverspitze R_s und des Partikels R_{part} ausgedrückt, welcher für endliche Spitzendimensionen stets < 1 ist. In die Definition von P fließen

Eigenschaften des verwendeten Cantilevers und der verwendeten Messparameter ein (siehe Gleichung 2.26) [82].

$$P = \left(\frac{\left(\frac{QR_S H_{Sub}}{3kA_0^3} \right)^2}{A_r^4 - A_r^6} \right)^{1/3} \quad (2.26)$$

Der Parameter $A_r = A_z/A_0$ ist definiert als das Verhältnis des Sollwerts A_z zur freien Amplitude A_0 . Neben dem Radius der Spitze wird P außerdem vom Qualitätsfaktor Q und der Federkonstante k des Cantilevers bestimmt, sowie von der Hamaker-Konstante zwischen Spitze und Substrat. Aus Gleichung 2.25 ergibt sich, dass die endlichen Spitzendimensionen stets einen Beitrag zu einer Reduktion des Höhenkontrastes leisten. Es sind aber auch Fälle denkbar, bei denen die Kombination der Materialien von Substrat und Partikel dennoch zu einem positiven Δh_z führt, also zu einer gemessenen Höhe, welche größer ist als die tatsächliche Höhe.

Bei Messungen, in denen die Cantileverspitze auch repulsiv mit der Probe interagiert, sind außerdem Deformationen - insbesondere von weichen Probenpartikeln - möglich, welche einen Einfluss auf die gemessene Höhe haben [196]. In atmosphärischer Umgebung kann es außerdem zur Formung eines Wassermeniskus zwischen Spitze und Probe kommen. Auf hydrophileren Oberflächen ist die Kapillarkraft aufgrund kleinerer Kontaktwinkel mit Wasser stärker und hat eine größere Reichweite als auf hydrophoberen Oberflächen. Auf letzteren kann bei Kontaktwinkeln $> 90^\circ$ kein Meniskus geformt werden, welcher zu attraktiver Wechselwirkung führt. Wenn Probenpartikel und Substrat aus Materialien mit unterschiedlicher Hydrophilie bestehen, tragen die ungleichen Kapillarkräfte zwischen Substrat und Probenpartikel ebenfalls zu einem signifikanten Unterschied zwischen gemessener und tatsächlicher Höhe bei [80, 197]. Dies kann dabei soweit gehen, dass es zu einer Umkehr der gemessenen Höhe kommen kann, also ein Probenpartikel auf einem Substrat wird als topografische Vertiefung gemessen. Solche Fälle konnten auch experimentell nachgewiesen werden [80, 198].

2.2 Konfokale Fluoreszenzmikroskopie

Bei konfokaler Fluoreszenzmikroskopie handelt es sich um eine optische Fernfeldmikroskopiemethode. Bei dieser Methode wird das Anregungslicht auf die Probe fokussiert, so dass nur ein kleiner Teil - idealerweise ein beugungslimitierter Punkt - beleuchtet wird. Die Detektion der Emission ist ebenfalls begrenzt auf den ausgeleuchteten Punkt der Probe. Das Wort „konfokal“ bezieht sich auf die Übereinstimmung der Brennpunkte von Anregungs- und Detektionsstrahlengang. Durch Abrasterung der Probe mit dem ausgeleuchteten Bereich kann ein orts aufgelöstes Bild der Fluoreszenzintensität erhalten werden. Die Vorteile

der konfokalen Fluoreszenzmikroskopie gegenüber Weitfeldfluoreszenzmikroskopie liegen in dem leicht verbesserten Auflösungsvermögen und dem deutlich größeren Signal-zu-Rauschen-Verhältnis [199]. Diese Eigenschaften haben dazu geführt, dass die konfokale Mikroskopie zu einer Standardmethode bei der spektralen Untersuchung einzelner Moleküle geworden ist [53, 58, 200]. Im Rahmen der Experimente dieser Arbeit wurde ein konfokales Fluoreszenzmikroskop in Kombination mit einem Rasterkraftmikroskop verwendet. Im Folgenden wird daher eine kurze Zusammenfassung der Funktionsweise dieser Mikroskopiemethode mit einem Fokus auf ihre Anwendung zur Detektion der Emission einzelner Moleküle gegeben. Detailliertere Beschreibungen finden sich in der Literatur [201–204].

2.2.1 Prinzip der konfokalen Mikroskopie

Bei der konfokalen Fluoreszenzmikroskopie wird das Anregungslicht auf einen kleinen Teil der Probe gebündelt. Dies geschieht durch das Abbilden einer punktförmigen Lichtquelle durch eine Sammellinse (z. B. ein Objektiv) auf die Probe. In der Strahltaile verengt sich das gebündelte Licht im Querschnitt zu einem beugungslimitierten Punkt, dessen Dimensionen von der numerischen Apertur NA der verwendeten Sammellinse und der verwendeten Anregungswellenlänge λ_{exc} definiert werden. Emission von angeregten Molekülen aus der Probe sowie Streulicht wird ebenfalls von einer Linse aufgesammelt und in Richtung eines Detektors geleitet. Bei der häufig verwendeten Variante in *Epifluoreszenzgeometrie* wird für Anregung und Detektion die gleiche Linse - das Objektiv - verwendet. In diesem Fall wird Anregungslicht über ein strahlteilendes Element (z. B. ein dichroitischer Spiegel oder ein Neutralstrahlteiler, kombiniert mit passenden optischen Filtern) auf das Objektiv reflektiert. Das Emissionslicht transmittiert das strahlteilende Element und wird von einer Tubuslinse auf der Zwischenbildebene abgebildet, auf welcher sich eine für das konfokale Prinzip essentielle Lochblende befindet. Diese ist so positioniert, dass der vom Anregungslicht ausgeleuchtete Bereich der Probe auf das Loch der Blende abgebildet wird und diese somit passieren kann, während Emissionen und Streulicht aus anderen Teilen der Probe effektiv herausgefiltert werden (siehe Abbildung 2.7). Statt auf eine Lochblende kann das Licht aus dem Anregungsfokus auch auf einen Punktdetektor abgebildet werden.

Bei der konfokalen Mikroskopie wird Rauschen demnach auf zwei Arten verringert. Durch das Fokussieren des Anregungslichts auf einen beugungsbegrenzten Punkt werden zunächst präferiert Moleküle in diesem Bereich zur Emission angeregt. Die Lochblende in der Zwischenbildebene filtert außerdem Streulicht und Photonen von Emissionsquellen, welche von außerhalb des betrachteten Anregungsvolumens stammen, wirksam heraus. Neben der signifikanten Reduzierung des Rauschens, wird außerdem das Auflösungsvermögen des Mikroskops durch die Lochblende verbessert. Nach dem Rayleigh-Kriterium [205] ist bei Weitfeldmikroskopiemethoden der notwendige Abstand zwischen Punktlichtquellen, welche noch als getrennte Punkte identifiziert werden können, definiert als $\Delta l_{min} = 0,61\lambda/NA$, wobei λ die Wellenlänge der Lichtquelle, in diesem Fall ein emittierendes Molekül, ist.

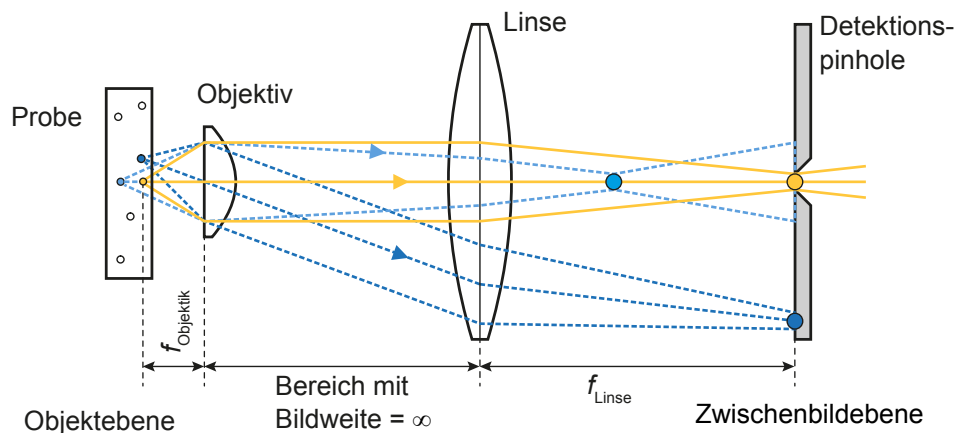


Abbildung 2.7: Schematische Darstellung des konfokalen Prinzips (aus [189]). Die Lochblende in der Zwischenbildebene eines konfokalen Mikroskops filtert Photonen, welche von außerhalb des Fokalvolumens des Objektivs stammen (blaue Strahlengänge), aus dem Detektionsstrahlengang effektiv heraus. Emissionen aus dem ausgeleuchteten Punkt der Probe (gelber Strahlengang) werden in das Loch der Blende abgebildet und können diese damit passieren.

Durch die Verwendung des konfokalen Prinzips kann das Auflösungsvermögen im Vergleich zu Weitfeldmethoden um bis zu einem Faktor von $\sqrt{2}$ verbessert werden (Gleichung 2.27).

$$l_{CFM} = \frac{1}{\sqrt{2}} \cdot l_{min} \approx 0,43 \cdot \frac{\lambda}{NA} \quad (2.27)$$

Um diese Auflösungsverbesserung zu erreichen, muss die Lochblende in der Zwischenbildebene allerdings fast vollständig geschlossen sein. Dadurch wird die Detektionseffizienz des Mikroskops etwas herabgesetzt. In der Praxis werden Messungen daher meist bei etwas weiter geöffneten Lochblenden durchgeführt (so dass das nullte Beugungsmaximum vollständig auf dem Loch der Blende abgebildet wird), wodurch sich das Auflösungsvermögen typischerweise nur gering von Weitfeldmikroskopen unterscheidet [206, 207]. Konfokale Mikroskope besitzen außerdem auch ein axiales Auflösungsvermögen, welches allerdings geringer ist als das Auflösungsvermögen in lateraler Richtung [202]. Dies ermöglicht dreidimensionale Rasterungen von Proben mit relevanter Tiefe in axialer Richtung.

Für die Erzeugung eines orts aufgelösten Bildes der Emissionsintensität wird der Anregungsfokus über die Probe gerastert. Dies geschieht entweder durch das Bewegen des Anregungsstrahlengangs relativ zur unbewegten Probe (z. B. durch einen beweglichen Spiegel) oder durch das Rastern der Probe gegenüber dem stationären Anregungsfokus [56, 57, 201].

2.2.2 Optische Einzelmolekülmikroskopie

Die spektrale Untersuchung einzelner Moleküle bietet gegenüber der Vermessung von Ensembles den Vorteil, dass nicht nur der statistische Mittelwert physikalischer Phänomene

untersucht werden kann. Auf diese Weise können Eigenschaften festgestellt und untersucht werden, welche im Ensemble nicht erkennbar sind. Ein typisches Beispiel hierfür ist das Fluoreszenzblinking, welches durch den zeitweisen Übergang einzelner Fluorophore in nicht-emittierende angeregte Zustände zu Stande kommt [60]. Durch das günstige Signal-zu-Rauschen-Verhältnis des Detektionssignals von konfokalen Fluoreszenzmikroskopen sind diese zu Standardwerkzeugen bei der Untersuchung der Emission einzelner Moleküle oder Farbzentren geworden [53, 58, 200]. Das kleine Anregungs- und Detektionsvolumen des Konfokalmikroskops ermöglicht es außerdem, die zu untersuchenden Moleküle räumlich voneinander zu separieren, so dass zu jedem Zeitpunkt nur die Emission von einem Molekül beobachtet wird. Dies wird durch die Verwendung von hohen Verdünnungsgraden bei der Probenpräparation erreicht. Bei kryogenen Temperaturen besteht außerdem noch die Möglichkeit der spektralen Trennung von individuellen Fluorophoren zur Verfügung [208].

Für eine effektive Untersuchung der Emission einzelner Moleküle ist eine möglichst hohe Detektionseffizienz des Messaufbaus von Vorteil. Neben der Verwendung eines Detektors mit hoher Quanteneffizienz kann ein Objektiv mit großer numerischer Apertur einen Beitrag zur Optimierung der Detektionseffizienz leisten. Der größere Einfallswinkel von solchen Objektiven ermöglicht es, emittierte Photonen eines Moleküls aus einem größeren Raumwinkelbereich in Richtung Detektor zu leiten. Außerdem wird das Anregungs- und Detektionsvolumen weiter verkleinert. Die Verwendung von Spiegeln mit hoher Reflektivität und optischen Filtern mit großem Transmissionsgrad im betrachteten Frequenzbereich, sowie Linsen mit Anti-Reflektionsbeschichtungen minimieren die Intensitätsverluste im Emissionsstrahlengang des Mikroskops [209].

Darüber hinaus beeinflussen auch die physikalischen Eigenschaften der untersuchten Moleküle die Effektivität der Einzelmolekülmikroskopie. Somit sollten die Moleküle einen großen Absorptionsquerschnitt haben, damit eine effektive Anregung gewährleistet ist. Eine hohe Fluoreszenzquantenausbeute, sowie kleine Ratenkonstanten für den Übergang in nicht-emittierende angeregte Zustände und geringe Verweildauer in diesen Zuständen sorgen zudem für ein größeres Fluoreszenzsignal. Eine große photochemische Stabilität der Moleküle zeigt außerdem eine hohe mittlere Anzahl von Absorptions- und Relaxationszyklen an, welche das Molekül durchlaufen kann, bis es zum Photobleichen des Farbstoffes kommt [210].

2.3 Runge-Kutta-Verfahren zur Lösung von Differentialgleichungen zweiter Ordnung

Zur Interpretation von Messergebnissen wurde im Rahmen dieser Arbeit die Bewegungsgleichung des oszillierenden Cantilevers (Gleichung 2.19) bei verschiedenen modellierten Wechselwirkungen mit der Probe numerisch gelöst. Bei Gleichung 2.19 handelt es sich um eine gewöhnliche Differentialgleichung zweiter Ordnung. Ein Standardalgorithmus zur Approximation einer Lösung solcher gewöhnlicher Differentialgleichungen ist das klassische

Runge-Kutta-Verfahren vierter Ordnung, welches auch in dieser Arbeit verwendet wurde. Im Folgenden wird hier eine kurze, anwendungsbezogene Erläuterung des benutzten Algorithmus gegeben. Eine ausführlichere Beschreibung der Theorie von Runge-Kutta-Verfahren findet sich in der Literatur [211].

Mit dem klassischen Runge-Kutta-Verfahren können numerische Näherungen für Differentialgleichungen erster Ordnung folgender Form erhalten werden:

$$\frac{dy}{dx} = f(x, y) \quad (2.28)$$

Das Verfahren geht dabei von einem Startwert y_0 an der Stelle x_0 aus und kalkuliert sukzessive für die folgenden Werte x_i die zugehörigen Werte y_i . Es handelt sich also um die Lösung eines Anfangswertproblems. Für y_{i+1} an der Stelle x_{i+1} gilt mit $\Delta x = x_{i+1} - x_i$ [212]:

$$y_{i+1} = y_i + \frac{1}{6} \cdot (k_1 + 2k_2 + 2k_3 + k_4) \cdot \Delta x \quad (2.29)$$

Die in Formel 2.29 verwendeten Parameter k_1 , k_2 , k_3 und k_4 ergeben sich aus Evaluationen der Funktion $f(x, y)$ wie folgt [212]:

$$k_1 = f(x_i, y_i) \quad (2.30)$$

$$k_2 = f(x_i + \frac{1}{2}\Delta x, y_i + \frac{1}{2}k_1\Delta x) \quad (2.31)$$

$$k_3 = f(x_i + \frac{1}{2}\Delta x, y_i + \frac{1}{2}k_2\Delta x) \quad (2.32)$$

$$k_4 = f(x_i + \Delta x, y_i + k_3\Delta x) \quad (2.33)$$

Die Schrittgröße Δx limitiert dabei die Genauigkeit der Lösungsapproximation. Die approximierte Lösung konvergiert dabei mit kleinerer Schrittgröße gegen die analytische Lösung [212]. In der Praxis sollte die Schrittgröße so gewählt sein, dass die approximierte Lösung sich bei weiterer Verringerung der Schrittgröße nicht mehr signifikant ändert.

Bei der Bewegungsgleichung des harmonischen Oszillators handelt es sich jedoch um eine Differentialgleichung zweiter Ordnung, welche damit nicht der benötigten Form für Runge-Kutta-Algorithmen entspricht (siehe Gleichung 2.28). Dies kann jedoch durch eine

Variablensubstitution in der Form $u_1 = z$ und $u_2 = dz/dt$ erreicht werden [212, 213]. Damit kann die vektorielle Funktion u definiert werden:

$$u = \begin{pmatrix} u_1 \\ u_2 \end{pmatrix} \quad (2.34)$$

Es folgt damit für die Ableitung der Funktion u nach der Zeit t :

$$\frac{du}{dt} = \frac{d}{dt} \begin{pmatrix} u_1 \\ u_2 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} u_2 \\ g(u_1, u_2, t) \end{pmatrix} = f(t, u) \quad (2.35)$$

Gleichung 2.35 entspricht damit der Form aus Gleichung 2.28 durch Benutzung einer vektoriellen Variablen. Die Funktion $g(u_1, u_2, t)$ ist die Bewegungsgleichung des harmonischen Oszillators (Gleichung 2.19), wobei z und dz/dt substituiert sind mit u_1 und u_2 und die Gleichung aufgelöst ist nach $d^2z/dt^2 = du_2/dt$.

3 | Experimenteller Teil

In diesem Kapitel wird zunächst der verwendete Messaufbau, eine Kombination aus Rasterkraft- und konfokaler Fluoreszenzmikroskopie mit Einzelmolekülempfindlichkeit, beschrieben. Die beiden prinzipiell unabhängig voneinander verwendbaren Mikroskope werden zunächst getrennt vorgestellt und anschließend die zusätzlichen experimentellen Anforderungen und Maßnahmen für den Simultanbetrieb erläutert. Es folgt eine Beschreibung der Eigenschaften der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Moleküle und Partikel und im Anschluss daran werden die Probenpräparation und wichtige Messroutinen für die durchgeführten Experimente geschildert.

3.1 Experimenteller Aufbau

Bei dem für diese Arbeit verwendeten Messaufbau handelt es sich um eine Kombination aus einem kommerziellen Rasterkraftmikroskop und einem selbstgebauten konfokalen Fluoreszenzmikroskop. Der Objektträger mit der zu untersuchenden Probe ist hierbei auf einem piezoelektrisch gesteuerten Verschiebetisch mit zwei Freiheitsgraden befestigt und die beiden Mikroskope befinden sich ober- und unterhalb davon. Die Seite des Objektträgers, auf welchem die Probe aufgebracht ist, ist dabei dem Rasterkraftmikroskop zugewandt und kann mit der nanoskopischen Spitze des Cantilevers untersucht werden. Die optische Anregung der Probe und die Detektion ihrer Emission mittels des konfokalen Fluoreszenzmikroskops erfolgt von der entgegengesetzten Seite durch den transparenten Objektträger hindurch. Die beiden Mikroskope, welche in den folgenden Unterkapiteln beschrieben werden, sind prinzipiell unabhängig voneinander verwendbar. Zum simultanen Betrieb, sowie zur Sicherstellung, dass mit beiden Apparaten die selbe Position der Probe untersucht werden kann, sind einige experimentelle Vorkehrungen und Prozeduren erforderlich, welche in einem separaten Unterkapitel erläutert werden.

3.1.1 Rasterkraftmikroskop

Beim Rasterkraftmikroskop handelt es sich um das Modell MFP-3D der Firma Asylum Research, welches aus einem piezoelektrischen Verschiebetisch, auf welchem die Probe fixiert ist, und einem Messkopf, in dem die Cantileverspitze eingesetzt wird, besteht (siehe Abbildung 3.1). Durch die Verformung zweier Piezoelemente unter Spannung (inverser piezoelektri-

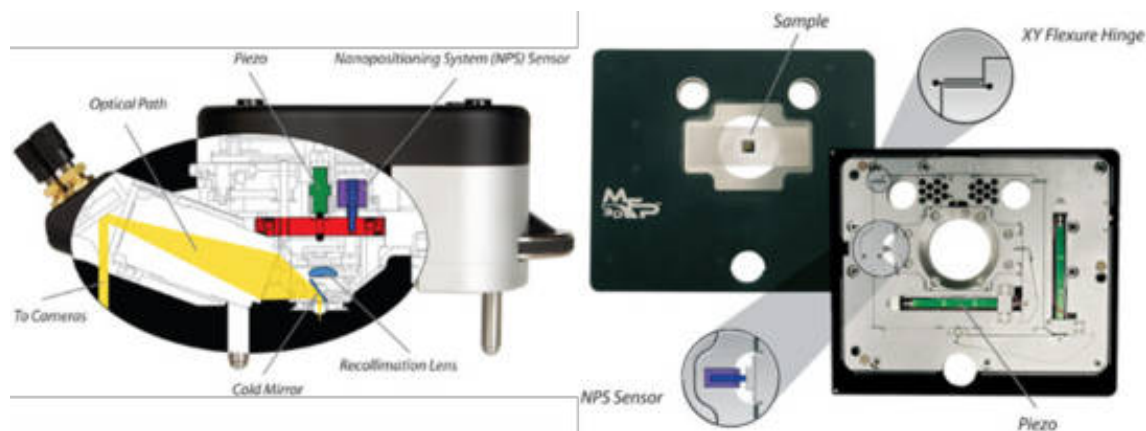


Abbildung 3.1: Schematische Darstellung von Messkopf (links) und piezoelektrischem Verschiebetisch des MFP-3D Rasterkraftmikroskop von Asylum Research. Die Abbildungen stammen von der Internetseite des Herstellers [214].

scher Effekt) ermöglicht der Verschiebetisch eine Bewegung der darauf angebrachten Probe in den beiden lateralen Dimensionen (x - und y -Richtung). Dadurch kann eine Rasterung der Cantileverspitze über die Probenoberfläche erreicht werden. Laut Herstellerangaben ermöglicht der Verschiebetisch eine Bewegung der Probe um bis zu $90\mu\text{m}$ in beiden Dimensionen mit einer maximalen Nichtlinearität von $0,05\%$ [214]. Zwei Sensoren kontrollieren dabei die tatsächliche Ausdehnung der Piezoelemente. Mittels eines geschlossenen Regelkreises werden auftretende Abweichungen von der Sollposition minimiert. Das Rauschen dieser Sensoren ist mit maximal $0,5\text{nm}$ angegeben [214]. In der Mitte des Verschiebetisches ist eine kreisrunde Aussparung, in welchem sich das Objektiv des Konfokalmikroskops befindet (siehe Kapitel 3.1.2). Direkt darüber befindet sich der Probenhalter aus Edelstahl, in welchem sich - ebenfalls über einer runden Aussparung - mittels des Gegendrucks von drei Klammern die Probe, z.B. in Form eines dünnen Glasplättchen mit darauf adsorbierten Partikeln, fixieren lässt. Die Position des Probenhalters wird von zwei Magneten auf dem Verschiebetisch konstant gehalten (siehe Abbildung 3.2 links). Durch ein Metallröhrchen in der Seitenwand des Probenhalters lassen sich Gase in den Probenraum einleiten, welcher nach oben durch den Cantileverhalter und eine Kunststoffumrandung begrenzt ist (siehe Abbildung 3.2).

Der Cantileverhalter ist ein abnehmbarer Teil des Messkopfes (siehe Abbildung 3.1 links sowie 3.2 rechts). Im Messkopf befinden sich das Detektionssystem zur Bestimmung der Cantilever-Auslenkung, sowie ein Piezoelement, welches eine Bewegung des Cantilevers in z -Richtung ermöglicht. Zur Bestimmung der Cantilever-Auslenkung wird das Licht einer Superlumineszenzdiode (Emissionsmaximum 860nm , $0,78\text{mW}$ [215]) über ein System von optischen Bauteilen auf die reflektierende Oberseite des Cantilevers gelenkt. Das von dort reflektierte Licht wird auf eine segmentierte Photodiode geleitet, welche die Detektion der Auslenkung ermöglicht (eine Beschreibung des Detektionsprinzips findet sich in Kapitel 2.1.1). Zusätzlich zur Standardausstattung dieses Rasterkraftmikroskops ist in dem hier verwendeten Modell ein Bandpassfilter (ET-Bandpass 850/30 von AHF

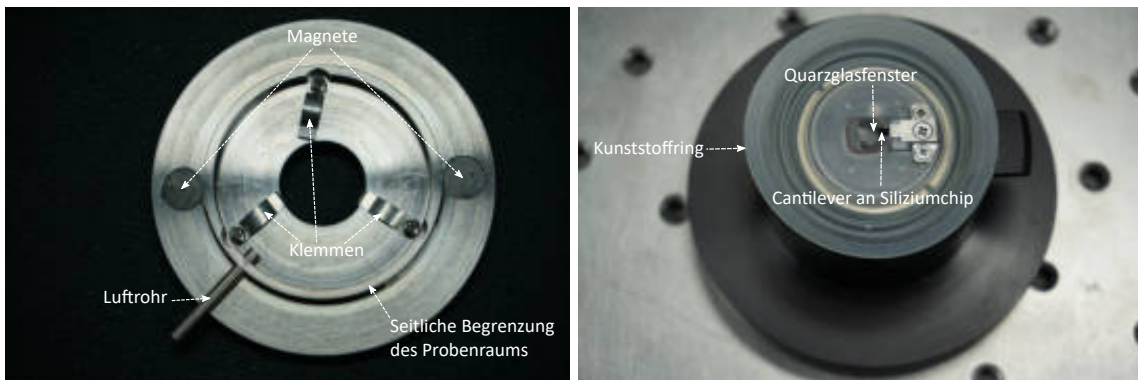


Abbildung 3.2: Probenhalterung (links) und Cantilverhalterung (rechts). Die Probe wird mit Hilfe der Klemmen über der kreisförmigen Öffnung im Probenhalter befestigt. Der Probenraum ist zur Seite durch einen überstehenden Rand auf dem Probenhalter begrenzt, nach oben durch den aufliegenden Kunststoffring des Cantilverhalters. Dieser Probenraum, kann durch das seitlich eingelassene Rohr mit Gasen geflutet werden (z.B. Argon).

[216]) nach der Superlumineszenzdiode im optischen Pfad des Messkopfes installiert, welcher das breite Emissionsspektrum der Diode auf einen definierten Bereich um 850nm begrenzt (Bandbreite ca. 30nm). Dies ist zum parallelen Betrieb mit dem Konfokalmikroskop essentiell (siehe Kapitel 3.1.3.1). Der maximale Verfahrweg des z -Piezoelements beträgt $15\mu\text{m}$. Ein Sensor und ein geschlossener Regelkreis dienen hier ebenfalls zur Kontrolle und Korrektur der tatsächlichen Ausdehnung des Piezoelements - die Nichtlinearität über den Verfahrweg ist vom Hersteller mit 0,05% und das Rauschen mit 0,25nm angegeben [214]. Es ist wichtig zu beachten, dass es sich hierbei um das Rauschen des Sensors handelt. Als Messsignal zur Bestimmung der Proben topografie wird allerdings die an das Piezoelement angelegte Spannung verwendet, welche durch eine interne Kalibrierung in eine Längeneinheit übersetzt werden kann. Das Rauschen beträgt für das erhaltene Höhensignal daher 0,06nm [214].

Zur Steuerung des Rasterkraftmikroskops sind dessen Bauteile mit einer elektronischen Steuereinheit verbunden, welche Befehle von einem Computer verarbeiten kann. Bei der Messsoftware (Asylum Research) handelt es sich um eine Modifikation von Wavemetrics IGOR Pro. Für den in dieser Arbeit hauptsächlich verwendeten intermittierenden Kontaktmodus kann der Cantilever von der Steuereinheit mit einer Frequenz von bis zu 2MHz in 2mHz Inkrementen angesprochen werden [214]. Neben Eingabekanälen für das Auslesen der Cantileverauslenkung, sowie der x -, y - und z -Positionen existieren zwei weitere optionale Eingabekanäle, welche Signale von weiteren Messgeräten verarbeiten können - z.B. die gemessene Intensität der Photodetektoren. Dies ermöglicht eine Zuordnung des gemessenen Signals der Photodetektoren zu einer Cantileverposition auf der Probe.

Für die Experimente dieser Arbeit wurden zwei verschiedene Arten von Cantilevern eingesetzt. In beiden Fällen handelt es sich um Cantilever und Spitzen aus kristallinem Silizium. Bei dem Modell AC240TS von Olympus handelt es sich um einen rechteckigen Cantilever mit den Abmessungen $240 \times 40 \times 23\mu\text{m}$ mit einer tetraedrisch geformten Spitze am Ende

des Balkens (siehe rechts in Abbildung 3.4 in Kapitel 3.1.3.3). Die Länge der Spitze beträgt $14\mu\text{m}$. Auf der Oberseite des Federbalkens ist eine Aluminiumschicht zwecks besserer Reflexion des Lichts zur Detektion der Auslenkung aufgedampft. Die Cantilever haben Resonanzfrequenzen im Bereich um 70kHz , sowie Federkonstanten von etwa 2N/m . Der Radius des Spitzenapex wird vom Hersteller mit 7nm angegeben [217]. Die Cantilever des Modells SSS-FMR von Nanosensors haben ebenfalls eine rechteckige Form mit Abmessungen von $225 \times 30 \times 3\mu\text{m}$. Sie besitzen eine konisch sehr scharf zulaufende Spitze mit einem garantierten Spitzenradius von unter 5nm bei durchschnittlich 2nm , welche sich jedoch im Gegensatz zum AC240TS-Modells nicht genau am Ende des Federbalkens befindet. Dies hat Implikationen für den simultanen Betrieb mit dem Konfokalmikroskop (siehe Kapitel 3.1.3.3). Der Konuswinkel der Spitze wird 200nm vom Apex der Spitze entfernt als $< 10^\circ$ angegeben. Die Cantilever dieses Typs haben durchschnittliche Resonanzfrequenzen von 75kHz und Federkonstanten von $2,8\text{N/m}$ [218]. Die physikalischen Eigenschaften (Resonanzfrequenz und Federkonstante) der Federbalken sind in beiden Modellen sehr ähnlich. Sie stellen einen Kompromiss dar zwischen der Eignung für Messungen im intermittierenden Kontaktmodus, für welchen hohe Resonanzfrequenzen von Vorteil sind (siehe Kapitel 2.1.3.1) und Sensitivität auf Krafteinwirkung. Kleine Federkonstanten bedeuten, dass sich der Cantilever unter der gleichen Belastung stärker biegt als ein Cantilever mit höherer Federkonstante, was die Detektion geringerer Kräfte erleichtert. Da jedoch Federkonstanten und Resonanzfrequenzen über die effektive Masse des Cantilevers verknüpft sind (Gleichung 2.20) und daher hohe Resonanzfrequenzen eines Cantilevers typischerweise einhergehen mit hohen Federkonstanten, muss eine Abwägung zwischen diesen Parametern getroffen werden. Die SSS-FMR-Cantilever wurden im Rahmen dieser Arbeit eingesetzt, wenn für die Experimente möglichst kleine Spitzenradien von Vorteil waren. Die spitze zulaufende Spitze ermöglicht zwar eine höhere Auflösung der Probenoberfläche, jedoch ist sie auch anfälliger für Beschädigungen aufgrund der Wechselwirkung mit der Oberfläche.

Die Bauteile des Rasterkraftmikroskops befinden sich zwecks Isolation gegen Schwingungen auf einem Vibrationsisolationstisch der Marke Halcyonics i4large von Accurion. Dieser hat eine Arbeitsplatte mit den Abmessungen $550 \times 700\text{mm}$, auf welchem sich neben den Teilen des Rasterkraftmikroskops auch der Anregungs- und Emissionsstrahlengang des konfokalen Mikroskops befinden (siehe Kapitel 3.1.2). Ausgelegt ist die Arbeitsplatte für ein Maximalgewicht von 105kg . Durch ein auf piezoelektrischen Sensoren basierendes System zur Beschleunigungsmessung bietet der Vibrationsisolationstisch eine aktive Schwingungsdämpfung in einem Frequenzbereich von $0,6\text{Hz}$ bis 200Hz mit Reaktionszeiten von $0,3\text{s}$. Oberhalb von 200Hz werden Schwingungen hauptsächlich passiv gedämpft durch eine Kurzpasscharakteristik des Masse-Feder-Systems im Tisch [219]. Weiterhin befindet sich das Mikroskop, zwecks Isolationen von Schwingungen durch Geräusche im Raum, innerhalb einer Isolationsbox aus mitteldichten Holzfaserplatten, welche innen mit schalldämmendem Schaumstoff ausgekleidet sind. Diese Box dient zusammen mit einem Heizelement

und einer Temperatursteuerelektronik auch der Temperaturstabilisierung, welche für den Simultanbetrieb von entscheidender Wichtigkeit ist (siehe dazu Kapitel 3.1.3.3 und 3.1.3.4).

3.1.2 Konfokales Fluoreszenzmikroskop

Die optischen, mechanischen und elektronischen Bauteile des selbstgebauten konfokalen Fluoreszenzmikroskops, welches in diesem kombinierten Aufbau verwendet wurde, werden in Folge in ihrer Anordnung und Funktion vorgestellt.

Der Hauptteil des Mikroskops - der Anregungs- und Detektionsstrahlengang - befindet sich montiert auf einer Lochrasterplatte (Abmessungen: ca. $40 \times 60\text{cm}$), welche auf dem Vibrationsisolationstisch des Rasterkraftmikroskops steht (siehe Kapitel 3.1.1). Lediglich die verwendeten Lichtquellen und der Spektrograph sind räumlich getrennt vom Versuchsaufbau auf der Lochrasterplatte. Das Licht wird über Glasfasern von den Lichtquellen zum Versuchsaufbau hin und von dort weg zum Spektrographen geleitet. Eine schematische Darstellung des Aufbaus ist in Abbildung 3.3 zu sehen.

3.1.2.1 Anregungsquellen

Als Anregungsquellen dienen für die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Experimente Laser verschiedener Wellenlängen sowie eine Leuchtdiode, deren Licht in Glasfasern zum Mikroskopaufbau geleitet wird. Durch den Einsatz von (Monomode-) Glasfasern wird erreicht, dass die Anregungslichtquellen am Faserausgang als punktförmige Lichtquelle angesehen werden können, womit die Fokussierung des Anregungslichts auf einen beugungsbegrenzten Punkt durch das Objektiv gewährleistet wird (siehe dazu Kapitel 2.2.1).

Zum Einkoppeln des Lichts in die Fasern werden Faserkollimatoren (Schäfter&Kirchhoff) verwendet. Dabei können durch Verwendung von zwei dichroitischen Strahlteilern zur Vereinigung der Strahlengänge (siehe Kapitel 3.1.2.2) bis zu drei Anregungswellenlängen gleichzeitig verwendet werden. Der Strahlengang der Lichtquelle, welche durch beide dichroitische Strahlteiler zur Übereinanderlegung der Anregungsquellen transmittiert wird (grün in Abbildung 3.3, nachfolgend: Hauptanregungsstrahlengang), wurde zur Justage des Detektionsstrahlengangs des Mikroskops verwendet. Die beiden anderen Anregungskanäle wurden darauf ausgerichtet. Die Anregungsquelle des Hauptanregungsstrahlengang war zunächst ein optisch gepumpter Halbleiterlaser (Coherent, Sapphire, 50mW) mit einer Wellenlänge von 568nm, welcher in späteren Experimenten durch einen 532nm-Festkörperlaser (Oxxius, 50mW) ersetzt wurde. Das Licht wurde in eine Monomodefaser (Thorlabs 973-579-7227 FTO30) mit einer Cut-off-Wellenlänge von 470nm eingekoppelt und auf diese Weise zum Mikroskop geleitet. Für den ersten Nebenanregungsstrahlengang wurde zunächst eine Laserdiode (Insaneware, 1W), später ein Diodenlaser (Coherent, OBIS, 50mW) jeweils mit einer Wellenlänge von 445nm eingesetzt. Hier wurde eine Monomodeglasfaser mit Cut-off-Wellenlänge von 385nm (Schäfter&Kirchhoff #45651-4-01) verwendet. Außerdem war in diesem Strahlengang über einen einklappbaren Spiegel vor der Einkopplung in die

3 Experimenteller Teil

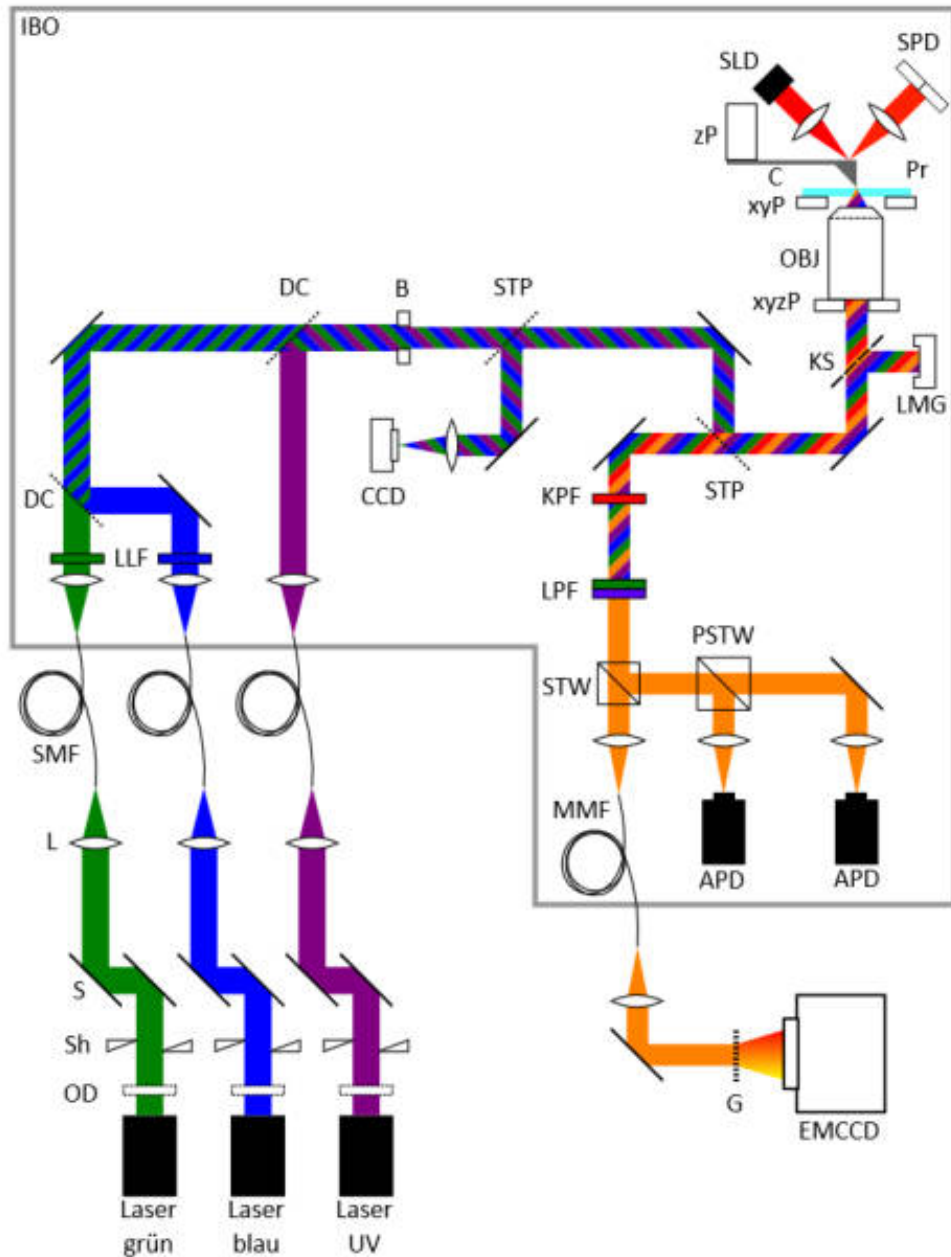


Abbildung 3.3: Schematische Darstellung des Strahlengangs des verwendeten Aufbaus. Verwendete Abkürzungen für Bauteile (aufgezählt in Lichtausbreitungsrichtung): OD: optischer Abschwächer, Sh: Shutter, S: Spiegel, L: Linse, SMF: Monomodefaser, LLF: Laserlinienfilter, DC: Dichroitischer Strahlteiler, B: Blende, STP: Neutralstrahlteilerplatte, KS: Klappspiegel, LMG: Leistungsmessgerät, xyzP: piezoelektrischer x, y, z -Verschiebetisch, OBJ: Objektiv, xyP: piezoelektrischer x, y -Verschiebetisch, Pr: Probe, C: Cantilever, zP: piezoelektrisches z -Verschiebeelement, SLD: Superlumineszenzdiode, SPD: segmentierter Photodetektor, CCD: CCD-Kamerachip, KPF: Kurzpassfilter, LPF: Langpassfilter, STW: Neutralstrahlteilerwürfel, PSTW: Polarisationsstrahlteilerwürfel, MMF: Multimodefaser, APD: Lawinenphotodiode, G: Transmissionsgitter, EMCCD: Elektronenmultiplizierende CCD-Kamera, IBO: Isolationsbox.

Glasfaser durch einen weiteren Laser (Coherent, Sapphire, 50mW) die Wellenlänge 488nm verfügbar. Im zweiten Nebenanregungsstrahlengang wurden Lichtquellen im Ultraviolettbereich des elektromagnetischen Spektrums eingesetzt, zunächst eine Diode (Thorlabs, M365L2, 190mW bei 700mA) mit einem Emissionsmaximum bei 365nm, in späteren Experimenten ein Diodenlaser (Toptica, iBeam Smart, 70mW) mit einer Wellenlänge von 375nm. Für die Diode wurde eine Multimodenfaser (Thorlabs, M67L02, Transmissionsbereich 280 – 750nm) benutzt, für den Diodenlaser eine UV-transmittierende Monomodefaser (Thorlabs) mit einer Cut-Off-Wellenlänge von 315nm. In diesem Strahlengang werden außerdem UV-transmittierende Linsen für die Ein- und Auskopplung in die Glasfaser, sowie Spiegel mit hoher Reflektivität im UV-Bereich verwendet. Bei der Beschreibung der Experimente (siehe Kapitel 3.3) ist jeweils angegeben, welche Anregungsquellen benutzt wurden.

3.1.2.2 Anregungs- und Detektionsstrahlengang

Der Versuchsaufbau ist schematisch in Abbildung 3.3 dargestellt. Durch die Glasfasern wird das Anregungslicht zum Versuchsaufbau auf der Lochrasterplatte geleitet. Nach dem Austritt aus der Faser wird das divergierende Licht jeweils mittels einer Linse ($f = 30\text{mm}$) kollimiert. Zur Beseitigung von Faserfluoreszenz wurden außerdem bei den Anregungswellenlängen 532nm und 445nm Laserlinienfilter eingesetzt (Semrock, LL01 532/25; Chroma, zet 445/10 x). Nach der Kollimierung werden die drei Strahlengänge der Anregungsquellen übereinandergelegt. Dafür wurden zwei dichroitische Strahlteiler eingesetzt. Durch Anordnung der reflektierenden Seite eines Strahlteilers im 45° -Winkel zu beiden Strahlen können diese dadurch vereinigt werden. Der Hauptanregungsstrahlengang (siehe Kapitel 3.1.2.1) wurde mit dem ersten Nebenanregungsstrahlengang durch einen Strahlteiler (AHF, 510DCXRU) mit einer Transmissions-Reflektionskante bei 510nm übereinandergelegt. Im weiteren Verlauf wurde der zweite Nebenanregungsstrahlengang mit den anderen beiden durch einen dichroitischen Spiegel (Semrock, Di02-R405) mit einer Transmissions-Reflektionskante bei 405nm vereinigt.

Nach der Vereinigung der drei Anregungsstrahlengänge wird der Strahldurchmesser durch eine Blende auf einen Durchmesser von ca. 6mm beschränkt, was der Größe der Eingangsöffnungen der verwendeten Objektive entspricht. Dadurch wird erreicht, dass die Objektivlinse nahezu vollständig ausgeleuchtet ist, jedoch zusätzliches Streulicht im Mikroskop durch Streuung und Reflektion an den Objektivwänden vermieden wird. Dieses könnte von dort leicht zu den Detektoren gelangen und somit für eine höhere Untergrundzählrate sorgen. Anschließend befindet sich im Strahlengang ein wellenlängenunabhängiger 80T/20R-Strahlteiler (AHF, F21-018) in einem 45° -Winkel zum einfallenden Strahl. Dieser leitet einen Teil des von der Probe zurück reflektiertem Lichts auf eine Sammellinse, welche dieses auf die photosensitive Fläche einer CCD-Kamera (Philips, SPC900NC) fokussiert. Dadurch entsteht dort ein Bild des von der Grenzfläche des Probensubstrats zur Umgebungsluft reflektierten Lichtes, welches für eine grobe Fokussierung des Anregungslichts benutzt

werden kann. Außerdem spielt das Bild dieser Kamera eine essentielle Rolle bei der gegenseitigen Ausrichtung des Rasterkraftmikroskops und des konfokalen Fluoreszenzmikroskops (siehe Kapitel 3.1.3.3).

Im weiteren Verlauf des Strahlenganges befindet sich ein weiterer wellenlängenunabhängiger 80T/20R-Strahlteiler (AHF, F21-018), an welchem Anregungs- und Detektionsstrahlengang getrennt werden. Bei Verwendung der Anregungswellenlänge 568nm wird an dieser Stelle stattdessen ein dichroitischer Spiegel mit einer Transmissionskante bei 580nm eingesetzt (Semrock, FF580-FDi01). Dieser Strahlteiler lenkt das Anregungslicht auf einen Spiegel, welcher es zum Objektiv umleitet. Dieses befindet sich befestigt an einem ebenfalls auf der Lochrasterplatte montierten Tisch. Der Tisch besteht aus einer Holzplatte mit rechteckiger Aussparung in der Mitte mit leichten Metallträgern als Beinen, auf welchem sich ein mechanischer x,y -Verschiebetisch, der piezoelektrische Verschiebetisch und der Messkopf des Rasterkraftmikroskops befinden (siehe Kapitel 3.1.1). An die Unterseite dieses Tisches direkt unterhalb der Aussparung ist ein weiterer piezoelektrischer x,y,z -Verschiebetisch (Piezosystem Jena, Tritor 102 SG) angebracht, welcher das Objektiv trägt und bewegen kann. Die z -Richtung des Verschiebetischs wird zum Fokussieren auf die Probenoberfläche verwendet. Die Möglichkeit, das Objektiv auch in x - und y -Richtung zu bewegen, ist relevant beim Simultanbetrieb beider Mikroskope (siehe Kapitel 3.1.3.3). Es wurden zwei Objektive bei den hier durchgeführten Experimenten verwendet: Ein Ölimmersionsobjektiv Plan-Neofluar von Zeiss (Plan-Apochromat, Vergrößerung 100x, 1,30 NA, Unendlichoptik, 0,17mm Deckglaskorrektur) und ein Luftspaltobjektiv EC-Plan-Neofluar ebenfalls von Zeiss (Plan-Apochromat, Vergrößerung 63x, 0,95 NA, Unendlichoptik, 0,13 – 0,21mm Deckglaskorrektur). Bei den jeweiligen Experimenten ist angegeben, welches Objektiv verwendet wurde. Auf der Oberseite des Tisches befindet sich ein mechanischer x,y -Verschiebetisch auf welchem der piezoelektrische Verschiebetisch des Rasterkraftmikroskops mit Aussparung und darüber befindlichem Probenhalter montiert ist (siehe Kapitel 3.1.1). Der mechanische Verschiebetisch wird für eine erste sehr grobe Ausrichtung von Cantileverspitze und optischer Achse verwendet (siehe Kapitel 3.1.3.3).

Vor dem Objektiv kann durch einen Servomotor (HS5245, Hitec) ein Spiegel in den Strahlengang eingebracht werden, welcher das Anregungslicht auf die sensitive Fläche eines Leistungsmessgeräts (Powermeter PM 100, Thorlabs) lenkt. Die Verwendung eines Servomotors ist hier notwendig, da während des Messbetriebs mit Temperaturstabilisierung kein direkter Zugang zu diesem Teil des Messaufbaus möglich ist (siehe Kapitel 3.1.3.4).

Das im Fokalvolumen des Objektivs von Fluorophoren emittierte oder an Streuzentren gestreute Licht wird durch das Objektiv kollimiert. Der Hauptteil (80%) wird durch den 80T/20R-Strahlteiler transmittiert. Hinter dem Strahlteiler wird das Emissionslicht von gestreutem Anregungslicht durch eine Reihe von optischen Langpassfiltern getrennt. Die Auswahl der eingesetzten Langpassfilter in jedem Experiment richtete sich nach den eingesetzten Anregungsquellen, so dass die eingesetzten Filter oder die Filterkombination

eine hohe optische Dichte bei allen Anregungswellenlängen aufweisen und oberhalb der größten Anregungswellenlänge sehr hohe Transmission besitzen.

In den Photoschaltexperimenten (siehe Kapitel 5) wird ein 488nm Langpassfilter (Naneo, BE81A02) eingesetzt zur Unterdrückung der Anregungswellenlängen 445nm und 375nm (bzw. 365nm), sowie abhängig von der eingesetzten größten Anregungswellenlänge ein Langpassfilter mit einer Absorptionskante bei 532nm (Semrock, LP03 532 RU) oder 568nm (Semrock, LP02 568 RU). In den Experimenten zu Aggregaten von konjugierten Polymeren (siehe Kapitel 6) wird ein Langpassfilter mit einer Absorptionskante 458nm (Semrock, LP02 458 RU) eingesetzt. Außerdem wird bei allen Experimenten mit dem Rasterkraftmikroskop ein Kurzpassfilter mit einer Transmissionskante bei 770nm (Semrock, FF01 770 SP) eingesetzt, um das Infrarotlicht der Superlumineszenzdiode des Rasterkraftmikroskops (siehe Kapitel 3.1.1) zu unterdrücken.

Nach den optischen Filtern wird die Intensität des nun verbliebenen Emissionslicht durch einen 50T/50R-Strahlteilerwürfel (Melles, 03BSC005) aufgeteilt. Der transmittierte Anteil wird durch eine achromatische Linse ($f = 75\text{mm}$) in eine Multimodenfaser gekoppelt (AFS-105/125, Durchmesser = $105\mu\text{m}$, Einkopplungseffizienz $\approx 70\%$). Diese leitet das Licht zu einem außerhalb der Isolationsbox gelegenen, von Streulicht abgeschirmten, Transmissionsgitter, welches als dispergierendes Element fungiert. Die Photonen gelangen danach wellenlängenabhängig auf verschiedene Bereiche der sensitiven Fläche einer EMCCD-Kamera (engl.: *electron multiplying charge coupled device* - EMCCD, Princeton Instruments, ProEm 512) und können somit spektroskopisch analysiert werden. Die bauliche Trennung des Spektrographen und der Spektrographen-Kamera vom restlichen Detektionsstrahlengang ist nötig für die hinreichende Vibrations- und Geräuschisolierung des Rasterkraftmikroskops, da für den Betrieb der auf -70°C zu kühlenden Kamera Lüfter notwendig sind.

Der am Neutralstrahlteilerwürfel reflektierte Anteil des emittierten Lichts wird durch einen Polarisationsstrahlteilerwürfel (B.Halle, PTW 480-780) in einen vertikal und einen horizontal polarisierten Strahl aufgeteilt. Anschließend wird die Intensität beider Polarisationen getrennt voneinander von zwei Lawinenphotodioden (Perkin Elmer, SPCM-AQR-14) detektiert. Die Strahlen werden dazu von achromatische Linsen ($f = 75\text{mm}$) auf die photosensitive Fläche der Lawinenphotodioden (engl.: *avalanche photo diode* - APD) fokussiert. Die photosensitiven Flächen der Lawinenphotodioden haben einen Durchmesser von $170\mu\text{m}$ und fungieren hier als Lochblende im Sinne des konfokalen Prinzips (siehe Kapitel 2.2.1).

Bei den Experimenten in Kapitel 5.1 wird eine Variation des hier beschriebenen Konfokalmikroskops eingesetzt, welches noch nicht mit dem Rasterkraftmikroskop kombiniert ist. Der dort verwendete Aufbau unterscheidet sich in ein paar wenigen Elementen von der obigen Beschreibung. Da ohne Rasterkraftmikroskop gearbeitet wird, wird hier ein anderer piezoelektrischer Verschiebetisch für die Rasterung und Fokussierung der Probe eingesetzt (Physik Instrumente, PI562.3). Auch ist das Objektiv für diese Experimente

fest montiert und nicht auf einem eigenen piezoelektrischen Verschiebetisch, da hier keine Ausrichtung der Strahlengangs zum Rasterkraftmikroskop nötig ist. Die Fokussierung wird hier stattdessen mit der z -Komponente des Proben-Verschiebetischs durchgeführt. Zur spektrographischen Untersuchung der Emission wird hier auch ein anderer Spektrograph (Princeton Instruments, Acton Spectra Pro 300i) und eine andere Kamera (Andor, Ixon^{EM}) eingesetzt. Der Emissionslichtanteil, welcher spektroskopisch untersucht werden soll, wird ebenfalls nicht über eine Multimodenglasfaser zum Spektrographen geleitet, sondern direkt über Spiegel.

3.1.2.3 Feinjustage der drei Anregungsstrahlengänge

Wie in Kapitel 3.1.2.2 beschrieben, wurden die Strahlengänge der drei unterschiedlichen Anregungslichtquellen mittels dichroitischer Spiegel vereinigt. Für die Durchführung von Experimenten mit zwei oder mehr Anregungswellenlängen müssen deren Punktspreizfunktionen nach Transmission durch das Objektiv eine hinreichende Überlappung aufweisen. Zu diesem Zweck wurde eine Feinjustage mit einer Probe, auf der Partikel eines Kalibrationsstandards (TetraSpeck[®]) für konfokale Fluoreszenzmikroskope aufgebracht waren, durchgeführt. Bei dem Kalibrationsstandard handelt es sich um Polymerkugeln mit einem Durchmesser von 100nm, welche mit vier verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen eingefärbt sind, die so gewählt sind, dass sie den gesamten sichtbaren Teil des elektromagnetischen Spektrums abdecken. Dadurch war es möglich, die Partikel mit allen im Konfokalmikroskop verfügbaren Anregungswellenlängen anzuregen und Emission zu detektieren. Die Positionen von Fluoreszenzflecken in Konfokalbildern können somit verglichen werden. Abweichungen zwischen Positionen von Fluoreszenzflecken des gleichen Partikels konnten somit zur Korrektur des Verlaufes der Strahlengänge eingesetzt werden.

Die Feinjustage der drei Anregungsstrahlengänge wurde so durchgeführt, dass die beiden Nebenanregungsstrahlengänge (375nm und 445nm, siehe dazu Kapitel 3.1.2.1) auf den Hauptanregungsstrahlengang (532nm) justiert wurden, dessen Verlauf nicht geändert wurde. Zunächst wurden jeweils Konfokalbilder mit größerem Ausschnitt (typischerweise $20 \times 20 \mu\text{m}$) für alle drei Anregungswellenlängen aufgenommen. Die Anregungsleistungsdichten betragen typischerweise ca. $50\text{W}/\text{cm}^2$ für die Hauptanregungswellenlänge und $300\text{W}/\text{cm}^2$ bzw. $440\text{W}/\text{cm}^2$ für die Nebenanregungswellenlängen im blauen bzw. ultravioletten Bereich. Durch einen Vergleich ihrer relativen Anordnung konnten einzelne Fluoreszenzflecken in den drei Bildern aneinander zugeordnet werden, so dass diese mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit vom gleichen Partikel stammen. Es war nun eine erste grobe Anpassung der Nebenstrahlengänge an den Hauptstrahlengang möglich, welcher die x - und y -Positionen der Fluoreszenzflecken angleicht. Nach jeder signifikanten Veränderung am Verlauf des Strahlengangs während der Justage wurde ein erneutes Konfokalbild aufgenommen, um den Effekt auf die Positionen der Fluoreszenzflecken zu kontrollieren.

Nach einer groben Angleichung der Positionen der Fluoreszenzflecken in den Bildern mit den verschiedenen Anregungswellenlängen wurde auf die Position eines möglichst isoliert liegenden Partikels zentriert. Nach der Aufnahme eines Bildes mit der Hauptanregungswellenlänge ($3 \times 3 \mu\text{m}$) wurde an der Position der maximalen Emission des Fluoreszenzflecks dieses Partikels der zeitliche Verlauf der Intensität bei Anregung mit einer der Nebenanregungswellenlängen aufgezeichnet. Durch Verschieben des Anregungsfokus' dieser Wellenlänge wurde die gemessene Intensität an dieser Position maximiert, zunächst in x - und y -Richtung und anschließend in z -Richtung. Dieser Vorgang wurde so oft wiederholt, bis die Positionen der Fluoreszenzflecken in den Konfokalbildern beider Anregungswellenlängen eine große Übereinstimmung zeigten. Die gleiche Prozedur wurde anschließend für die zweite Nebenanregungswellenlänge wiederholt.

Die Ausrichtung der Strahlengänge der Nebenanregungswellenlängen wurde durch Justierung von Spiegeln und dichroitischen Spiegeln in diesen Strahlengängen (nach der Auskopplung aus der jeweiligen Glasfaser) erreicht. Diese befinden sich in dem Teil des Konfokalmikroskops, welcher innerhalb der thermischen Isolationsbox ist. Wie in Kapitel 3.1.3.4 beschrieben wird, wird die Temperatur innerhalb dieser Box durch die Temperaturregulierung mehrere K oberhalb der Raumtemperatur gehalten. Für einen Eingriff zur Justierung der Strahlengänge muss diese Isolationsbox jedoch geöffnet werden, wodurch es zu einem schnellen Temperaturabfall innerhalb der Isolationsbox kommt und damit zu thermischer Drift der Positionen der Fluoreszenzflecken in den Konfokalbildern. Nach einem Eingriff zur Justage muss deshalb immer eine gewisse Zeit gewartet werden (mindestens ca. 10min, abhängig davon wie lange die Isolationsbox geöffnet war) bis die Temperatur im Innern wieder ausreichend stabilisiert ist, bevor der Effekt des Eingriffes durch Konfokalaufnahmen kontrolliert werden kann. Eine weitere Folge der Temperaturdrift ist neben den nötigen Wartezeiten nach einem Justage-Eingriff auch eine Reduktion der erzielbaren Genauigkeit bei der Übereinanderlegung der Fokuspositionen der drei Anregungswellenlängen, auch weil nach Abschluss dieser Justage die Isolationsbox im Zuge einer Messreihe weiterhin geöffnet werden muss (zum Beispiel zum Einbau von Cantilevern oder Proben). Dies hatte Konsequenzen für die Durchführung der Experimente mit mehreren Anregungswellenlängen (siehe Kapitel 5).

In regelmäßigen Abständen (ca. 2-3 Wochen) wurde die Übereinstimmung der Positionen der Foki der drei Wellenlängen überprüft und gegebenenfalls korrigiert.

3.1.3 Simultaner Betrieb von Rasterkraft- und Konfokalmikroskop

Zur simultanen Untersuchung von Proben mit Rasterkraft- und konfokalem Fluoreszenzmikroskop wird die Probe vom piezoelektrischen x, y -Verschiebetisch gerastert, während die Position der Cantileverspitze auf der Probenebene, sowie die optische Achse des Fluoreszenzmikroskops konstant gehalten werden. Dazu sind einige experimentelle Vorkehrungen zu treffen, um Wechselwirkungen der beiden Mikroskope, welche die Messungen beeinträch-

tigen können zu minimieren. Aus den Eigenschaften der Mikroskope ergeben sich außerdem bestimmte Rahmenbedingungen für die Probenherstellung. Um sicher zu stellen, dass beide Mikroskope die gleiche Stelle der Probe untersuchen, sind experimentelle Routinen notwendig, um die Spitze des Cantilevers entlang der optischen Achse des Konfokalmikroskops zu positionieren.

3.1.3.1 Experimentelle Vorkehrungen

Ein Teil des Infrarotlichts der Superlumineszenzdiode des Rasterkraftmikroskops passiert den Cantilever an den Seiten und kann somit über das Objektiv in den Strahlengang des Konfokalmikroskops gelangen. Um die Detektion von Photonen dieses Infrarotlichts an den Detektoren des Konfokalmikroskops zu verhindern, wurden - wie in den Kapiteln 3.1.1 und 3.1.2.2 beschrieben - ein Bandpassfilter in den Messkopf des Rasterkraftmikroskops eingebaut, sowie ein Kurzpassfilter in den Detektionsstrahlengang. Damit wurde die breite Emission der Superlumineszenzdiode auf ein Energieband um 850nm beschränkt (Bandbreite ca. 30nm). Der Anteil des Infrarotlichts, der den Strahlteiler transmittiert, wird von dem Kurzpassfilter mit einer Absorptionskante bei 770nm nahezu vollständig aus dem Detektionsstrahlengang herausgefiltert. Ein Teil des Infrarotlichts wird am Strahlteiler in den Anregungsstrahlengang reflektiert, wo er zusammen mit dem am Phasenübergang Probensubstrat-Luft reflektierten Anteil des Anregungslicht über eine Linse auf eine CCD-Kamera abgebildet wird (siehe Kapitel 3.1.2.2). Da nur Infrarotlicht, welches nicht von der Cantileveroberseite reflektiert wird, in den Strahlengang gelangt, ist auf der CCD-Kamera ein Schattenwurf des Cantilevers zu erkennen. Zusammen mit der Abbildung des an der Substrat-Luft-Grenzfläche reflektierten Anteils des fokussierten Anregungslichts wird dieser Schattenwurf in einem Teilschritt der gegenseitigen Ausrichtung der beiden Mikroskope verwendet (siehe Kapitel 3.1.3.3).

Die verwendeten Cantilever dürfen für die simultane Messung an der Probe keine eigene Lumineszenz zeigen, da diese die Fluoreszenz der untersuchten Partikel oder Moleküle überdecken könnte. Kristallines Silizium eignet sich als Spitzen- und Cantilevermaterial für kombinierte Fluoreszenz- und Rasterkraftmikroskopieexperimente, da es im Gegensatz zu anderen üblichen Spitzenmaterialien (wie z.B. amorphes Siliziumnitrid) keine signifikante Eigenfluoreszenz im sichtbaren Bereich des elektromagnetischen Spektrums besitzt [51, 52, 220, 221]. Bei der Auswahl der Cantilevermodelle (siehe Kapitel 3.1.1) für die Experimente dieser Arbeit wurde dieses Kriterium deshalb berücksichtigt.

Eine weitere Störquelle für Messungen mit dem kombinierten Aufbau sind elektrostatische Wechselwirkungen, welche zum Beispiel durch eine Potentialdifferenz zwischen dem Cantilever und der Probe, dem Probenhalter oder anderen nahen Bauteilen verursacht werden können. Zur Vermeidung davon wurden die Lochrasterplatte und damit alle mechanischen Bauteile des Konfokalmikroskops, sowie der Tisch mit der Probenhalterung, welcher sich auf dieser befindet, geerdet.

Wie in Kapitel 3.1.2.2 erwähnt, ist das Objektiv auf einem piezoelektrischen x, y, z -Verschiebetisch montiert, welcher für Fokussierung des Anregungslichts und für die Ausrichtung der optischen Achse des Konfokalmikroskops zur Cantileverspitze verwendet wird (siehe Kapitel 3.1.3.3). Bei der Verwendung von Ölimmersionsobjektiven besteht durch den Ölfilm zwischen Probenunterseite und Objektiv eine mechanische Kopplung zwischen Objektiv und Probe. Schwingungen des Objektivs - bzw. dessen Halterung - können deshalb auf die Probe übertragen werden und mit dem Rasterkraftmikroskop detektiert werden und die Topographiemessung überlagern. Bei starken Schwingungsübertragungen kann es sogar zu einer Beschädigung der Cantileverspitze kommen. Bereits bei der Inbetriebnahme des ersten kombinierten Aufbaus aus Rasterkraftmikroskop und konfokalem Fluoreszenzmikroskop wurde eine Schwingung der Probenoberfläche von mehreren Nanometern in z -Richtung beobachtet [216]. Als Ursache wurde eine elektronische Störung mit hoher Frequenz identifiziert, welche die Ausgangsspannung des Piezoverschiebetischs überlagert, auf welchem das Objektiv angebracht ist. Die Konsequenz davon sind mechanische Schwingungen von diesem, welche über das darin befestigte Objektiv und den Ölfilm auf die Probe übertragen und vom Rasterkraftmikroskop als Höhsignal detektiert werden. Mit Hilfe eines passiven elektronischen Tiefpassfilters kann das hochfrequente Störsignal stark abgeschwächt werden, womit für viele Anwendungen des kombinierten Aufbaus die detektierbaren Schwingungen der Probe so weit reduziert wurden, dass Rasterkraftmikroskopiemessungen möglich waren bei gleichzeitiger Verwendung eines Ölimmersionsobjektivs [189, 216]. Eine vollständige Unterdrückung des Störsignals gelingt dadurch jedoch nicht. Oberflächenstrukturen mit nur geringem Höhenkontrast von einigen Hundert Pikometern, können, insbesondere bei gleichzeitiger geringer lateraler Ausdehnung, nicht sicher vom Störgeräusch unterschieden werden. Eine genauere Analyse des noch vorhandenen Störsignals und Ansätze, dieses weiter zu verringern, finden sich in Kapitel 4.

Eine weitere Konsequenz der Benutzung des elektronischen Tiefpassfilters ist, dass die angesteuerten Piezoelemente des Objektivs nur noch träge auf Spannungsänderungen reagieren. Bei Verwendung des internen PID-Regelkreises führt dies zu starker Überregelung. Stattdessen wird, um eine stabile Positionierung des Objektivs bei Verwendung des Tiefpassfilters zu ermöglichen, eine auf Basis von LabView programmierte Stabilisierungssoftware benutzt, um die Piezoelemente zu steuern oder in ihrer Ausdehnung konstant zu halten. Der Piezoscanner des Objektivs kann, wenn dieser Tiefpassfilter verwendet wird, damit nur für eine langsame Ausrichtung des Objektivs verwendet werden. Eine klassische Rasterung über die Probe ist damit nicht mehr möglich. Dies ist relevant für die möglichen Ausrichtungsroutinen für das Rasterkraft- und Konfokalmikroskop (siehe Kapitel 3.1.3.3), da bei manchen Vorgehensweisen eine solche Rasterung mit dem Objektiv durchgeführt wird.

Für den simultanen Betrieb der beiden Mikroskope ist neben der Ausrichtung von optischer Achse und Cantileverspitze zueinander außerdem eine gleichzeitige Ansteuerung und Datenerfassung der Mikroskope notwendig. Dazu werden die digitalen Ausgangssignale der

Lawinenphotodioden über ein zusätzliches Signalmodul vom Controller des Rasterkraftmikroskops ausgelesen. Da das Signalmodul nur ein Signal gleichzeitig verarbeiten kann, werden die Ausgangssignale der Lawinenphotodioden in einer Eigenbau-Steuerungsbox vorverarbeitet. An dieser können verschiedene Aufzeichnungsmodi eingestellt werden. Der Standardmodus - und der in dieser Arbeit sofern nicht anderweitig erwähnt immer benutzte Modus - ist der Summenmodus, bei welchem die Zählraten der beiden Lawinenphotodioden-Kanäle addiert werden. Als weitere Modi stehen die Lawinenphotodioden-Kanäle außerdem einzeln zur Verfügung - der jeweils andere Kanal wird bei Benutzung eines solchen Modus dann nicht aufgezeichnet. Weiterhin können die Signale der beiden Kanäle abwechselnd aufgezeichnet werden. Hier werden die gemessenen Zählraten über zwei Datenpunkte jeweils addiert und dann alternierend ausgegeben. Das auf diese Art und Weise erhaltene Konfokalbild muss anschließend nachbearbeitet und in zwei getrennte Bilder überführt werden. Diese haben dann nur die Hälfte der Datenpunkte pro Rasterlinie wie das simultane Topografiebild. Die Steuerungsbox ermöglicht außerdem in allen vorgestellten Modi das Auslassen von Datenpunkten und Rasterlinien. Durch ein Ausgangssignal kann dies in Kombination mit einer modulierbaren Anregungsquelle dazu verwendet werden, eine Probe nur an bestimmten Datenpunkten überhaupt zu beleuchten. Bei langwierigen Rasterkraftmessungen kann somit die Belichtungszeit der Fluorophore verringert und damit ein Bleichen während der Messung unwahrscheinlicher gemacht werden. Auch hier muss das eigentliche Konfokalbild dann durch Nachbearbeitung erhalten werden und besteht je nach Einstellung aus einem ganzzahligen Bruchteil der Datenpunkte und Rasterlinien des zugehörigen Topografiebilds.

Die Steuerungssoftware des Rasterkraftmikroskops wird auf einem mit dem Rasterkraftmikroskop-Controller verbundenen Messrechner betrieben und ermöglicht somit neben der Steuerung aller Rasterkraftmikroskopie-Methoden auch die Aufnahme von Konfokalbildern. Die Datenausgabe erfolgt dabei Rasterlinie für Rasterlinie, wodurch sich die Bilder der Messkanäle langsam aufbauen (neben Fluoreszenzzählrate und Topografie im intermittierenden Kontaktmodus außerdem noch Phase und Amplitude). Dies erlaubt auch ein vorzeitiges Abbrechen einer Aufnahme und das Erhalten von Teilbildern.

Für viele Experimente ist eine Flutung des Probenraums mit Inertgas, wie z.B. Argon, notwendig, um die Photostabilität der Fluorophore zu erhöhen. Dies kann durch ein Rohr an der Seitenwand der Probenhalterung erreicht werden. Da der Probenraum jedoch nicht mechanisch vollständig abgeriegelt ist, ist ein durchgängiger Strom von Inertgas notwendig um die Inertgaskonzentration aufrechtzuerhalten. Da der stetige Zustrom von Inertgas bei schnellerem Zufluss zu mechanischen Schwingungen (vor allem des Cantilevers) im Probenraum führen kann, kann der Zustrom aus der Gasflasche durch einen Druckminderer auf wenige mL/min gedrosselt werden, welcher dann zu keinen messbaren Schwingungen führt. Es kommt dabei zu einer leichten Verschiebung der Resonanzfrequenz des Cantilevers durch die Veränderung des Mediums, in welchem die Schwingung stattfindet.

3.1.3.2 Anforderungen an die Probenbeschaffenheit

Die Proben für die simultane Untersuchung mit Rasterkraft- und konfokaler Fluoreszenzmikroskopie müssen den Anforderungen beider Methoden gerecht werden. Für die optische Konfokalmikroskopie sind transparente Probensubstrate und bei Einzelpartikeluntersuchungen eine solch geringe Belegungsdichte der Oberfläche mit Fluorophoren notwendig, dass diese im Mittel weiter als das optische Auflösungslimit auseinander liegen. Die geringe Belegungsdichte hat für das Rasterkraftmikroskop zur Folge, dass vergleichsweise große Flächen in sehr detaillierter Auflösung gerastert werden müssen, um eines oder mehrere Fluorophore abzubilden. Dies führt zu langen Aufnahmezeiten und zusätzlicher Belastung für die Cantileverspitze.

Für die Rasterkraftmikroskopie sind insbesondere für die Untersuchung einzelner nanoskopischer Objekte sehr flache Substratoberflächen notwendig - idealerweise frisch gespaltene Schichtkristalle, welche eine nahezu atomar flache Oberfläche garantieren sollen. Diese müssen für den gleichzeitigen Betrieb mit dem Konfokalmikroskop möglichst transparent und dünn sein. Letzteres ist wichtig, da die Objektive typischerweise auf Glassubstrate mit spezifischer Dicke ausgelegt sind. Die auf solchen Glasträgern befestigten Schichtsilikate sollten die Dicke des Glassubstrats daher idealerweise nur unwesentlich vergrößern. Auch können in diesen Kristallen weitere für die Durchführung der Experimente unerwünschte optische Effekte auftreten, wie z.B. Doppelbrechung. Weiterhin ist es nicht möglich, dass die zu untersuchenden Fluorophore, wie bei Konfokalmikroskopie häufig üblich, in einer dünnen Schicht Polymermatrix eingebettet werden, mit welcher der Probenträger beschichtet wird. Stattdessen müssen diese für eine Messung mit dem Rasterkraftmikroskop frei auf einer Substratoberfläche aufgebracht werden. Dies kann sich, da die Fluorophore damit der Atmosphäre (oder Gasphase im Probenraum der Mikroskope) ausgesetzt sind, negativ auf die Photostabilität und Fluoreszenzquantenausbeute auswirken [222–224]. Das Fluten des Probenraums mit Inertgas kann diesen Effekt mildern (siehe Kapitel 3.1.3.1). Größere Mengen Nebenprodukte oder Verunreinigungen, welche bei reinen Konfokalaufnahmen nicht auffallen, solange sie keine Emission im untersuchten Wellenlängenbereich haben, können ebenfalls die Rasterkraftmikroskopie-Aufnahmen erheblich erschweren. Diese können für sehr viele zusätzliche Partikel auf der Oberfläche sorgen, was die zuverlässige Identifikation der zu untersuchenden Fluorophore erschwert oder verhindert. Es ist also eine sehr hohe Reinheit der Probenlösung wichtig und bei der Probenpräparation müssen weitere Kontaminationen möglichst vermieden werden. Die Aufnahme von Topografiebildern mit dem Rasterkraftmikroskop kann außerdem durch lokale Ladungsträger an der Oberfläche oder von sehr adhäsiven Eigenschaften der Probe (oder eines Nebenprodukts/einer Verunreinigung) gestört werden, da dies zu sehr starken Kräften zwischen Spitze und Probe führen kann (siehe Kapitel 2.1.2).

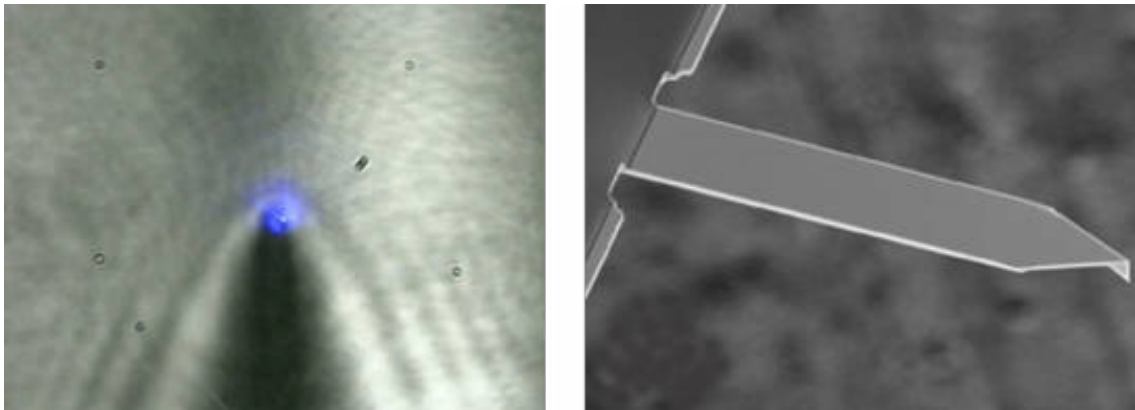


Abbildung 3.4: Schattenwurf des Cantilevers auf CCD-Kamera mit Anregungsfokus (links). Wenn die ungefähre Position der Spitze am Cantilever bekannt ist, wie zum Beispiel bei dem in dieser Arbeit unter anderem verwendeten Cantilever AC240TS von Olympus (am Ende des konisch zulaufenden Federbalkens, siehe rechts, Bild von Internetseite des Herstellers [217]), kann eine Vorausrichtung von optischer Achse und Cantilever-Position vorgenommen werden.

3.1.3.3 Gegenseitige Ausrichtung der Mikroskope

Um einen simultanen Betrieb beider Mikroskope bewerkstelligen zu können, muss die Cantileverspitze zu einem bestimmten Zeitpunkt den gleichen Teil der Probe untersuchen, in welchen das Konfokalmikroskop das Anregungslicht fokussiert. Es muss also die optische Achse des Konfokalmikroskops auf dem Berührungspunkt zwischen Cantileverspitze und Probe liegen. In vorausgegangen Experimenten [189, 216] wurde ein mehrschrittiges Verfahren zur Sicherstellung dieser Voraussetzung etabliert.

Wie in Kapitel 3.1.3.1 beschrieben, wird mit Hilfe des Infrarotlichts des Rasterkraftmikroskop-Messkopfes ein Schattenwurf des Cantilevers auf einer CCD-Kamera im Strahlengang abgebildet. Auf dieser wird ebenfalls der an der Probenoberseite totalreflektierte Anteil des Anregungslichts abgebildet, welcher für die Fokussierung des Konfokalmikroskops verwendet wird. Nach Einbau eines neuen Cantilevers kann es vorkommen, dass sich der Schatten sehr weit entfernt vom Anregungslichts auf der Kamera befindet, häufig sogar außerhalb des abgebildeten Bereiches. Mit Hilfe des mechanischen Verschiebetisches, welcher sich zwischen den Auflagepunkten vom Rasterkraft-Messkopf und der Objektivhalterung befindet (siehe Kapitel 3.1.2.2), kann der Cantilever relativ zum Objektiv bewegt werden und eine erste, sehr grobe Annäherung erlangt werden. Dies muss noch vor der thermischen Stabilisierung des Aufbaus (siehe unten) stattfinden, da direkter Zugang zum Aufbau benötigt wird. Bereits hier kann es von Vorteil sein, wenn die ungefähre Position der Spitze am Cantilever bekannt ist (z.B. aus SEM-Aufnahmen o.ä.), damit eine bessere Voreinstellung für den nächsten Schritt gewährleistet ist.

Nach ausreichender Temperaturstabilisierung wird der Fokus durch Verschieben des Objektivs mittels des piezoelektrischen Verschiebetisches zu der vermuteten Position der Spitze am Cantileverschatten verschoben. Hier ist eine möglichst genaue Kenntnis der Position der Spitze am Cantilever erforderlich. In der vorliegenden Arbeit wurden zwei Arten von

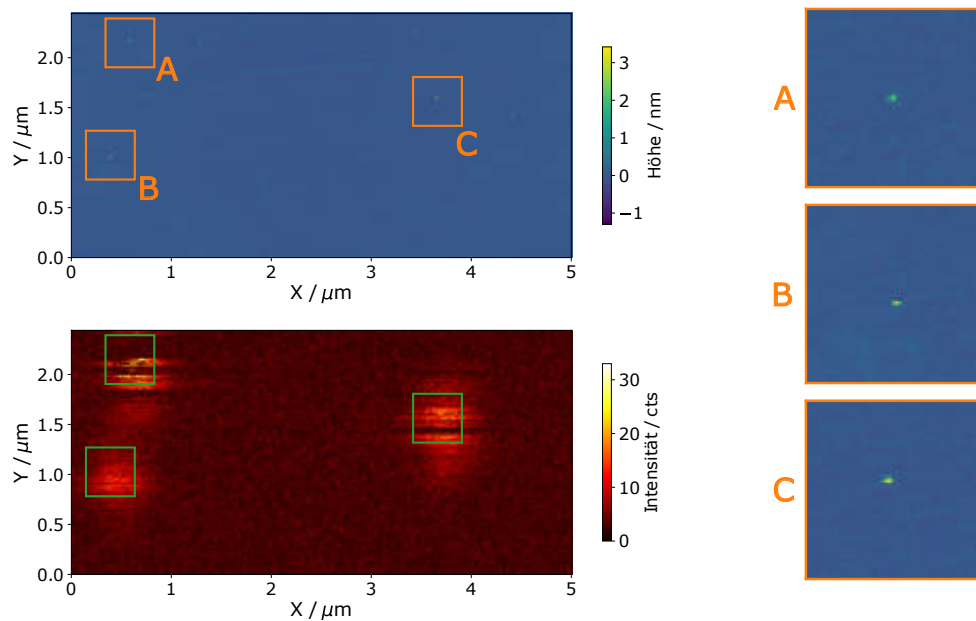


Abbildung 3.5: Beispiel für simultan aufgenommene Topografie- (links oben) und Fluoreszenzbilder (links unten, $\lambda_{An} = 532\text{nm}$, $P \approx 2900\text{W}/\text{cm}^2$), in welchen nur noch eine sehr geringe Abweichung zwischen der Position der Partikel und dem Mittelpunkt der beugungsbegrenzten Fluoreszenzflecken zu beobachten ist. Es handelt sich um CdSe-Nanokristalle auf einem Muskovitssubstrat. Die verbleibende Differenz kann durch Verschieben der Objektiv-Position korrigiert werden. Die orangen, quadratischen Ausschnitte A,B,C des Topografiebildes sind rechts vergrößert dargestellt zur besseren Identifikation der Partikel, welche nur eine geringe laterale Ausdehnung im Verhältnis zur Bildgröße haben. Die grünen Quadrate im Fluoreszenzbild befinden sich an der exakt gleichen Position wie die orangen Quadrate im Topografiebild. Sie verdeutlichen die Übereinstimmung des Patterns der Partikelpositionen im Topografiebild und der Emitterpositionen im Fluoreszenzbild.

Cantilevern eingesetzt (siehe Kapitel 3.1.1). Bei einem Modell (Olympus AC240TS) befindet sich die Spitze stets am Ende eines konisch zulaufenden Cantileverbalkens (siehe Abbildung 3.4). Beim zweiten Modell (Nanosensors SSS-FMR) ist der Spitzenapex typischerweise einige Hundert Nanometer von der äußersten Kante des Balkens entfernt.

Mit Hilfe dieses Justage-Schrittes konnten bei bekannten Cantilevern zuverlässig Ausrichtungen der Mikroskope erhalten werden mit Abweichungen zwischen Cantileverspitzen-Position und optischer Achse $< 1\mu\text{m}$. Im finalen Schritt des Ausrichtungsprozesses wird ein simultanes (oder direkt aufeinander folgendes) Rasterbild mit beiden Mikroskopen durchgeführt. Die Anordnung von Fluoreszenzemittern im Konfokalbild und die Positionen der Fluorophore im Topografiebild können verglichen und zugeordnet werden und die verbleibende Abweichung der Positionen korrigiert werden. Für eine verlässliche Zuordnung sollten zwei oder mehr Fluorophore in beiden Bildern zu erkennen und einander zuzuordnen sein (siehe Abbildung 3.5).

Alternativ kann dieser finale Schritt bei der gegenseitigen Ausrichtung auch so durchgeführt werden, dass nur ein Fluoreszenzemitter im Bildausschnitt zu sehen ist. Dies erlaubt es,

kleinere Bildausschnitte in hoher Auflösung mit dem Rasterkraftmikroskop zu rastern. Die optische Achse des konfokalen Mikroskops wird dann auf eine Erhebung im Höhenbild ausgerichtet, die als vom Fluorophor stammend vermutet wird. Die Richtigkeit dieser Zuordnung muss dann anschließend bestätigt werden, indem Rasterbilder an der Position eines anderen unabhängigen Fluoreszenzemitters aufgenommen werden. Auch hier muss sich dann eine Erhebung in der erwarteten Größe an jener Position im Topografiebild befinden, welche der Mitte des Fluoreszenzflecks im Konfokalbild entspricht. Diese Art der Feinausrichtung der Mikroskope benötigt mehr Zeit und eine besonders genaue Vorausrichtung in den Schritten zuvor. Sie eignet sich aber besonders für die Untersuchung von Fluorophoren, welche nur geringen Höhenkontrast liefern und eine kleine laterale Ausdehnung haben. In einem Topografiebild, welches groß genug ist, um die Positionen mehrerer Fluorophore abzubilden, sind diese häufig nicht zuverlässig zu erkennen.

Für das verlässliche Identifizieren der Fluorophore im Topografiebild darf die Probe nicht mit vielen Partikeln ähnlicher Größe (oder geblichenen Emittlern) verunreinigt sein. Außerdem müssen sich für die Fluorophore auch bei dem Rastern eines größeren Bildausschnittes verlässlich topografische Erhebungen mit signifikantem Höhenkontrast erhalten lassen, was insbesondere für lateral und axial kleine oder auch weiche Fluorophore nicht immer erfüllt ist. Dies ist auch auf die beim Rastern eines sehr großen Bildausschnittes unter Umständen sehr kurze Kontaktzeit der Spitze mit dem Fluorophor zurückzuführen. Für das Ermitteln der Position eines Emitters im Konfokalbild ist es außerdem wichtig, dass der Fluorophor nicht frühzeitig geblichen ist und auch kein sehr ausgeprägtes Blinkverhalten mit langen Auszeiten zeigt.

Für den Fall, dass kein Ölimmersionsobjektiv sondern ein Luftspaltobjektiv Verwendung findet, wurde im Rahmen dieser Arbeit eine weitere Ausrichtungsroutine etabliert, welche vor dem finalen Schritt in der obigen Beschreibung Anwendung findet. Diese macht eine genauere Vorausrichtung von Cantilever und optischer Achse möglich und kann daher die Zuordnung von Fluoreszenzsignalen zu Erhebungen des Topografiebildes erleichtern. Bei Benutzung eines Luftspaltobjektivs ist die Verwendung des elektronischen Tiefpassfilters (siehe dazu Kapitel 3.1.3.1 und 4) nicht notwendig. Stattdessen kann der piezoelektrische Verschiebetisch des Objektivs mit einer auf LabView basierenden Steuerungssoftware für Konfokalmikroskopie bewegt werden. Dies ermöglicht die Messung von Konfokalbildern, bei denen das Objektiv entlang der Probenunterseite gerastert wird, während die Probe und der Cantilever unbewegt bleiben.

Nach der groben Ausrichtung von Cantilever und optischer Achse mit Hilfe des Schattenschwurfs auf der CCD-Kamera, wird also nun zunächst durch Rasterung der Probe mit der Messsoftware des Rasterkraftmikroskops ein Bereich auf der Probe gesucht, in welchem sich nur wenige oder keine Fluoreszenzemitter befinden. Daraufhin wird die Cantileverspitze im intermittierenden Kontaktmodus an einer solchen Stelle in Kontakt zur Probenoberfläche gebracht. Anschließend erfolgt die Aufnahme von Konfokalbildern durch Rasterung des Ob-

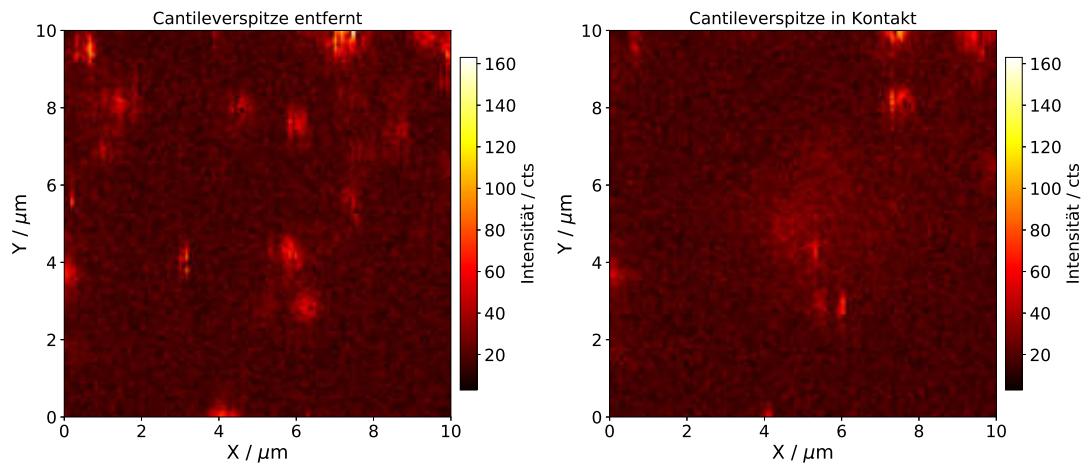


Abbildung 3.6: Vergleich von Konfokalbildern, welche durch Rasterung des Objektivs entstanden sind ($\lambda_{An} = 532\text{nm}$, $P \approx 11700\text{W}/\text{cm}^2$, Integrationszeit: $\Delta t = 7\text{ms}$). Im linken Bild ist die Cantileverspitze entfernt von der Probenoberfläche. Im rechten Bild befindet sie sich in Kontakt (intermittierenden Kontaktmodus) zur Probenoberfläche. Beide Bilder sind an der gleichen Position aufgenommen worden. Man erkennt im rechten Bild mittig das breite Signal, welches durch die Rückstreuung von Anregungslicht an der Cantileverspitze entsteht. Einige der Fluorophore sind im rechten Bild bereits photobleichen.

jektivs an der Unterseite der Probe. Durch einen Vergleich von Bildern mit zurückgefahrener Cantileverspitze und solchen, bei denen sich die Spitze im Kontakt zur Oberfläche befindet, kann die Position der Spitze anhand ihrer Rückstreuung von Photonen des Anregungslichts erkannt werden (siehe Abbildung 3.6). Die Ausrichtung der optischen Achse des Konfokalmikroskops erfolgt dann zum Intensitätsmaximum der Rückstreuung der Cantileverspitze. Da ein sehr großer Teil des Anregungslichts von den Langpassfiltern im Detektionsstrahlengang herausgefiltert wird, werden hohe Anregungsintensitäten ($\geq 12\text{kW}/\text{cm}^2$) und lange Integrationszeiten pro Bildpunkt des Konfokalbildes (typischerweise 7ms) benötigt, um die Rückstreuung der Cantileverspitze zu erkennen. Die Emission von Fluorophoren in der Nähe der Cantileverspitzenposition kann die Rückstreuung überdecken, weshalb ein Bildausschnitt mit geringer Belegung gewählt wurde. Es konnte mit diesem Schritt eine Genauigkeit der Vorausrichtung von optischer Achse und Apex der Cantileverspitze erzielt werden, bei welcher die verbliebenen Abweichungen regelmäßig kleiner als 200nm waren.

3.1.3.4 Thermische Stabilisierung

Neben der möglichst exakten Ausrichtung von Cantileverspitze und optischer Achse ist es für einen simultanen Betrieb des kombinierten Mikroskops unerlässlich, dass die einmal erlangte Ausrichtung möglichst lange erhalten bleibt. Zu diesem Zweck wird der gesamte Aufbau temperaturstabilisiert. Dies soll thermisches Driften der relativen Position von Cantileverspitze zu optischer Achse, sowie der Probenposition möglichst gering halten. Der Anregungsstrahlengang nach den Glasfasern, sowie der gesamte Detektionsstrahlengang mit Ausnahme des Spektrographen befindet sich deshalb zusammen mit der Probe und dem Rasterkraftmikroskop auf dem Vibrationsisolationstisch in einer thermischen

Isolationsbox. Diese besteht aus 4cm dicken mitteldichten Faserplatten und einer Lage schallabsorbierendem Schaumstoff auf der Innenseite. Die Vorderwand der Box ist eine magnetisch verschließbare Tür, welche den Zugang zum Gerät erlaubt. In die Rückwand sind zwei Öffnungen eingelassen, welche den Innenraum der Box über Aluminium-verkleidete Schläuche mit einem regulierbaren Heizkörper verbindet. Der Heizkörper wird mit einem Temperaturstabilisierungscontroller (Model 336, Lakeshore) angesteuert, welcher ebenfalls mit einem Temperatursensor im Isolationsbox-Innenraum verbunden ist. Die Heizleistung des Heizelements wird dabei dann durch den Regelkreis des Temperaturstabilisierungscontroller so eingestellt, dass die Innentemperatur möglichst nahe an einem dort eingestellten Sollwert herankommt. Ein im Heizkörper angebrachter Ventilator sorgt für eine Luftzirkulation zwischen Isolationsbox-Innenraum und Heizkörper. Der Temperatur-Sollwert liegt dabei stets etwas über der Raumtemperatur des Laborraumes, typischerweise bei 28.5°C (Raumtemperatur des Labors ca. 23°C). Bei Verwendung eines Inertgases im Probenraum, wird dieses durch ein spiralförmiges Kupferrohr im Innenraum der Isolationsbox geleitet, um die Gastemperatur an die Innentemperatur anzugleichen.

Damit sich das Temperatur-Gleichgewicht einstellen kann, ist es notwendig, dass vor dem Betrieb beider Mikroskope die Isolationsbox für mehrere Stunden (typischerweise 3 – 5h) geschlossen bleibt. Die benötigte Zeit hängt dabei davon ab, wie lange die Isolationsbox vor diesem Temperierungszeitraum geöffnet war, ob das Heizelement bereits angeschaltet war und mit welcher Umdrehungszahl der Ventilator betrieben wird (beim Einsatz von Ölimmersionsobjektiven kann eine kleinere Umdrehungszahl zu einer Verringerung der beobachteten mechanischen Störungen führen). Die Konsequenz daraus ist, dass alle Arbeitsschritte, welche direkten Zugang zum Versuchsaufbau in der Isolationsbox benötigen, vor diesem Zeitraum abgeschlossen sein müssen. Dabei handelt es sich um den Einbau neuer Proben oder Cantileverspitzen, das mechanische Senken des Cantilevers, so dass dieser über den Verfahrweg des z -Piezoelements Kontakt zur Probenoberfläche aufnehmen kann, sowie den ersten groben Annäherungsschritt bei der gegenseitigen Ausrichtung (siehe Kapitel 3.1.3.3).

In einer früheren Versuchsreihe konnte mit einem analogen Messaufbau für das thermische Driften von Probenpositionen ohne Temperatur-Stabilisierung eine Geschwindigkeit von 7,4nm/min gefunden werden. Nach abgeschlossener Temperaturstabilisierung konnte dies auf 0,3nm/min reduziert werden [189].

Neben der thermischen Stabilisierung dient die Isolationsbox außerdem auch dem Dämpfen von akustischen Störungsquellen außerhalb der Box, welche zu mechanischen Schwingungen des Aufbaus führen können. Dies unterstützt die mechanische Stabilisierung des Vibrationsisolationstisches, auf welchem sich der Aufbau befindet. Dieser gleicht vor allem mechanische Schwingungen aus, welche über den Boden und die Tischplatte an den Aufbau weitergegeben werden (siehe Kapitel 3.1.1).

3.2 Untersuchte Systeme

In diesem Unterkapitel werden die in dieser Arbeit analysierten Moleküle und Partikel beschrieben. Im ersten und umfangreicheren Projekt wurden photoschaltbare Dendrimere untersucht, deren räumliche Ausdehnung sich durch die Photoschaltung verändern lassen sollte. Im Mittelpunkt des zweiten Projektes stand eine Sorte Polymerbürsten, welche aus konjugierten Blockcopolymer-Untereinheiten bestehen und deren individuelles Photobleichverhalten untersucht wurde.

3.2.1 Schaltbares Polyphenyl-Dendrimer mit PDI-Kern

Bei dem untersuchten Molekül handelt es sich um ein Polyphenyl-Dendrimer mit einem Perylendiimid-Kern (PDI) und photoschaltbaren Azobenzolgruppen im Polyphenyl-Gerüst (siehe Abbildung 3.7), welches von der Arbeitsgruppe von Prof. Müllen¹ bereit gestellt wurde. Die Synthese ist an anderer Stelle beschrieben [79]. In dem Molekül sind vier dendritische Polyphenyl-Reste an die *bay*-Positionen des PDI-Kerns gebunden. Innerhalb dieser vier dendritischen Substituenten befinden sich zwischen der ersten und zweiten Dendrimer-Generation jeweils zwei Azobenzolgruppen (also insgesamt acht Azobenzolgruppen im gesamten Molekül). In der ersten Polyphenyl-Generation sind außerdem einige der Phenylgruppen durch Pyridylgruppen ersetzt.

PDI-Derivate zeichnen sich durch eine hinreichende Photostabilität und Fluoreszenzquantenausbeute aus [225–229]. Damit erfüllen die Dendrimere mit PDI-Kern wichtige Voraussetzungen für Einzelmolekülexperimente (siehe Kapitel 2.2.2).

Die Azobenzolgruppen unterliegen einer effizienten *trans-cis*-Photoisomerisierung [230, 231], welche eine erhebliche geometrische Neuausrichtung der Substituenten an der Azobenzolgruppe auslöst [232, 233]. Dies, gepaart mit der ebenfalls hohen Photostabilität des Azobenzols, begründet die häufige Verwendung dieser funktionellen Gruppe für molekulare Maschinen und Schalter [234–236]. Die Neuausrichtung der Substituenten am Azobenzol bei einer Photoisomerisation betrifft jedoch aufgrund der Biegsamkeit vieler Dendrimere oder Polymere häufig nur die direkte Umgebung der funktionellen Gruppe. Die Polyphenyl-Substituenten des hier verwendeten Dendrimers bilden jedoch einen starres Gerüst, wodurch eine deutliche Form- und Volumenänderung des Moleküls bei einer Photoisomerisation erwartet werden kann [237, 238].

Der sterische Anspruch der Substituenten in *bay*-Position führt zu einer signifikanten Verdrillung des sonst ebenen PDIs [239, 240]. Aufgrund von Strukturmodellen wird angenommen, dass die Substituenten in der thermodynamisch stabilen *all-trans*-Konformation des Dendrimers vom Zentrum des Moleküls weg zeigen, während sich die Enden dendritischer Arme in *cis*-Konfiguration zurück in Richtung der anderen Substituenten krümmen (siehe Abbildung 3.8). Auf diese Weise können Hohlräume im inneren Teil des Polyphenylgerüsts

¹Max-Planck-Institut für Polymerchemie, Mainz

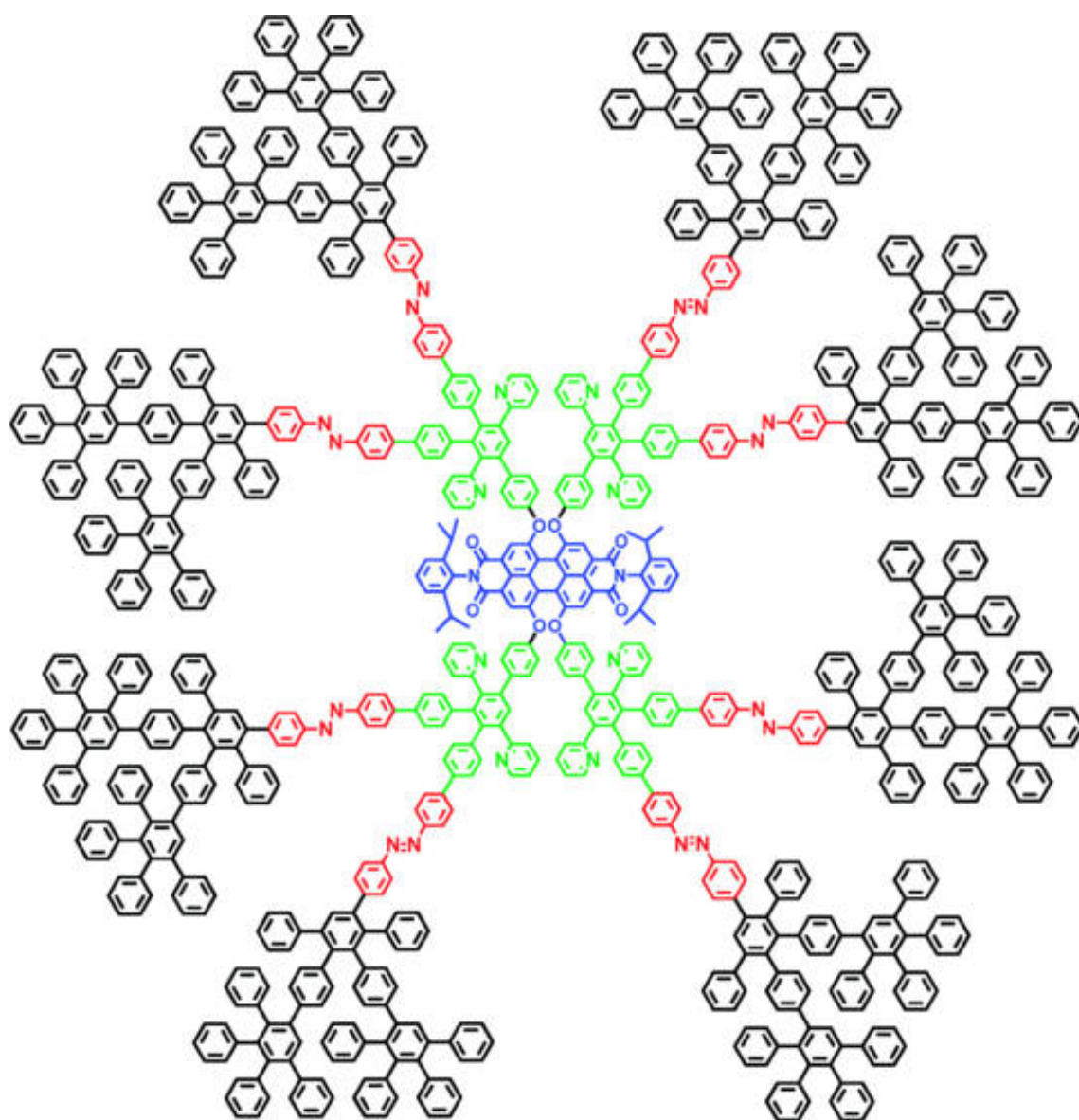


Abbildung 3.7: Strukturformel des untersuchten Dendrimers mit Einfärbung der verschiedenen funktionellen Gruppen. Blau: PDI-Kern; Schwarz: Polyphenylgerüst; Grün: Polyphenylgerüst mit Pyridleinheiten; Rot: Azobenzolgruppen (Abbildung wurde mit Erlaubnis übernommen aus [79]. Copyright 2011 American Chemical Society).

durch eine *cis-trans*-Isomerisierung verschlossen werden. Dies ermöglicht den Einschluss von Gastmolekülen, welche durch den Azobenzolschalter wieder entlassen werden können. Zu diesem Zweck sind Pyridylgruppen im inneren Teil des Polyphenylgerüsts des Dendrimers substituiert, da auf diese Weise Koordinationsstellen für Gastmoleküle im inneren Bereich des Dendrimers zur Verfügung stehen. Dies sollte die mittlere Verweildauer von Gastmolekülen im Inneren des Dendrimers verlängern und damit die Chance vergrößern, die Gastmoleküle bei einer Photoisomerisierung einzuschließen [79].

Das Ensembleabsorptionsspektrum des Dendrimers (siehe Abbildung 3.9) zeigt charakteristische Banden bei 370nm (Absorption des π - π^* -Übergang der *trans*-Azobenzolgruppen)

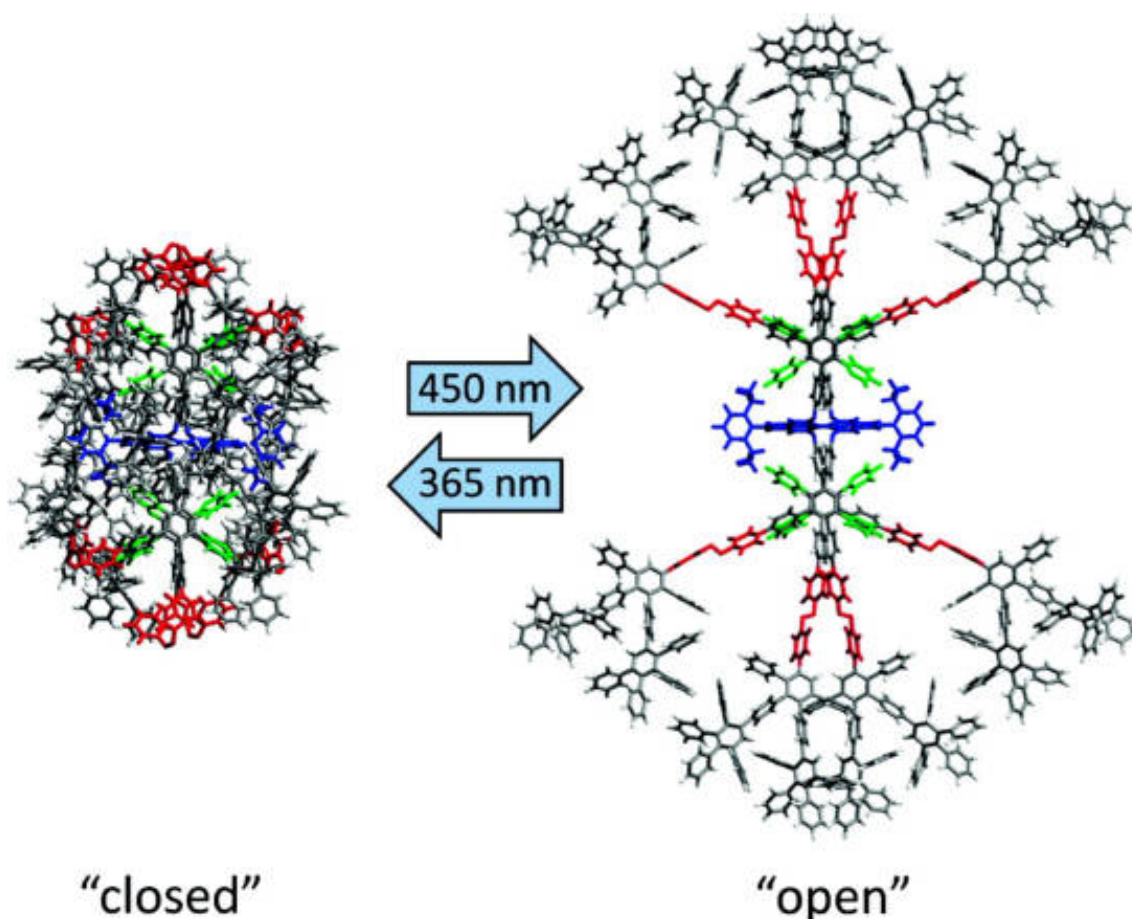


Abbildung 3.8: Schematische Darstellung einer ungefähren räumlichen Anordnung der Dendrimer-Struktur vor und nach der Photoisomerisierung aller Azobenzolgruppen. Es ist hierbei zu beachten, dass in der Regel nach vollständiger Photoisomerisierung mit UV-Licht die *5cis-3trans*-Konformation vorliegt und nicht wie in dieser Abbildung zur Veranschaulichung die *all-cis*-Konformation (Abbildung wurde mit Erlaubnis übernommen aus [79]. Copyright 2011 American Chemical Society).

und bei 450nm (Absorption des $n-\pi^*$ -Übergang der *cis*-Azobenzolgruppen), sowie bei 535nm und 580nm (Absorption des PDI-Kerns). In Abbildung 3.9 nur im Ansatz zu sehen ist die Absorption des Polyphenylgerüsts, welche ein Maximum bei 254nm hat [79].

Die Anregung der Übergänge, welche zu den oben genannten Absorptionsbanden bei 370 bzw. 450nm korrespondieren, kann zur Photoisomerisierung der Azobenzolgruppen führen: Bestrahlung des Dendrimers mit Licht von ca. 370nm zur *trans*-zu-*cis*-Isomerisierung und Bestrahlung mit Licht von ca. 450nm zur Rückreaktion. Die Intensität der Absorptionsbanden der Azobenzolgruppen ist dabei abhängig von der Konzentration an *trans*- bzw. *cis*-Isomeren der Gruppen im gemessenen Dendrimerensemble. Im Vergleich zur thermodynamisch stabilen *all-trans*-Konfiguration nimmt die Absorption bei 370nm mit steigendem *cis*-Isomerenanteil ab, während die Absorption bei 450nm leicht ansteigt. Bei kontinuierlicher Bestrahlung einer Probe des Dendrimers mit UV-Licht von ca. 370nm stellt sich ein photostationäres Gleichgewicht ein. Durch einen Vergleich der spektralen Eigenschaften der Dendrimer-Lösung mit der Absorption einer reinen Azobenzol-Lösung (in *trans*- sowie in *cis*-Konformation) mit achtfacher molarer Konzentration konnte festgestellt

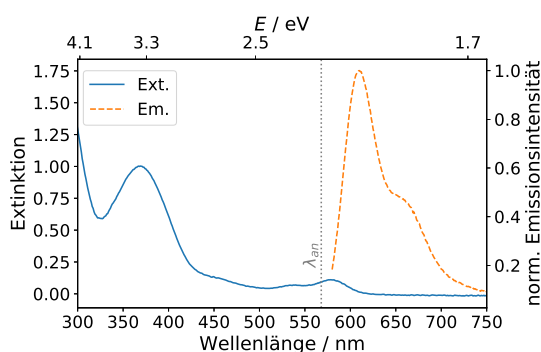


Abbildung 3.9: Extinktions- und Emissionsspektren des Dendrimers in der thermisch stabilen *all-trans*-Konformation ($\lambda_{an} = 568\text{nm}$, Lösemittel Dichlormethan). Extinktions- und Emissionsspektren der *5cis-3trans*-Konformation des Dendrimers kann in [79] gefunden werden.

werden, dass im photostationären Gleichgewicht im Mittel 5 der 8 Azobenzolgruppen eines Dendrimermoleküls in der *cis*-Konformation vorliegen. Die Quanteneffizienz für die *trans*-zu-*cis*-Photoisomerisierung wurde zu $\Phi_{t-c} = 0,114$ bestimmt [79].

Die Rückreaktion zum thermodynamisch stabilen *all-trans*-Isomer kann durch Bestrahlung mit Licht von ca. 450nm oder thermisch erreicht werden. Durch die zeitliche Veränderung der Absorptionsbanden wurde die Geschwindigkeitskonstante für die photoinduzierte Rückreaktion $k_{ct,photo}$ als $1,8\text{min}^{-1}$ bestimmt². Im Kontrast dazu beträgt die auf die gleiche Weise erhaltene Geschwindigkeitskonstante der thermischen Rückreaktion $k_{ct,thermisch} = 8,15 \cdot 10^{-4}\text{min}^{-1}$ (Halbwertszeit $t_{1/2} = 14,2\text{h}$). Die thermische Rückreaktion ist damit unter diesen Messbedingungen um einen Faktor von mehr als 2200 mal langsamer als die photoinduzierte Rückreaktion. Die Quanteneffizienz für die Rückreaktion betrug $\Phi_{c-t} = 0,794$ [79]. Das Emissionsspektrum des PDI-Kerns bei einer Anregungswellenlänge von $\lambda_{an} = 550\text{nm}$ zeigte in der *5cis-3trans*-Konformation eine signifikant niedrigere Intensität (34%) bei ansonsten gleichen Versuchsparametern, obwohl die Absorption bei dieser Wellenlänge keine Unterschiede zeigte [79]. Die Fluoreszenzquanteneffizienz war für dieses Isomer also geringer.

Wie bereits beschrieben, wird durch die signifikante Neuausrichtung der starren Polyphenylreste an den Azobenzolgruppen eine substantielle Änderung des Volumens des Moleküls erwartet (siehe oben). Fluoreszenzkorrelationspektroskopie-Messungen (FCS) an den Konformationen des Dendrimers ergaben hydrodynamische Radien von 3,6nm für die *all-trans*-Konfiguration und 2,5nm für die *5cis-3trans*-Konfiguration [79]. Bezogen auf Kugeln mit diesen hydrodynamischen Radien entspricht das einer Volumenabnahme von 66,5% (siehe Abbildung 3.8).

Neben der Größe des hydrodynamischen Volumens und dem Einschluss von kleineren Gastmolekülen im Dendrimergestüt, kann durch die Photoschaltung der Azobenzolgruppen auch die Effizienz des Energietransfers von den Azobenzolgruppen zum PDI-Kern

²Bestrahlungsstärke war von den Autoren nicht angegeben [79]

kontrolliert werden. Für das *5cis-3trans*-Isomer wurde eine deutliche Steigerung der Energietransfereffizienz gegenüber dem *all-trans*-Isomer gefunden [79].

3.2.2 Polymerbürste aus konjugierten Blockcopolymeren

Die untersuchten Polymerbürsten sind Aggregate aus Untereinheiten von Blockcopolymeren, welche sich in Form einer Nanofaser angeordnet haben. Sie wurden von der Gruppe von Prof. Tai Lim Choi³ zur Verfügung gestellt. Bei den Blockcopolymeren handelt es sich um Polynorbonen-*b*-poly(*para*-phenylvinyl-2,5-dimethoxy-*para*-phenylvinyl), welches im Folgenden als PNB-*b*-MeO-PPV bezeichnet wird [83]. Beim PPV-Teil des Blockcopolymeren ist das π -Elektronensystem durchkonjugiert. Konjugierte Polymere wie PPV-Derivate zeichnen sich durch einzigartige optoelektronische Eigenschaften aus, welche sie interessant für potentielle Anwendungen, beispielsweise zur Verwendung in LEDs, machen [241, 242].

Nach der Synthese hat der PPV-Teil des Blockcopolymeren einen hohen Anteil an *cis*-Stilbengruppen [83], wodurch dieser Teil des Polymers eine gewundene Form aufweist. Der PNB-Teil besitzt kein durchgängiges π -Elektronensystem, sondern frei drehbare Bindungen und ist daher auch geformt wie ein gewundener Strang. Die Windung der Polymerteile erschwert die Wechselwirkung der π -Systeme von verschiedenen PNB-*b*-MeO-PPV-Strängen miteinander, da kaum eine parallele Anordnung möglich ist. Dies resultiert in einer erhöhten Löslichkeit des Blockcopolymeren. Durch UV-Licht-induzierte *cis*-zu-*trans*-Isomerisierung wird der PPV-Teil umgewandelt zu einer fast vollständig von *trans*-Gruppen dominierten Spezies. Die Form des PPV-Teils ändert sich dadurch von einem gewundenem Strang zu einer stabartigen Struktur. Die Wechselwirkung der π -Systeme verschiedener PNB-*b*-MeO-PPV-Stränge ist nun nicht mehr gehemmt und die Löslichkeit des PPV-Teils ist stark herabgesetzt. Dadurch kommt es zu einer Ausbildung von Aggregaten aus isomerisierten Blockcopolymeren durch die π - π -Wechselwirkung der PPV-Teile miteinander. In einem kristallisationsartigen Prozess schichten sich die stabförmigen PPV-Teile dabei zu einer Polymerbürsten-Struktur auf. Das Rückgrat wird dabei von den geschichteten stabartigen PPV-Teilen gebildet und die Korona durch die noch immer gewundenen PNB-Teile. Dieser Prozess wird als LI-CDSA (engl.: *Light-Induced Crystallization-Driven Self-Assembly*) bezeichnet [83]. Der Mechanismus der Aggregation durch LI-CDSA ist in Teil C von Abbildung 3.10 schematisch dargestellt.

Der PNB-Teil der Blockcopolymer-Untereinheiten der in dieser Arbeit untersuchten Polymerbürsten besteht nominell aus 50 Monomeren und der OMe-PPV-Teil aus 20. Die Strukturformel ist in Teil A von Abbildung 3.10 dargestellt. Dies ergibt ein theoretisches Molgewicht von $17,6 \cdot 10^3$ g/mol. Das Zahlenmittel der Molmassenverteilung der erhaltenen Blockcopolymeren ist $M_n = 22,8 \cdot 10^3$ g/mol bei einer Polydispersität von $D = 1,1$. Das untersuchte PNB-*b*-MeO-PPV absorbiert im sichtbaren und nahen UV-Bereich des elektromagnetischen Spektrums und zeigt Fluoreszenzemission. Die nicht-aggregierten Blockcopolymeren zeigen

³Seoul National University

3 Experimenteller Teil

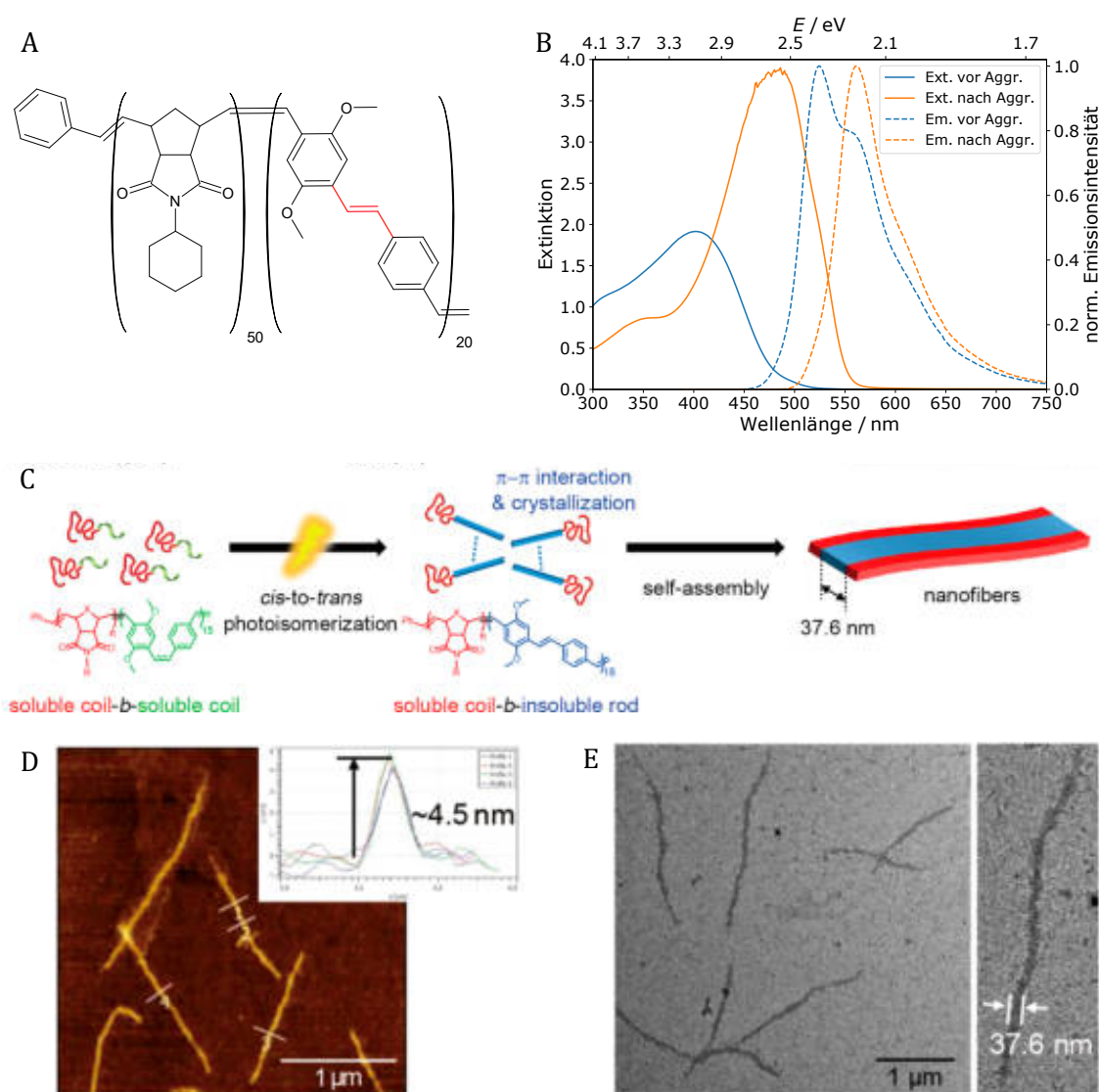


Abbildung 3.10: A: Strukturformel der Blockcopolymeruntereinheiten der untersuchten Polymerbürsten. B: Extinktionsspektren und Emissionsspektren ($\lambda_{em} = 380\text{nm}$) vor und nach der Aggregation der Blockcopolymeren. C: Schematische Darstellung des Mechanismus von LI-CDSA. Dargestellt ist ein zu den in A gezeigten Blockcopolymeren verwandtes Molekül. D: Rasterkraftmikroskopie-Aufnahme nach Aggregation der Blockcopolymeren zu Polymerbürsten. E: TEM-Aufnahme nach Aggregation der Blockcopolymeren zu Polymerbürsten. (Teil C, D und E der Abbildung wurde mit Erlaubnis übernommen aus [83]. Copyright 2018 American Chemical Society).

in Ensemble-Spektroskopieexperimenten ein Absorptionsmaximum bei ca. 400nm und eine maximale Emissionsintensität bei 524nm. Durch die Isomerisierung und Aggregation kommt es zu einer Veränderung der photophysikalischen Eigenschaften. Das Absorptionsmaximum liegt nun bei ca. 480nm und das Maximum der Emission verschiebt sich auf 560nm (siehe Extinktions- und Emissionsspektren in Teil B von Abbildung 3.10).

Rasterkraftmikroskopie-Aufnahmen einer mit den in dieser Arbeit untersuchten Polymerbürsten verwandten Spezies von PNB-*b*-MeO-PPV-Aggregaten⁴ zeigten diese als Faser-artige

⁴Es handelte sich um PNB-*b*-MeO-PPV-Blockcopolymeren mit einem anderen Norbonen-Derivat und 15 statt 20 OMe-PPV-Einheiten [83].

Strukturen mit konsistenten Höhen von ca. 4,5nm [83]. Mittels Transmissionselektronenmikroskopie konnte die Breite des Rückgrates dieser Polymerbürsten zu 37,6nm bestimmt werden [83] (siehe 3.10 Teil D [Rasterelektronenmikroskopie] und Teil E [TEM-Aufnahme]).

3.3 Probenpräparation

Im Folgenden wird die Durchführung der Probenpräparation für die Experimente dieser Arbeit beschrieben. Zunächst wird auf die Präparation von Muskovit als Substrat für kombinierte Rasterkraft- und Konfokalmikroskopie eingegangen. Anschließend werden die durchgeführten Schritte bei der Herstellung der verdünnten Lösung der untersuchten Systeme (siehe Kapitel 3.2) und der darauffolgenden Aufbringung auf das Substrat beschrieben.

3.3.1 Präparation von Muskovit als Substrat

Die Detektion einzelner nanoskopischer Teilchen auf einer Probenoberfläche gelingt nur dann, wenn der erwartete Höhenkontrast der Teilchen sich signifikant von Erhebungen und Vertiefungen des Substrats auf dem sie aufgebracht sind, unterscheidet. Um die Detektion sehr kleiner Teilchen zu ermöglichen, zum Beispiel das PDI-Polyphenyl-Dendrimer, ist daher ein nahezu atomar-flaches Substrat notwendig.

Ein zu diesem Zweck in der Rasterkraftmikroskopie häufig eingesetztes Material ist Muskovit [85, 243–245]. Es handelt sich dabei um ein natürlich vorkommendes Alumosilikat mit der Summenformel $KAl_2[Si_3AlO_{10}](OH)_2$. Muskovit zählt zu den Schichtsilikaten. Zwei Schichten von tetraedrisch koordiniertem Silizium (von denen ein Viertel durch Aluminium ersetzt sind) werden verbunden durch eine Schicht oktaedrisch koordiniertem Aluminiums. Diese Schichten aus zwei Lagen Tetraedern und einer Lage Oktaedern sind über Kalium-Ionen miteinander verbunden. Zwischen diesen Schichten existiert nur eine relativ geringe Bindungsstärke, wodurch eine hohe Spaltbarkeit parallel zu diesen gegeben ist [246].

Durch die Spaltung eines Muskovit-Kristalls parallel zu den Alumosilikatschichten wird ein sehr flaches Substrat erhalten, welches zur Abbildung sehr kleiner Teilchen mit dem Rasterkraftmikroskop benutzt werden kann. Entgegen häufiger Annahmen ist in Atmosphärenluft gespaltenes Muskovit jedoch nicht atomar flach [243, 244]. Stattdessen reagiert es aufgrund hoher Oberflächenladungen direkt nach der Spaltung mit atmosphärischem CO_2 und H_2O , wodurch sich Kaliumcarbonat auf der Oberfläche bildet. Es entsteht etwa eine Formeleinheit K_2CO_3 pro nm^2 , welches bei höherer Luftfeuchtigkeit eine gewisse Mobilität auf der Oberfläche besitzt und unter trockeneren Bedingungen vollständig auskristallisiert. Durch die hydrophilen Eigenschaften von Alumosilikaten kommt es außerdem in Abhängigkeit von der Luftfeuchtigkeit zu einer Adsorption von Wassermolekülen aus der Atmosphärenluft. Die Oberflächenladungen nach der Spaltung können außerdem die Absetzung von Schwebepartikeln aus der Luft begünstigen.

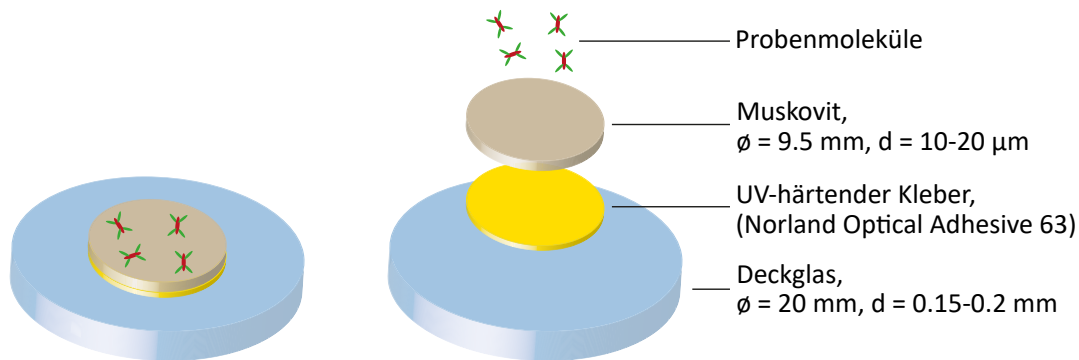


Abbildung 3.11: Schematische Darstellung einer Probe mit Muskovit als Substrat für kombinierte Messungen mit Rasterkraft- und Fluoreszenzmikroskopie (angepasst übernommen aus [189]). Auf einem Standarddeckglas für Fluoreszenzmikroskopie ist eine dünne Scheibe Muskovit mit Hilfe eines UV-härtenden Klebers befestigt. Auf dieser sind die Probenmoleküle durch Rotationsbeschichtung aus einer stark verdünnten Lösung aufgebracht.

Die in dieser Arbeit verwendeten Muskovitplättchen (Electron Microscopy Sciences, optischer Qualitätsgrad V1) mit einem Durchmesser von 9,5mm und einer Dicke zwischen 150 und 210µm wurden zunächst einfach gespalten durch den Einsatz einer Rasierklinge. Eine der entstandenen Plättchenhälften wurde dann mit Hilfe eines unter UV-Licht-Bestrahlung härtenden Klebstoffs (Norland Optical Adhesive 63) auf einen Glasträger für optische Mikroskopie geklebt (Borosilikatglas von Hecht, Durchmesser: 20mm, Dicke: 0,15 – 0,2mm). Die Glasträger wurden zuvor zur Reinigung zuerst in einer alkalischen Küvettenreinigungslösung (Hellmanex[®]) und dann zweimal in entionisiertem Wasser jeweils 45min in einem Ultraschallbad behandelt und anschließend in einem Argon-Luftstrom getrocknet. Die Härtung des Klebers geschah durch eine Bestrahlung mit einer UV-Diode ($\lambda_{em} = 380 - 385\text{nm}$) von mindestens 30min Dauer. Muskovit ist ein doppelbrechendes Material, zeigt eine Absorption im sichtbaren Bereich des elektromagnetischen Spektrums und ist daher leicht bräunlich gefärbt. Nicht zuletzt daraus ergibt sich für die Anwendung als Substrat für optische Mikroskopie die Notwendigkeit, möglichst dünne Schichten einzusetzen, um die Absorption und die verzerrenden Einflüsse auf den Strahlenverlauf gering zu halten. Durch das sukzessive Abziehen weiterer Muskovitschichten mit einem Klebefilm (Scotch[®] Tape) wurde daher die Schichtdicke des Muskovitplättchens auf 10 – 20µm verringert. Das Abschätzen der Schichtdicke gelang durch die Reflexion von Teilen des Anregungslichts an den Phasengrenzen zwischen Luft und Muskovit, sowie zwischen Muskovit und Glas bzw. Klebstoff. Durch das Verfahren des Objektivs in z-Richtung konnten die Positionen ermittelt werden, bei denen sich der Fokus des Anregungslichts an den jeweiligen Phasengrenzen befand und ihr Abstand errechnet werden. Eine schematische Darstellung einer auf diese Weise erhaltenen Probe findet sich in Abbildung 3.11.

Insbesondere bei geringer Luftfeuchtigkeit war es in vielen Fällen notwendig, verbliebene Oberflächenladungen auf dem gespaltenen Muskovit zu entfernen, um Messungen mit dem Rasterkraftmikroskop zu ermöglichen. Dies wurde durch das Platzieren des frisch

gespaltenen Substrats in einem mit Ionen angereicherten Luftstrom erreicht, erzeugt von einem Entladungsgebläse (Keyence, SJ-F100W).

3.3.2 Probenherstellung

Das im Rahmen dieser Arbeit untersuchte PDI-Polyphenyl-Dendrimere lag als Stammlösung in Dichlormethan in einer nur näherungsweise bekannten Konzentration von ca. 10^{-7} mol/l vor. Zur Aufbringung der Moleküle auf die Substrate (wenn nicht anders angegeben Muskovit, siehe Kapitel 3.3) wurden diese zunächst in einem oder mehreren Verdünnungsvorgängen auf eine Konzentration von 10^{-9} – 10^{-10} mol/l gebracht. Von der so erhaltenen verdünnten Lösung wurden wenige μ l mit einer Pipette entnommen und zentral auf den Glasträger mit dem Substrat aufgebracht, welches sich in einem Apparat für Rotationsbeschichtung befand. Direkt im Anschluss an das Aufbringen des Tropfens der Lösung wurde der Rotationsbeschichter aktiviert. Die zentrifugalen Kräfte durch die Rotation sorgen für eine Verteilung des mittig aufgetragenen Tropfens der Lösung über die gesamte Fläche des Substrats. Überschüssige Lösung wird durch die Schleuderbewegung vom Glasträger getrennt. Das verbliebene, die Oberfläche benetzende Lösemittel geht durch die große relative Oberfläche rasch in die Gasphase über. Die Parameter für die Rotationsbeschichtung wurden so gewählt, dass die Fluorophore auf der Probenoberfläche in den allermeisten Fällen größere Abstände zueinander haben als das Auflösungsvermögen des konfokalen Fluoreszenzmikroskops. Im Falle der PDI-Polyphenyl-Dendrimere wurden, sofern nicht anders angegeben, stets eine Umdrehungsrate von 2000U/min und eine Rotationsdauer von 60s eingestellt.

Die untersuchten konjugierten Polymerbürsten lagen in mehreren Verdünnungsgraden vor, von denen die geringer konzentrierten direkt ohne weiteren Verdünnungsschritt für die Herstellung von Proben verwendet werden konnten. Es wurde ebenfalls ein Tropfen von wenigen μ l auf ein Muskovitsubstrat aufgebracht. Die Parameter der Rotationsbeschichtung waren hier 3000U/min und 30s.

Alle Glasgefäße und Glaspipetten, welche zum Verdünnen der Stammlösungen eingesetzt wurden, waren vorher einer Reihe von Reinigungsschritten unterzogen worden mit dem Ziel, mögliche Kontaminationen zu beseitigen, welche von der Herstellung oder der Lagerung stammen könnten. In einem ersten Schritt wurden diese in einem Ofen bei 515°C für 4h ausgeglüht und über Nacht abkühlen gelassen. Danach erfolgte eine Behandlung in einer Plasmareinigungszelle (Diener electronic, Zepto) für 10 – 15min bei einem Druck von ca. 0,5mbar. Da die Glasgefäße nach der Reinigung im Plasma eine hohe Reaktivität der Oberfläche zeigten, wurden diese anschließend für einige Stunden bis maximal 7 Tage in einem luftdicht verschlossenen Gefäß bis zur weiteren Verwendung aufbewahrt. Bevor diese Gefäße und Pipetten für die Herstellung einer verdünnten Lösung eines der untersuchten Systeme verwendet werden konnten, wurden diese zweimal mit dem für die Verdünnung verwendeten Lösemittel ausgespült. Für die Experimente mit dem PDI-

Polyphenyl-Dendrimer fand Toluol mit für spektroskopische Anwendungen ausgelegter Reinheit (Uvasol[®] Toluene for spectroscopy) Verwendung.

3.4 Experimentelle Vorgehensweisen

Im Folgenden werden wichtige Messroutinen für die durchgeführten Experimente geschildert. Es wird verallgemeinert die Durchführung von Zeitspuren der Emissionsintensität beschrieben, sowie die Aufnahme von Topografiebilderserien zur Bestimmung der Größenparameter der PDI-Dendrimere. Ergänzungen und etwaiges Abweichen von dem hier beschriebenen Vorgehen sind bei der Beschreibung der jeweiligen Experimente zu finden.

3.4.1 Aufnahme von Zeitspuren der Emission

In mehreren Experimenten dieser Arbeit wurde der zeitliche Verlauf der Emissionsintensität einzelner Fluorophore untersucht. Die experimentelle Vorgehensweise bei der Aufnahme von solchen Intensitätszeitspuren wird im Folgenden kurz erläutert.

Zunächst wurde in einem ersten Schritt mit dem Konfokalmikroskop ein Fluoreszenzbild aufgezeichnet. Für die Bildgröße wurden Kantenlängen im Bereich von 5 – 20 μm gewählt. Aufgrund der typischen Belegungsdichten der Oberfläche mit Fluorophoren, welche durch die Probenpräparation (siehe Kapitel 3.3.2) kontrolliert wurden, waren damit in der Regel in dem abgebildeten Probenausschnitt mehrere Emittoren zu finden, deren Position durch Fluoreszenzflecken im Konfokalbild angezeigt wurde.

Nach der Aufnahme des Fluoreszenzbildes wurde das Anregungslicht mit dem konfokalen Mikroskop auf die Position einzelner Fluoreszenzflecken fokussiert. Der Fluorophor im Fokus wurde nun bei der gewählten Anregungswellenlänge λ_{an} mit konstanter Anregungsleistung P_{an} kontinuierlich für eine beliebige Zeit angeregt und dessen Emission mittels der beiden Lawinenphotodioden gemessen und von einer Messsoftware mit einer vorher eingestellten Zeitauflösung Δt_I aufgezeichnet. Wie in Kapitel 3.1.2.2 beschrieben, war die Detektion der Emission durch die beiden Kanäle polarisationsaufgelöst. Die Gesamtintensität konnte durch Addition der Zeitspuren beider Kanäle erhalten werden. Die Aufzeichnung konnte jederzeit beendet werden, zum Beispiel nach einer gewählten Aufzeichnungslänge oder nachdem Photobleichen des Fluorophors aufgetreten war.

Wie in Kapitel 3.1.2.2 beschrieben wird die Hälfte der vom Objektiv des Konfokalmikroskops aufgesammelten Photonen zu einem Spektrographen geleitet. Dadurch ergibt sich die Möglichkeit, zeitgleich zur Aufnahme der Intensitätszeitspuren, Emissionsspektren aufzuzeichnen. Beginn und Ende der Aufnahme von Emissionsspektren werden dabei von einer separaten Software gesteuert und sind daher unabhängig von der Aufnahme der Intensitätszeitspur. Neben einzelnen Emissionsspektren, können auch Serien von Emissionsspektren mit einer jeweiligen Integrationszeit von Δt_S aufgenommen werden.

3.4.2 Bestimmung der Größenparameter einzelner Moleküle an der Auflösungsgrenze des Rasterkraftmikroskops

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Größenveränderung einzelner Moleküle des in Kapitel 3.2.1 vorgestellten photoschaltbaren Dendrimers auf einer Muskovitoberfläche mit dem Rasterkraftmikroskop untersucht. Die experimentelle Vorgehensweise wird im Folgenden beschrieben.

Zur Detektion der Größenänderungen wurde die Größe einzelner Moleküle im Topografiebild vor und nach der Auslösung der Photoisomerisierung vermessen und verglichen. Da stets auch eine gewisse Anzahl an Fremdpartikeln auf der Muskovitoberfläche zu finden war, mussten zunächst die Moleküle unter den Erhebungen in der Topografie identifiziert werden. Dies geschah durch die Zuordnung zu Fluoreszenzflecken im Konfokalbild durch die gegenseitige Ausrichtung von Konfokalmikroskop und Rasterkraftmikroskop (siehe dazu Kapitel 3.1.3.3).

Zentriert über der Position einer Erhebung, welche als Molekül identifiziert wurde, wurden nun vier hochaufgelöste Rasterkraftmikroskopiebilder mit kleinem Bildausschnitt aufgenommen ($150 \times 150\text{nm}$, 128×128 Bildpunkte, Abtastrate $0,5\text{Hz}$). Da sich die hier bestimmten Größenparameter der PDI-Polyphenyl-Dendrimere nahe der Auflösungsgrenze des Rasterkraftmikroskops befanden, unterlagen die Messgrößen signifikanten statistischen Schwankungen. Die vierfache Durchführung der hochaufgelösten Topografiebilder am Ort des Moleküls dienten daher der besseren statistischen Absicherung der Werte. Hierbei wurden sowohl der Hinlauf als auch der Rücklauf jeder Messzeile zur Datenerhebung verwendet (in der Standardeinstellung der Messsoftware des Rasterkraftmikroskop wird nur der Rücklauf verwendet). Aus den vier durchgeführten Rasterungen ergaben sich deshalb insgesamt acht Höhenbilder und damit acht Datenpunkte zur Bestimmung der Größenparameter des Moleküls in der initialen Konformation.

Nun wurden die Azobenzolgruppen im Molekül angeregt, um die Photoisomerisierung zu induzieren - ultraviolettes Licht bei 375nm für die *trans*-zu-*cis*-Isomerisierung und blaues Licht bei 445nm für die Rückreaktion. Wie in Kapitel 3.1.2.3 beschrieben, können noch Restabweichungen im Bereich von bis zu 200nm in der Position der Foki der verschiedenen Anregungswellenlängen auf der Probenoberfläche auftreten. Damit treten diese auch zwischen der Position der Cantileverspitze, welche ja zum Fokus grünen Lichts bei 532nm zur Anregung des PDI-Kerns ausgerichtet wurde, und dem Anregungsfokus des Lichts zur Photoisomerisierung auf. Die Bestrahlung zur Photoisomerisierung wurde deshalb als Rasterung ($750 \times 750\text{nm}$, 128×128 Bildpunkte, Abtastrate 1Hz , ohne Kontakt der Cantileverspitze zur Probe) - zentriert über der Höhenbildposition des Moleküls bei gleichzeitiger Bestrahlung mit dem Licht zur Photoisomerisierung - durchgeführt. Auf diese Weise konnte die Wechselwirkung des Anregungslichts mit dem Molekül sichergestellt werden, da die Probe an der Position des Moleküls über Distanzen gerastert wird, welche größer sind als

die zu erwartenden Restabweichungen zwischen den Positionen der Foki der benutzten Anregungswellenlängen.

Als Nächstes wurden erneut vier Topografiebilder mit aufgezeichnetem Hin- und Rücklauf der Messzeilen über der Position des Moleküls aufgenommen, um die Größenparameter nach der Bestrahlung zu erhalten. Die Messparameter für diese Rasterungen waren die gleichen wie vor dem Bestrahlungsvorgang.

Anschließend konnten weitere Bestrahlungen - gefolgt von vier konsekutiven Topografiebildern - durchgeführt werden, zum Beispiel um die Hin- und Rückreaktion zu beobachten.

4 | Charakterisierung des AFM-Störsignals bei Kontakt zwischen Probe und Objektiv über einen Ölfilm

In Voruntersuchungen zum schaltbaren PDI-Polyphenyl-Dendrimer (zu den Eigenschaften des Moleküls siehe Kapitel 3.2.1) zeigte sich, dass bei Verwendung eines Ölimmersionsobjektivs die Detektion einzelner Dendrimere mit dem Rasterkraftmikroskop nicht zuverlässig gelang. Es wurde vermutet, dass die erhaltenen Höhengsignale der einzelnen Moleküle sich nicht signifikant vom Rauschen des Cantilevers während der Messung abheben. Neben dem nicht unterdrückbaren thermischen Rauschen des Cantilevers ist im Fall des benutzten Rasterkraftmikroskops das detektierte Rauschen im Wesentlichen auf das Vorhandensein von Oszillationen der Probe zurückzuführen. Diese werden von Bewegungen des Ölimmersionsobjektivs über den Ölfilm auf die Probe übertragen und dann vom Rasterkraftmikroskop in Form eines Störsignals detektiert.

Aus früheren Experimenten war bekannt, dass sich das Störsignal insbesondere dann manifestiert, wenn die Regelkreise des x - y - z -Piezoelements, welches das Objektiv trägt und steuert, angeschaltet sind. Als Ursache wurde ein hochfrequentes elektronisches Signal unbekanntes Ursprungs genannt, welches die Stromversorgung des Regelkreises überlagert [189]. Für kombinierte Messungen von Rasterkraftmikroskop und konfokalem Fluoreszenzmikroskop ist der Betrieb des Regelkreises jedoch stets notwendig, um die optische Achse des Fluoreszenzmikroskops auf den Spitzenapex zu legen und anschließend die Position von diesem konstant zu halten (siehe Kapitel 3.1.3.3). Deshalb wird für den Betrieb mit Ölimmersionsobjektiven ein elektronischer Tiefpassfilter dem Regelkreis vorgeschaltet (siehe Kapitel 3.1.3.1). Dieser mildert die gemessenen Oszillationen signifikant ab, beseitigt sie jedoch nicht.

In diesem Kapitel wird eine Reihe von Experimenten beschrieben, in denen das Störsignal und dessen Ursachen genauer analysiert wurden. Ziel der Experimente war es, eine Möglichkeit zu finden, das Störsignal weiter abzuschwächen und damit gegebenenfalls das Durchführen der Experimente mit PDI-Polyphenyl-Dendrimer-Molekülen bei Benutzung von Ölimmersionsobjektiven zu ermöglichen.

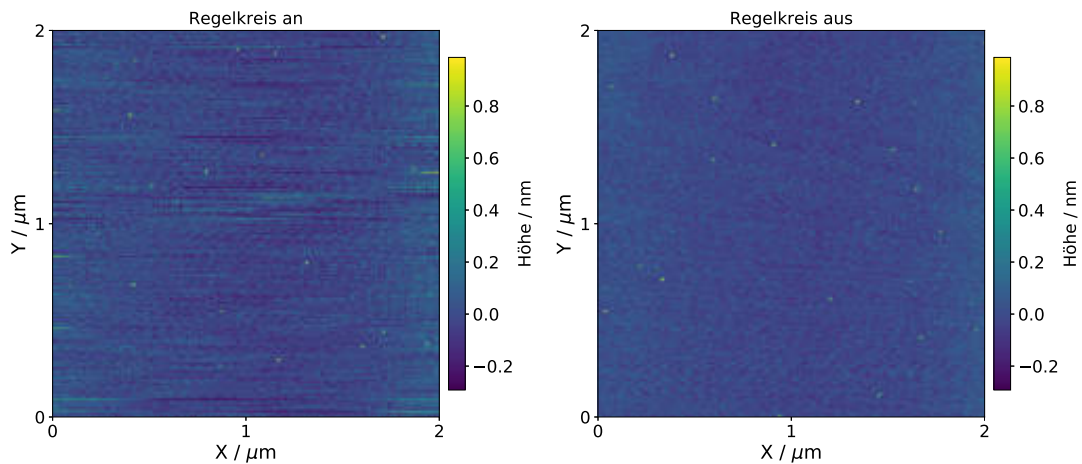


Abbildung 4.1: Höhenbilder einer Muskovitoberfläche bei eingeschaltetem (links) und bei ausgeschaltetem (rechts) Regelkreis des Objektiv-Piezoelements. Bei eingeschalteter Regelelektronik zeigt sich das Störsignal als Oszillation des Höhensignals mit einer Frequenz im Bereich der Abtastrate (wenige Pixel pro Oszillationszyklus) und Amplituden bis zu einigen Hundert Pikometern. Bei ausgeschalteter Elektronik sind die detektierten Störsignale im Vergleich dazu deutlich geringer, es sind jedoch auch Oszillationen des Untergrunds erkennbar.

4.1 Feststellung der Frequenz des Störsignals

Zur Analyse der Probenoszillationen wurde in einem ersten Schritt die an dem Störsignal hauptsächlich beteiligten Frequenzbänder identifiziert. Zu diesem Zweck wurden AFM-Höhenbilder mit eingeschaltetem und mit ausgeschaltetem Regelkreis des Objektiv-Piezoelements aufgenommen und verglichen (siehe Abbildung 4.1). Die gewählten Messparameter ($2 \times 2 \mu\text{m}$, 512×512 Bildpunkte, Abtastrate: 0,5 Hz, Cantilever Olympus AC240TS) entsprachen dabei typischen Anforderungen für den Schritt der Zuordnung von Fluoreszenzsignalen im Konfokalbild zu Erhebungen von der Oberfläche im Höhenbild (siehe Kapitel 3.1.3.3). Die Unterseite des Glaträgerplättchens war hierbei außerdem über einen Ölfilm mit dem Objektiv verbunden. Die Aufnahmen wurden im repulsiven Bereich des intermittierenden Kontaktmodus gemessen. Als Probe diente ein frisch gespaltenes Muskovit-Plättchen, welches auf einem Glaträgerplättchen befestigt war (siehe Kapitel 3.3.1).

Im Höhenbild mit eingeschaltetem Regelkreis zeigt sich das aus früheren Experimenten bekannte Störsignal als Oszillationen des Höhenbildes mit fluktuierenden Amplituden, welche bis zu einige Hundert Pikometer groß sein können. Es handelt sich bei diesen Oszillationen bereits um die vom elektronischen Tiefpassfilter abgeschwächten Störungen (siehe Kapitel 3.1.3.1). Die Frequenz des Störsignals ist dabei von solch einer Größenordnung, dass die vom Cantilever detektierte Periodendauer unter typischen Messbedingungen nur wenige Pixel pro Zyklus einnimmt (siehe auch beispielhaftes Linienprofil in Abbildung 4.2). Dies bedeutet, dass sich das Höhensignal innerhalb einer Zeile von Pixel zu Pixel um einen relevanten Anteil der Amplitude ändern kann. Unter den hier gewählten typischen Messbedingungen für die Zuordnung von Fluoreszenzsignalen im Konfokalbild

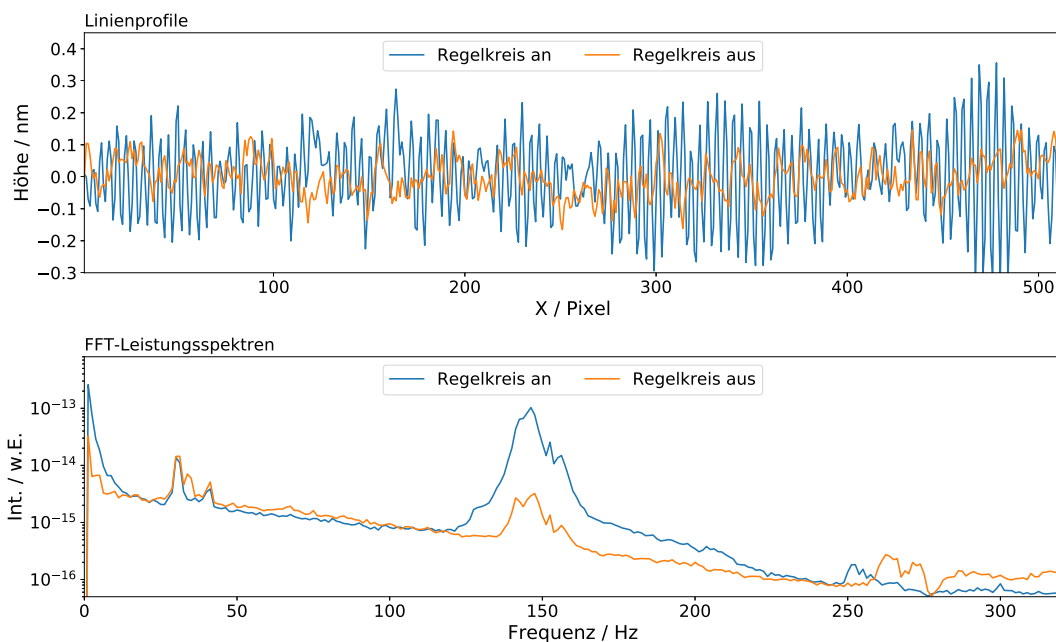


Abbildung 4.2: Oben: Vergleich beispielhafter Linienprofile aus den Höhenbildaufnahmen von Abbildung 4.1. Man erkennt bei angeschaltetem Regelkreis das Störsignal mit Periodendauern von wenigen Pixeln. Die Fluktuationen des Höhenbildes bei ausgeschaltetem Regelkreis sind im Vergleich dazu deutlich schwächer, aber noch vorhanden. Unten: Aufsummierte Leistungsspektren der zeilenweise Fourier-transformierten Höhenbilder. Das Störsignal ist in beiden Fällen als Frequenzbande bei ca. 145 Hz erkennbar - im Falle des angeschalteten Regelkreises sie allerdings mehr als $30\times$ stärker ausgeprägt.

zu Erhebungen von der Probenoberfläche im Höhenbild ist bei den zu untersuchenden PDI-Polyphenyl-Dendrimeren eine Breite von nicht viel mehr als einem oder zwei Pixel pro Molekül für die Erhebung im Höhenbild zu erwarten (Pixelgröße $\approx 3,9 \times 3,9 \text{ nm}$). Die erhaltenen typischen Höhensignale einzelner Moleküle (siehe hierzu Kapitel 5.2) sind ebenfalls im Bereich weniger Hundert Pikometer. Damit sind die zu detektierenden Moleküle aufgrund ihrer Ausdehnung und Höhe in Anwesenheit des Störsignals nicht zuverlässig von den daraus resultierenden fluktuierenden Höhenoszillationen zu unterscheiden.

Bei ausgeschaltetem Regelkreis zeigen sich signifikant weniger Fluktuationen des Höhenbildes, wenn auch noch immer einige weniger ausgeprägte Oszillationen erkennbar sind (siehe dazu auch Linienprofile in Abbildung 4.2). Die Frequenz der gemessenen Höhenbildoszillationen kann erhalten werden, in dem man Messzeilenweise eine Fouriertransformation durchführt. Dazu werden die Messzeilen zunächst in Zeitspuren umgewandelt¹. Die dazu benötigte Abtastrate des Rasterkraftmikroskops kann aus der eingestellten Abtastrate und der Pixelanzahl pro Zeile erhalten werden. Es ist hierbei zu beachten, dass von der Messsoftware des Rasterkraftmikroskops für jede Zeile ein Hinlauf und Rücklauf durchgeführt wird (in der Standardeinstellung werden die Bilder über den Rücklauf erhalten), also die doppelte Anzahl von Pixeln pro Zeile abgetastet wird. Außerdem findet beim Zeilenumbruch eine Übersteuerung statt, welche die Gesamtpixelzahl pro Zeile noch einmal

¹Eine Messzeile entspricht einer horizontalen Linie in den Aufnahmen in Abbildung 4.1

um den Faktor 1,25 erhöht. Für die Höhenbilder aus Abbildung 4.1 ergibt sich daher ein Zeitintervall von 1,5625ms pro Pixel. Die so für jede Messzeile erhaltenen Höhenzeitspuren wurden dann mit Hilfe der in der Software *Wavemetrics IGOR Pro* enthaltenen Prozedur für Fouriertransformationen in Leistungsspektren verwandelt und für die Höhenbilder jeweils messzeilenweise aufaddiert. Die erhaltenen Gesamtleistungsspektren sind in Abbildung 4.2 unten zu finden. Die Frequenzbande der gemessenen Höhenoszillationen aufgrund des Störsignals kann hier bei einem Maximum von ca. 145Hz identifiziert werden. Die Frequenzbande ist im Falle der eingeschalteten Regelkreiselektronik um einen Faktor 32 stärker ausgeprägt, jedoch ist sie auch bei ausgeschaltetem Regelkreis des Objektiv-Piezoelements zu finden. Da es sich um Leistungsspektren handelt, bedeutet das, dass die gemessenen Höhenbildoszillationen im Falle des angeschalteten Regelkreises $5,7\times$ größere Amplituden haben, als bei ausgeschalteter Regelkreiselektronik.

Aufgrund der Tatsache, dass das detektierte Störsignal auch bei ausgeschaltetem Regelkreis nachweisbar ist, kann man schlussfolgern, dass entgegen früherer Annahmen (siehe Kapitel 3.1.3.1) diese Störung nicht direkt durch ein hochfrequentes Signal in der Regelkreiselektronik des Objektiv-Piezoelements verursacht wird. Vielmehr liegt die Hypothese nahe, dass es sich um eine Resonanz des mechanischen Systems aus Objektiv und Objektivhalterung handelt, welche unter anderem - allerdings nicht ausschließlich - von Bewegungen des Piezoelements durch die Regelkreiselektronik angeregt wird. Es legt weiterhin die Existenz weiterer Einflussfaktoren und Störquellen nahe, welche diese Resonanz anregen können. Es ist zu beachten, dass aus diesem Experiment noch nicht geschlossen werden kann, dass die Frequenz der detektierten Oszillationen in den Höhenbildern tatsächlich der Resonanz im Objektiv-Halterungs-System entspricht. Es könnte sich bei der detektierten Schwingung von 145Hz auch um das Resultat einer Faltungsverzerrung aufgrund der Kopplung der Objektivschwingung mit der Abtastrate des Rasterkraftmikroskops handeln.

4.2 Identifizierung von Einflussfaktoren auf das Störsignal

Die Resultate der Experimente aus Kapitel 4.1 führten zur Hypothese, dass weitere äußere Einflussfaktoren auf die Ausprägung des Störsignals vorhanden sind. Um diese zu finden, wurde eine Testprozedur angewandt, welche in der Steuerungssoftware des Rasterkraftmikroskops integriert ist [247]. Diese wird durchgeführt, indem zuerst die Cantileverspitze in ständigen Kontakt (zum Kontaktmodus, siehe Kapitel 2.1.1) zu einer flachen Oberfläche (in diesem Fall Muskovit) gebracht wird und diese mit einer kleinen konstanten Kraft (1nN) auf den Untergrund drückt. Der Regelkreis des Rasterkraftmikroskops wird daraufhin abgeschaltet oder, wenn dies wie in diesem Fall nicht möglich ist, so langsam eingestellt, dass er nicht ins Gewicht fällt (Verstärkungsfaktor des Integralreglers wird auf 0,01 gesetzt). Daraufhin wird eine Zeitspur der Cantileverauslenkung aufgenommen. Da die Spitze lediglich an einer Stelle verharrt und der Regelkreis abgeschaltet ist, entspricht diese beobachtete Zeitspur der Cantileverauslenkung der Bewegung der Probe auf der z -Achse, überlagert

vom thermischen Rauschen des Systems zur Detektion der Auslenkung. Die Bewegung der Probe kann durch Störungen und Vibrationen oder auch thermische Drift verursacht sein. Die Testprozedur liefert eine Fourier-Transformation dieser Auslenkungszeitspuren in Form eines Amplitudendichtespektrum der Oszillationen des unangeregten Cantilevers. Die Frequenzbanden in diesen Spektren sind proportional zu den oszillierenden Bewegungen der Probenoberfläche. Den Beitrag des thermischen Rauschens des Cantilevers (thermische Bewegung des Balkens und elektronisches Rauschen des segmentierten Photodetektors) erhält man durch die Durchführung dieser Störungstestprozedur mit dem Cantilever ohne Kontakt zur Probe.

Als Probe für die Durchführung der Störungstestprozeduren wurde ein frisch gespaltenes Muskovit-Plättchen auf einem Glasträger verwendet (siehe Kapitel 3.3.1). Das Objektiv war mechanisch über einen Immersionsölfilm an die Unterseite des Glasträgers gekoppelt. Zur Simulation der Messbedingungen wurden alle Geräte im Raum in den Betriebszustand versetzt, welcher bei einer typischen kombinierten Messung aus Rasterkraftmikroskop und konfokalem Mikroskop aktiv wäre. Mit diesen Parametern wurde nun eine Störungstestprozedur durchgeführt und ein Amplitudendichtespektrum erhalten, um das im ersten Schritt festgestellte Frequenzband der Störung zu verifizieren. Der Einfluss der aktiven Geräte und potentiellen Störquellen im Raum auf die Ausprägung der Probenoszillationen konnte nun untersucht werden, in dem alle aktiven Geräte nacheinander ausgeschaltet wurden und jeweils eine erneute Störungstestprozedur durchgeführt wurde. Mit einem Software-Tongenerator² wurden zudem spezifische Frequenzen als akustische Störungen generiert und ihr Einfluss auf die Probenoszillation beobachtet. Es wurde außerdem untersucht, ob sich die Bewegungen des Objektivs, welches die Störungen auf die Probe überträgt, dämpfen lassen. Dazu wurde dieses mit einem viskoelastischen Schaumstoff eingekleidet.

In Teil A von Abbildung 4.3 findet sich ein Vergleich zwischen dem auf diese Weise erhaltenen Amplitudendichtespektrum unter Messbedingungen mit Ölimmersionsobjektiv und dem des thermischen Rauschens des Cantilevers, welches durch einen nicht angeregten Cantilever ohne Probenkontakt erhalten wurde. Das Amplitudendichtespektrum unter Messbedingungen zeigt eine ausgeprägte Bande mit einem Maximum bei ca. 145Hz, welche im Spektrum des thermischen Rauschens nicht zu finden ist. Das bestätigt die Erkenntnis aus den Leistungsspektren der Höhenbilder (siehe oben). Die dort ebenfalls festgestellte Höhenbildoszillation mit einer Frequenz von 145Hz resultiert also direkt aus der Bewegung der Probenoberfläche und ist kein Resultat aus einer Faltungsverzerrung mit der Abtastrate des Rasterkraftmikroskops. Weiterhin ist eine ausgeprägte Bande bei sehr kleinen Frequenzen zu finden, was vermutlich auf Gebäudeschwingungen zurückzuführen ist.

Wenn nun der Regelkreis des Objektiv-Piezoelements abgeschaltet wird, reduziert sich die Störungsbande bei 145Hz signifikant, allerdings in dieser Messung nur um ca. Faktor 2

²<http://onlinetonegenerator.com/>

4 Charakterisierung des AFM-Störsignals bei Kontakt zwischen Probe und Objektiv über einen Ölfilm

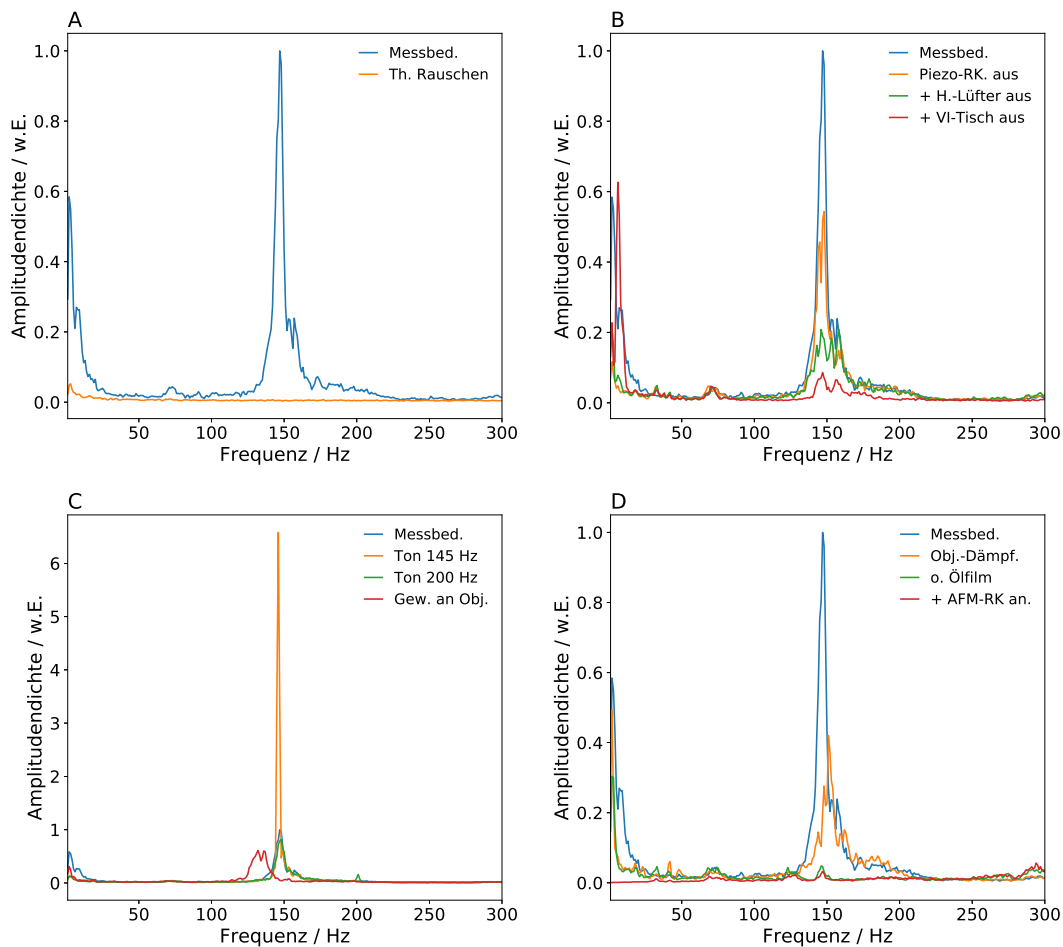


Abbildung 4.3: Amplitudendichtespektren der Störungstestprozeduren genormt auf das Maximum des unter Messbedingungen. Teil A: Vergleich der Störungen unter Messbedingungen mit dem thermischen Rauschen des Cantilevers. Teil B: Effekt des sukzessiven Abschaltens der Piezoelektronik des Objektivs, des Lüfters des Heizkörpers und der Vibrationsisolationstisches auf das Spektrum der Störfrequenzen. Teil C: Verstärkung der Störung durch einen Ton von 145Hz verglichen mit dem geringen Effekt eines Tons von 200Hz. Verschiebung der Störungsfrequenz durch Gewichte an Objektivhalterung. Teil D: Vergleich der Dämpfungseffekte auf die Störung durch die Umkleidung des Objektivs mit Schaumstoff, durch die Entfernung des Ölfilms und durch die zusätzliche Anschaltung des Regelkreises des Rasterkraftmikroskops.

(siehe Teil B von Abbildung 4.3). Der Effekt der Störungsabmilderung war also etwas geringer ausgeprägt als bei den aus den Höhenbildern erhaltenen Frequenzspektren. Neben statistischen Schwankungen der Störung könnte der bei der Aufnahme der Höhenbilder aktivierte Regelkreis der Cantileverauslenkung des Rasterkraftmikroskops eine Erklärung für diesen Unterschied darstellen. Die Trennung der Stromversorgung der Regelkreise des Objektiv-Piezoelements erbrachte keinen signifikanten zusätzlichen Effekt und das Störungsfrequenzspektrum glich dem Spektrum bei simpler Abschaltung der Regelkreiselektronik.

Durch das nun sukzessive Abschalten von Geräten im Raum konnte untersucht werden, ob diese im Betrieb einen Beitrag zur Anregung der Resonanz im Objektiv-Halterungs-System leisten. Bei allen außerhalb der Isolationsbox (siehe Kapitel 3.1.3.4) des Rasterkraftmikroskops betriebenen Geräten konnte keine signifikante Beeinflussung der Störungsbande festgestellt werden. Der Lüfter im Heizkörper, welcher über Aluminium-verkleidete Schläuche mit dem Inneren der Isolationsbox verbunden ist (siehe Kapitel 3.1.3.4), konnte jedoch als Störquelle identifiziert werden, welche einen signifikanten Beitrag zur Oberflächenoszillation der Probe bei 145Hz leistet. Die Abschaltung dieses Heizkörperlüfters führte zu einer zusätzlichen Reduktion der Störung um ca. Faktor 2,5 (ausgehend von den Werten bei abgeschalteten Objektiv-Piezoelement-Regelkreisen). Einen weiteren Beitrag zur Ausprägung der Bande des Störsignals liefert außerdem der Betrieb des Vibrationsisolationstisches, auf welchem sich der gesamte Aufbau der Mikroskope innerhalb der Isolationsbox befindet. Eine Abschaltung von diesem lieferte eine weitere Reduktion der Bande um einen Faktor von ungefähr 2, bei einer gleichzeitigen Zunahme von sehr niedrigen Frequenzen, da die Isolation gegen Gebäudeschwingungen nun nicht mehr gegeben war.

Die Tatsache, dass weitere Geräte identifiziert werden konnten, welche einen Einfluss auf die Ausprägung der Störungsschwingung haben, unterstützt die Hypothese, dass es sich um eine Resonanz im System aus Objektiv und Objektivhalterung bei ca. 145Hz handelt, welche von verschiedenen Quellen angeregt wird, die damit einen Beitrag zum gemessenen Störsignal leisten. Die Isolationsbox des Rasterkraftmikroskops scheint eine Anregung dieser Resonanz von Quellen außerhalb dieser Box effektiv zu verhindern. Der Heizkörperlüfter und der Vibrationsisolationstisch befinden sich jedoch im Inneren der Box, bzw. sind im Fall des Lüfters akustisch über Schläuche mit diesem verbunden. Die These der Resonanz im System wird weiterhin gestützt durch die Tatsache, dass ein extern erzeugter Ton von 145Hz zu einer enormen zusätzlichen Anregung der Schwingung führt, während ein Ton von 200Hz bei gleichen Bedingungen der Tongenerierung nur zu einer kleinen zusätzlichen Bande bei dieser Frequenz im Spektrum führt (siehe Teil C von Abbildung 4.3). Weiterhin lässt sich die Frequenz dieser Resonanz im System verschieben, in dem zusätzliche Gewichte auf die Objektivhalterung aufgebracht werden. Die zusätzlichen Gewichte führten zu einer Verschiebung des Resonanzmaximums zu kleineren Frequenzen ($\approx 130\text{Hz}$).

Mit der Umkleidung des Objektivs mit einem viskoelastischen Schaumstoff kann das Störungssignal an der Probe um etwas mehr als die Hälfte reduziert werden. Es wird außerdem eine leichte Verschiebung des Resonanzmaximums zu höheren Frequenzen beobachtet (siehe Teil D in Abbildung 4.3). Demgegenüber führt das Entfernen des Ölfilms zu einem fast vollständigen Verschwinden des Störsignals bei 145Hz. Die verbliebenen Oszillationen der Probe waren im Vergleich zur Messung mit Ölfilm auf weniger als 5% reduziert worden. In Abwesenheit eines direkten mechanischen Kontakts wurde dieses verbliebene Störsignal vermutlich über die gemeinsame Befestigung der Bauteile an dem auf der Lochrasterplatte montierten Tisch auf die Probe übertragen. Das zusätzliche Anschalten des Regelkreises des

Rasterkraftmikroskops unterdrückt außerdem die von Gebäudeschwingungen verursachten Oszillationen bei sehr kleinen Frequenzen.

4.3 Diskussion und Konsequenzen für die Durchführung von kombinierten Messungen

Durch die Störungstestprozeduren konnte gezeigt werden, dass es sich bei dem beobachteten Störsignal um eine Resonanz des Systems aus Objektiv und Objektivhalterung handelt. Die angeregte Resonanz des verwendeten Ölimmersionsobjektiv hatte ein Maximum bei ca. 145Hz, welche sowohl von dem elektronischen Rauschen des Piezosystems, als auch von Störquellen innerhalb der thermischen Isolationsbox des Messaufbaus, angeregt werden kann, wie z.B. dem Lüfter des Heizkörpers und dem Vibrationsisolationstisch.

Da sowohl der Heizkörperlüfter, als auch der Vibrationsisolationstisch essentielle Aufgaben bei der Durchführung von Rasterkraftmikroskopiemessungen erfüllen, ist deren Abschaltung während der Experimente mit dem PDI-Polyphenyl-Dendrimer keine Option. Auch die Regelkreiselektronik des Objektiv-Piezoelements ist für die Durchführung kombinierter Messungen mit dem Konfokalmikroskop unverzichtbar. Eine Dämpfung der Oszillationen des Objektivs durch eine Umkleidung mit Schaumstoff konnte zwar erzielt werden, der Effekt war allerdings sehr viel kleiner als bei einer Entfernung des Ölfilms und damit der direkten mechanischen Kopplung von Objektiv und Probe.

Für die Durchführung der Experimente mit dem PDI-Polyphenyl-Dendrimer erscheint hinsichtlich der Ergebnisse der Störungstestprozeduren die Benutzung eines Luftspaltobjektivs angemessen. Trotz geringerer optischer Auflösung und kleinerer Photonensammeleffizienz im Vergleich zu einem Ölimmersionsobjektiv, überwiegen hier die Vorteile der störungsfreieren Detektion von Teilchen in Größenordnungen nahe der Auflösungsgrenze mit dem Rasterkraftmikroskop.

Für zukünftige Experimente liefern die Resultate der Störungstestprozeduren mehrere Ansätze, welche verfolgt werden können, um die gemessenen Störungen bei Verwendung eines Ölimmersionsobjektivs zu verringern. Der Einsatz anderer Schaumstoffe zur Umkleidung des Objektivs könnte eine stärkere Dämpfung der Bewegung erzielen. Eine verbesserte akustische Isolierung gegen die Störquellen im Inneren der Isolationsbox erscheint zumindest im Falle des Heizkörperlüfters als durchführbar. Durch eine Modifikation der Objektivhalterung könnte es möglich sein, die Resonanz zu Frequenzen zu verschieben, welche weniger stark von den ermittelten Störquellen angeregt werden können. Durch Einsatz schwerer Materialien für die Objektivhalterung könnte neben einer Verschiebung der Resonanz zu tieferen Frequenzen auch eine größere Trägheit des Systems zu kleineren Oszillationen führen. Eine Obergrenze für die Benutzung von schwereren Materialien ist durch die maximale Traglast des Piezoelements für die Objektivsteuerung gegeben.

4.3 Diskussion und Konsequenzen für die Durchführung von kombinierten Messungen

Ein weiterer Ansatz für manche Experimente könnte die nachträgliche Bearbeitung der erhaltenen Höhenbilder mit einem digitalen Filter sein, welcher die Frequenzen des gemessenen Störsignals aus den Höhenbildern herausrechnet. Hierbei handelt es sich allerdings nicht um eine tatsächliche Verbesserung der Messeigenschaften des Rasterkraftmikroskops, sondern nur um eine Erleichterung der Interpretation der Höhenkontraste.

5 | Detektion der Größenveränderung photo-schaltbarer Dendrimere

In diesem Kapitel werden die Experimente an einzelnen Molekülen des in Kapitel 3.2.1 beschriebenen PDI-Derivats mit dendritischen Substituenten beschrieben. Durch eine photochemisch induzierte Isomerisierung der acht Azobenzolgruppen, die in die Polyphenyl-Substituenten des Dendrimers eingebaut sind, wurde in Lösung eine signifikante, reversible Größenänderung des Moleküls beobachtet [79]. Ziel der Experimente im Rahmen dieser Arbeit war der Nachweis der gezielten Photoisomerisierung von individuellen Molekülen, welche auf einer Oberfläche adsorbiert waren. Dies geschah durch die Detektion der Größenänderung mit dem Rasterkraftmikroskop oder durch die Beobachtung der damit einhergehenden Bewegung auf der Oberfläche.

5.1 Beobachtung der Photoisomerisierung durch polarisationsaufgelöste Intensitätszeitspuren

Bei der Photoisomerisierung des Dendrimers mit acht Azobenzolgruppen in den Polyphenylsubstituenten verändert sich nicht nur das Volumen des Moleküls (siehe Kapitel 3.2.1), sondern auch die Form der Substituenten. Durch den Übergang von beispielsweise des *trans*-Isomers der Azobenzolgruppe zum *cis*-Isomer kann der voluminöse Polyphenyl-Rest, welcher eine Länge von deutlich über einem Nanometer hat, über einen Raumwinkel von ca. 120° bewegt werden. Von einem auf einer Oberfläche adsorbierten Dendrimer wird mindestens ein Teil der Substituenten Kontakt zur Oberfläche haben und mit dieser wechselwirken. Bei der Bewegung dieser Substituenten in Kontakt zur Oberfläche während der Photoisomerisation ist daher neben einer Formänderung auch eine Bewegung des Dendrimers relativ zur Oberfläche zu erwarten. Es kann außerdem davon ausgegangen werden, dass in vielen Fällen dabei auch eine (Teil-)Rotation stattfindet und es damit zu einer Neuausrichtung des Übergangsdipolmoments des PDI-Kerns kommen kann. Weiterhin könnte die Bewegung in den Substituenten aufgrund der Photoisomerisierung der Azobenzolgruppen auch eine Konformationsänderung an dem *bay*-substituierten PDI-Kern induzieren. Dadurch verändert sich die relative räumliche Position der Phenoxy-Substituenten zum PDI-Kern und damit zum π -Elektronensystem des PDI-Kerns. Darüber hinaus können diese Konformati-

änderung außerdem Auswirkungen auf den Verdrillungswinkel des PDI-Kerns haben. Als Folge dieser Änderungen zeigt das Übergangsdipolmoment eine Abhängigkeit von der Konformation des bay-substituierten PDI-Kerns [248].

Bei der Untersuchung der Dendrimere mit einem konfokalen Fluoreszenzmikroskop kann eine Rotationsbewegung des Übergangsdipolmoments mittels der polarisationsaufgelösten Messung der Fluoreszenzintensität nachgewiesen werden [249–255]. Hierbei werden die vom Objektiv eingesammelten Photonen durch einen Polarisationsstrahlteiler in zwei Kanäle mit zueinander senkrechter Polarisation aufgetrennt und separat detektiert (I_P und I_S). Bei der Drehung des Übergangsdipolmoments führen Bewegungsanteile über einen bestimmten Azimutwinkel, also innerhalb der Substratebene und senkrecht zur optischen Achse, zu einer Änderung der anteiligen Verteilung der gemessenen Intensität auf die beiden Polarisationskanäle. Dies kann zum Beispiel in einer Änderung im zeitlichen Verlauf des linearen Dichroismus' I_D ausgedrückt werden.

$$I_D(t) = \frac{I_S(t) - I_P(t)}{I_S(t) + I_P(t)} \quad (5.1)$$

Bei der Anregung des Fluorophors mit linear polarisiertem Licht kommt es durch Rotationsbewegungen in den meisten Fällen außerdem zu einer Veränderung der Gesamtintensität. Der Grund dafür ist die Abhängigkeit der Anregungseffizienz vom Skalarprodukt aus dem Übergangsdipolmoment und dem Amplitudenvektor des Anregungslichts¹ [199].

Rotationsbewegungsanteile, die eine Polarwinkelveränderung herbeiführen, verursachen eine Änderung der gemessenen Gesamtintensität ohne dass sich dabei der Wert von I_D ändert. Neben der bereits ausgeführten relativen Veränderung zur Anregungspolarisation ist dies auf die Veränderung der Lage des Strahlungsfeldes des Emitters zum Öffnungswinkel des Objektivs zurückzuführen [199].

5.1.1 Aufnahme von polarisationsaufgelösten Zeitspuren

Es sollte nun untersucht werden, ob bei einzelnen Dendrimern durch die Photoisomerisierung ausgelöste Rotationsbewegungen nachgewiesen werden können. Die Experimente dazu wurden mit einer Variation des Konfokalmikroskops durchgeführt, welche noch nicht mit dem Rasterkraftmikroskop kombiniert war (siehe Kapitel 3.1.2.2). Die Anregungswellenlänge für die PDI-Kerne war 568nm und die Photoisomerisierung der Azobenzolgruppen wurde bei 365nm und 445nm durchgeführt mit den jeweiligen dazu benötigten optischen Filtern (siehe dazu Kapitel 3.1.2). Es wurde das Ölimmersionsobjektiv Plan-Neofluar von Zeiss eingesetzt. Alle Experimente fanden unter Argon-Atmosphäre statt. Die Probenpräparation erfolgte wie in Kapitel 3.3.2 beschrieben, jedoch auf gesäuberten Glassubstraten

¹Fermis Goldene Regel

ohne aufgebrauchte Muskovitschicht, da ohne Rasterkraftmikroskop nicht die gleichen Anforderungen an die Flachheit des Substrats bestehen, und daher die negativen Einflüsse des Muskovits auf den Strahlengang im Bereich der Fokalebene des Mikroskops vermieden werden können.

Es wurden polarisationsaufgelöste Emissionszeitspuren ($P_{an} \approx 2500\text{W}/\text{cm}^2$, $\Delta t_I = 100\text{ms}$, siehe Kapitel 3.4.1) einzelner Dendrimere auf der Glasoberfläche aufgenommen. Die Intensität der Emission auf beiden Polarisationskanälen wurde jeweils für $\approx 90 - 200\text{s}$ oder bis zum Bleichen des Moleküls aufgezeichnet. Sehr kurze Intensitätszeitspuren, bei denen ein Molekül nach nur sehr wenigen Sekunden (typischerweise $< 8\text{s}$) gebleicht war, wurden verworfen, da aus ihnen keine gesicherten Informationen über den Intensitätsverlauf zu gewinnen waren. Um die der Moleküle sicher zu stellen, wurden zeitgleich zu den Zeitspuren auch einzelne Emissionsspektren aufgezeichnet (Integrationszeit: $1 - 2\text{s}$ - ein Beispiel ist rechts in Abbildung 5.1 abgebildet).

Es wurden insgesamt drei Messreihen durchgeführt. In der ersten Messreihe wurde jedes Molekül für ein bestimmtes Zeitintervall zusätzlich mit UV-Licht bei 365nm (ca. $10 - 40\text{W}/\text{cm}^2$) bestrahlt, mit dem Ziel die *trans*-zu-*cis*-Isomerisierung zu induzieren. Der Beginn dieses Zeitintervalls t_S war ab 5s nach Beginn der Messung und die Länge betrug 1s (Ende der Bestrahlung $t_E = 6\text{s}$). Die Sekunden vor Beginn der Bestrahlung mit UV-Licht waren nötig, um eine Ausgangsintensität zu definieren, die vor einer möglichen Isomerisierung vorlag. Eine weitere Messreihe wurde durchgeführt, bei welcher bei 445nm (ca. $100\text{W}/\text{cm}^2$) anstatt mit UV-Licht zusätzlich bestrahlt wurde. Die dritte Messreihe wurde dann als Kontrollexperiment ohne zusätzliche Bestrahlungen durchgeführt, um mögliche Rotationsbewegungen der Moleküle auf der Glasoberfläche zu bestimmen, welche durch Prozesse wie thermische Bewegung ausgelöst werden.

5.1.2 Identifizierung der Intensitätssprünge

Insgesamt wurden so 124 Zeitspuren aufgenommen, bei denen zusätzlich mit UV-Licht bestrahlt wurde. Bei den Zeitspuren mit Bestrahlung mit blauem Licht waren es 349 Zeitspuren und bei den Vergleichsmessungen ohne zusätzliche Anregung 298 Zeitspuren. In allen drei Messreihen wurden Intensitätsabfälle und -zunahmen auf beiden Polarisationskanälen beobachtet, oft in einer Weise, dass es zu einer Änderung des linearen Dichroismus I_D kam. Die Änderungen waren in der Regel abrupt und stufenartig, fanden also innerhalb eines Zeitauflösungsintervalls ($\Delta t_I = 100\text{ms}$) statt.

Um Veränderungen der Intensität auf den beiden Polarisationskanälen auf Rotationsbewegungen des Übergangsdipols des Moleküls zurückzuführen, müssen diese von Intensitätsveränderungen aus anderen Ursachen unterschieden werden. Die Intensitätsverläufe sind mit Rauschen aus mehreren Quellen belegt, wie Schrotrauschen und das thermische Rauschen von Anregungsquelle und Detektoren. Die gemessene Intensität unterliegt damit statistischen Schwankungen, welche als temporäre Intensitätsänderung fehlinterpretiert werden

können. Außerdem können geringe Intensitätsänderungen aufgrund einer Rotation durch das Rauschen überdeckt werden, wenn die Änderung klein ist gegenüber dem Rauschen. Der zeitweise Übergang des Moleküls in Dunkelzustände kann zudem ebenfalls einen Abfall der Intensität bewirken. Bei Dunkelzuständen, welche länger andauern als das Zeitauflösungsintervall der Zeitspuren (100ms), fällt die Intensität bis auf den Untergrund ab. Dieser setzt sich im Wesentlichen aus Streulicht aus der Umgebung, nicht-abgeschirmtem Anregungslicht und aus der Dunkelzählrate des Detektors zusammen.

Bei den hier durchgeführten Experimenten wurden zum Teil sehr große statistische Fluktuationen der Intensität beobachtet mit häufigen kurzfristigen Abfällen aufgrund von Dunkelzuständen. Es war also ein Auswerteverfahren notwendig, welches eine Wahrscheinlichkeitsabschätzung trifft, ob eine detektierte Intensitätsänderung nur eine Schwankung aufgrund von Rauschen oder einen Übergang in Dunkelzustände darstellt, oder aber ob es sich tatsächlich um eine Änderung aufgrund von Rotationsbewegungen handelt. Eine solche statistische Analysemethode ist STIMTS (engl.: „State Transition Identification in Multivariate Time Series“) [252], bei welcher im Gegensatz zu anderen etablierten Methoden (wie z. B. STaSI - „Step Transition and State Identification“ [256]) alle Intensitätskanäle berücksichtigt werden, um statistisch signifikante Stufen im Intensitätsverlauf zu finden, und nicht nur von den einzelnen Intensitäten abgeleitete Größen wie I_D . Wie STaSI ist STIMTS dabei im Kern eine Abwägung zwischen der Güte einer an die Daten angepassten Stufenfunktion² und der Simplizität jener Stufenfunktion, um eine Überinterpretation der Daten zu vermeiden. Mit Hilfe der Hotellings T^2 -Teststatistik wird zunächst ein Maximum von potentiellen Übergangspunkten zwischen Stufen gefunden und die Zeitspur somit in Segmente unterteilt. Mittels logarithmischer Likelihood-Quotienten-Tests werden nun schrittweise die Segmente zusammengefasst, welche am unwahrscheinlichsten zwei separate Segmente darstellen. Jeder Schritt liefert demnach eine neue Stufenfunktion mit zunehmender Simplizität, also einer geringeren Anzahl von Segmenten.

Bei der STIMTS-Analyse muss im Vorfeld festgelegt werden, ob gleiche Intensitätsniveaus wiederkehren können oder nicht. Wenn aus dem Experiment keine wiederkehrenden Intensitätsniveaus erwartet werden, werden lediglich benachbarte Segmente zusammengefasst. Wenn auch wiederkehrende Niveaus erwartet werden, können auf diese Weise auch nicht-benachbarte Segmente kombiniert werden. Man erhält schließlich eine Reihe von Stufenfunktionen, denen jeweils ein Wert für die Güte zugewiesen werden kann, mit denen sie die Daten abbilden, und ein Wert für ihre Simplizität. Jene Stufenfunktion, welche die geringste Summe aus diesen Werten aufweist, wird als bester Ausgleich zwischen Simplizität und Güte angesehen [252].

Um die Zeitpunkte jeder Zeitspur zu identifizieren, bei welchen die Intensität aufgrund des Überganges in Dunkelzustände auf den Untergrund abfällt, wurde STIMTS zunächst mit

²Die Stufenfunktion ist eine Funktion, welche aus einer bestimmten Anzahl von Segmenten konstanter Intensität besteht, zwischen denen sich die Intensität abrupt innerhalb eines Zeitintervalls ändert, wie bei einer Stufe.

5.1 Beobachtung der Photoisomerisierung durch polarisationsaufgelöste Intensitätszeitspuren

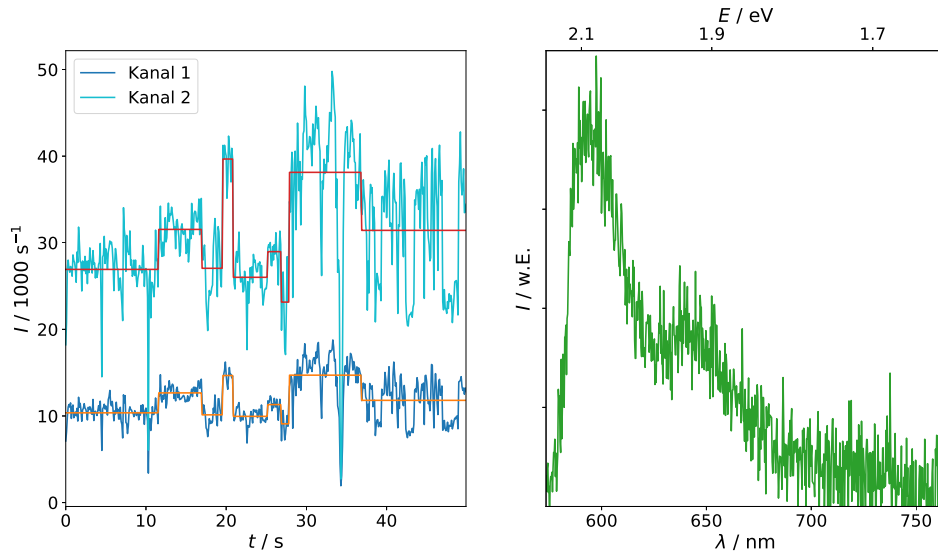


Abbildung 5.1: Links: Polarisation aufgelöste Zeitspur des PDI-Kerns eines Dendrimers auf Glassubstrat ($P_{an} \approx 2500 \text{ W/cm}^2$, $\Delta t_I = 100 \text{ ms}$, $\lambda_{an} = 568 \text{ nm}$). Die durch STIMTS bestimmte Aufteilung der Zeitspur in Segmente unterschiedlicher Intensität ist in roter bzw. orangefarbener Farbe aufgetragen. Rechts: Am Beginn der Zeitspur simultan aufgenommenes einzelnes Emissionsspektrum (Integrationszeit: $\Delta t = 1 \text{ s}$) des Dendrimers.

der Annahme angewendet, dass wiederkehrende Niveaus existieren (da der Untergrund ein wiederkehrendes Niveau ist). Wenn das Niveau der Lösungsfunktion von STIMTS, welches die kleinsten Intensitätswerte in beiden Kanälen aufweist, mit den typischen Erwartungswerten für die Zählraten des Untergrundes bei dem verwendeten Mikroskop übereinstimmt, wurden diese Intensitätswerte jeweils als Untergrund I_{UG} definiert. Die Standardabweichungen σ der Messwerte aus diesen Segmenten wurde für beide Kanäle bestimmt. Anschließend wurden alle Datenpunkte der Zeitspur, für welche $I < I_{UG} + 3\sigma$ gilt, als Teil des Untergrundes definiert und im folgenden Schritt der Auswertung nicht weiter berücksichtigt. Die Zeitspuren, bei denen das Segment mit den geringsten Intensitätswerten nicht mit den Erwartungswerten des Untergrundes übereinstimmt, wurden unverändert übernommen. Bei diesen Zeitspuren kamen während der Laufzeit entweder keine Abfälle bis auf den Untergrund vor und die Messung wurde vor dem Bleichen beendet, oder die aufgetretenen Dunkelzustände wurden von STIMTS als Extremwerte statistischer Schwankungen interpretiert und ihnen keine eigene Stufe zugewiesen.

Im nächsten Schritt wurde die STIMTS-Methode erneut auf alle Zeitspuren angewendet, dieses Mal ohne Berücksichtigung wiederkehrender Niveaus (siehe Beispiel in Abbildung 5.1 links). Es traten Fälle auf, bei denen die aufgetretenen Dunkelzustände bei der Bestimmung des Untergrundes I_{UG} kein eigenes Untergrundniveau zugewiesen bekamen, sondern diese als statistische Schwankungen interpretiert wurden, und die Zeitspuren deshalb unverändert in den nächsten Auswertungsschritt übernommen wurden. Hier konnte es nun dazu kommen, dass diese in diesem Schritt fälschlicherweise eine eigene Stufe zugewiesen bekamen. Dies sollte jedoch alle Zeitspuren über ihre gesamte Länge statistisch gleichmä-

ßig betreffen und demnach lediglich zu einem Hintergrundrauschen an falsch-positiven Ereignissen führen.

5.1.3 Vergleich der Messreihen und Schlussfolgerungen

Es wurde nun untersucht, ob in den beiden Messreihen mit zusätzlicher Bestrahlung (bei 365nm bzw. 445nm) signifikante Unterschiede bei den detektierten Stufenübergängen aufgetreten sind im Vergleich zu der Messreihe ohne zusätzliche Bestrahlung. Es wurden dabei zwei wesentliche Fragestellungen untersucht: Erstens wurde analysiert, ob es durch die zusätzliche Bestrahlung zu zusätzlichen Stufen im Intensitätsverlauf kommt- dies wäre ein Indiz für induzierte Rotationen durch die Bewegung der Substituenten bei der Photoisomerisierung. Und zweitens wurde betrachtet, ob sich die die Rotationen nach der Photoisomerisierung in ihrer durchschnittlichen Größe der beobachteten Winkeländerungen unterscheiden von Rotationen vor der Photoisomerisierung bzw. in Zeitspuren ohne zusätzliche Bestrahlung. Die Ergebnisse werden jeweils in den folgenden separaten Unterkapiteln diskutiert.

5.1.3.1 Häufigkeit des Auftretens von Stufen im Intensitätsverlauf

Zunächst soll die Häufigkeit des Auftretens von detektierten Intensitätsänderungen in den beiden Polarisationskanälen betrachtet werden. Die absolute Häufigkeit des Auftretens von Sprüngen in einem bestimmten Zeitintervall muss in Relation zu der Menge an Zeitspuren gesetzt werden, in denen sie aufgetreten sind. Die gemessenen Zeitspuren haben jedoch unterschiedliche Längen - insbesondere auch durch das Auftreten von Photobleichen. Dies bedeutet, dass Stufen bei kleinen Zeitwerten t , welche also zu Beginn des Verlaufs der Zeitspuren auftreten, auf eine größere Grundgesamtheit von Zeitspuren bezogen werden müssen als Stufen bei späteren Zeitwerten. Es wurde deshalb die jeweilige Länge aller Zeitspuren bis zum Photobleichen oder zur Beendigung der Messung bestimmt. Diese entspricht dem jeweiligen Endzeitpunkt des letzten Segmentes, welches durch die STIMTS-Prozedur erhalten wurde. Anschließend wurde bestimmt, wie viele Zeitspuren zu jedem gegebenen Zeitpunkt nach Start der Messung noch aktiv waren, indem die absteigende Anzahl von Zeitspuren aufgetragen wurde gegen die aufwärts sortierten Längen der Zeitspuren (siehe Auftragung im Anhang A.1). Daraus kann für jeden Zeitpunkt t nach Beginn der Messung die Grundgesamtheit an aktiven Zeitspuren erhalten werden.

Um die statistischen Fehler bei der Bestimmung der relativen Häufigkeit des Auftretens von Stufen klein zu halten, wurden die Zeitspuren nur bis $t = 50s$ betrachtet. Hier waren in allen Messreihen wenigstens 50 Zeitspuren vorhanden, welche mindestens diese Länge aufweisen. Die Anzahl der detektierten Stufenübergänge wurde in konsekutiven Zeitintervallen von $\Delta t = 0,5s$ aufaddiert und der Quotient mit der Anzahl der Grundgesamtheit an Zeitspuren zum Zeitpunkt t_i , welcher in der Mitte des jeweiligen Zeitintervalls liegt, gebildet. Hiermit wurde die relative Häufigkeit des Auftretens von Stufen in diesem Zeitintervall erhalten. Diese relative Häufigkeit des Auftretens von detektierten Intensitätssprüngen ist oben in

5.1 Beobachtung der Photoisomerisierung durch polarisationsaufgelöste Intensitätszeitspuren

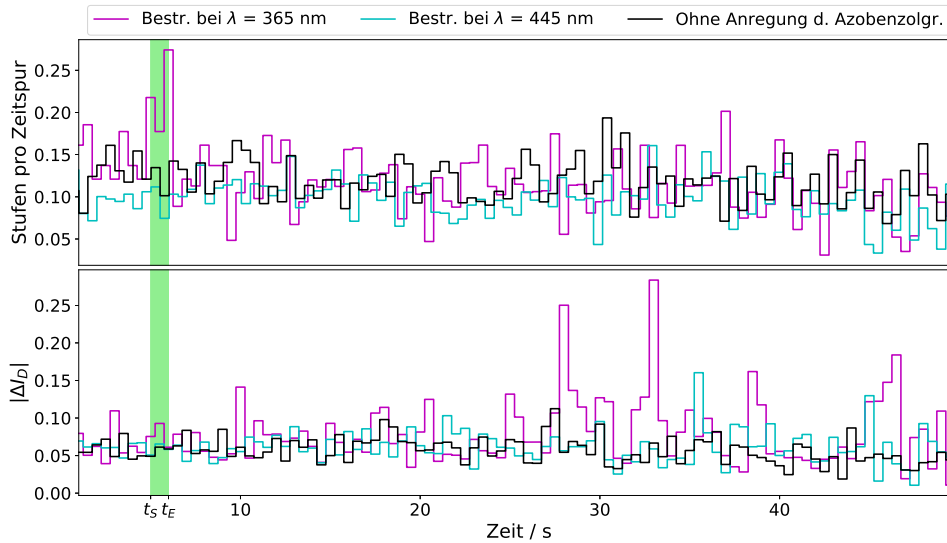


Abbildung 5.2: Detektierte Intensitätsänderungen (Stufen) in den Zeitspuren ($P_{an} \approx 2500 \text{ W/cm}^2$, $\Delta t_I = 100 \text{ ms}$, $\lambda_{an} = 568 \text{ nm}$): Relative Anzahl der Stufen pro Zeitintervall Δt (oben) und die durchschnittliche betragsmäßige Änderung des linearen Dichroismus pro detektierte Stufe im jeweiligen Zeitintervall (unten). Im Bereich zwischen t_S und t_E (grün unterlegt) treten bei der Bestrahlung mit UV-Licht signifikant mehr Stufen auf, die durchschnittliche Änderung des linearen Dichroismus pro Stufe ist nicht signifikant verändert.

Abbildung 5.2 zeitabhängig aufgetragen. Die Anfangs- und Endpunkte der Zeitintervalle Δt wurden so gesetzt, dass sich t_S in der Mitte eines Intervalls befindet.

Es ist zu erkennen, dass über den betrachteten Zeitraum in allen drei Messreihen über die gesamte Laufzeit die relative Häufigkeit des Auftretens von Stufen eng um einen Wert von etwas mehr als 0,1 im betrachteten Zeitintervall von $\Delta t = 0,5 \text{ s}$ schwankt. Die Werte steigen dabei in der Regel nicht über eine relative Häufigkeit von 0,17. Die arithmetischen Mittelwerte und Standardabweichungen σ der drei Messreihen können Tabelle 5.1 entnommen werden. Die Messreihe mit Bestrahlung bei 365nm zeigt allerdings eine signifikante Abweichung von dem beschriebenen Verhalten im Intervall zwischen t_S und t_E . Offensichtlich treten hier deutlich mehr Stufen auf als in anderen Zeitspannen. Der höchste Wert im Intervall zwischen t_S und t_E liegt dabei $4,7\sigma$ oberhalb des Mittelwertes der Werte außerhalb des Intervalls. Es ist bekannt, dass die *trans*-zu-*cis*-Photoisomerisierung von Azobenzol in Lösung auf Zeitskalen im Subpikosekunden- bis Pikosekundenbereich nach der Anregung auftritt [257]. Unter der Annahme, dass das Verhalten der Azobenzolgruppen der Moleküle auf der Glasoberfläche in diesem Aspekt nicht sehr stark von denen in Lösung abweicht, ist es also zu erwarten, dass durch die Isomerisierung induzierte Bewegungen unmittelbar nach Anregung der Azobenzolgruppe stattfinden - oft noch im selben Zeitauflosungsintervall. Die Erhöhung der relativen Häufigkeit in den Intervall zwischen t_S und t_E ist also als statistisch signifikant anzusehen, sowohl aufgrund des Ausmaßes dieser Erhöhung, als auch aufgrund des Zeitpunktes, zu dem diese Erhöhung auftritt. Die Bestrahlung bei 445nm führte zu keiner erhöhten Dynamik bei der Stufendichte im Vergleich zur Kontrollmessreihe ohne zusätzliche Bestrahlung.

Tabelle 5.1: Mittelwerte und Standardabweichung der relativen Häufigkeit des Auftretens von Stufen.

Messreihe	Stufen pro Zeitspur in Δt	
	Mittelwert	Standardabweichung
Bestr. UV-Licht ($(\lambda = 365\text{nm})^*$)	0,114	0,034
Bestr bl. Licht ($(\lambda = 445\text{nm})$)	0,098	0,024
Ohne zus. Bestr.	0,117	0,025

*Ohne die Werte des Intervalls zwischen t_S und t_E

Bevor die Schlussfolgerung gezogen werden kann, dass es sich bei der beobachteten Erhöhung der relativen Häufigkeit des Auftretens von Stufen in den Intensitätszeitspuren der beiden Polarisationskanäle im Intervall zwischen t_S und t_E tatsächlich um die Detektion von zusätzlichen, durch die Photoisomerisierung induzierte Rotationsbewegungen des Moleküls handelt, müssen andere potentielle Ursachen in Betracht gezogen werden. Als alternative Erklärung käme zum Beispiel auch ein Messartefakt in Frage, welches durch nicht vollständig abgeschirmtes Anregungslicht während der zusätzlichen Bestrahlungsperiode zu Stande käme (in diesem Fall also durch UV-Licht). Wenn trotz geeigneter optischer Filter und geringer zusätzlicher Anregungsintensität bei 365nm noch eine signifikante Zahl an Photonen aus dieser Quelle am Detektor ankommt, würde je nach Polarisation des Anregungslichts zu Anstiegen der Intensität auf einem oder beiden Polarisationskanälen für die Dauer der Bestrahlungsperiode führen und könnte demnach mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit durch die STIMTS-Methode als Stufe registriert werden. Bei der verwendeten geringen Anregungsleistung ($10 - 40\text{W}/\text{cm}^2$) und durch die geringe Transmission des Detektionsstrahlengangs für UV-Licht (Transmission $T < 0,0005^3$) waren bei Betrachtung einzelner Zeitspuren allerdings keine Anstiege der Intensität bei t_S und Abnahmen bei t_E offensichtlich. Es könnte sich also höchstens um sehr kleine Intensitätsänderungen handeln, welche lediglich zu einer gewissen statistischen Häufung von Stufen bei t_S und t_E führen. Dies würde allerdings bedeuten, dass diese durch dieses Artefakt verursachten Stufen nur eine sehr kleine Änderung des linearen Dichroismus zur Folge haben könnten. Dadurch sollte der Mittelwert der Betragsänderung des linearen Dichroismus $|\Delta I_D|$ pro Stufe in den betreffenden Intervallen bei t_S und t_E tendenziell kleiner sein, als in anderen Intervallen. Wie in Abbildung 5.2 zu erkennen ist, weist $|\Delta I_D|$ in den betreffenden Intervallen jedoch keine signifikante Verringerung auf. Dies spricht dagegen, dass die detektierte Häufung von Stufen im Intervall zwischen t_S und t_E von dem zusätzlichem Anregungslicht verursacht wurde. Ein weiteren Hinweis darauf, dass es sich um kein Artefakt des zusätzlichen Anregungslichts handelt, liefert der Vergleich mit der Messreihe mit zusätzlicher Bestrahlung bei 445nm, da hier das gleiche Artefakt auftreten könnte. Es ist hier jedoch keine Erhöhung der relativen Häufigkeit von Stufen detektiert worden.

³Da die Transmission von UV-Licht für einige Bauteile des Strahlengangs nicht bekannt ist, kann hier nur eine obere Abschätzung der Transmission angegeben werden. Die tatsächliche Transmission für UV-Licht sollte noch deutlich geringer sein.

Es wird daher davon ausgegangen, dass die vom UV-Licht induzierten Photoisomerisierungen tatsächlich mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit Rotationsbewegungen des Moleküls auf der Glasoberfläche verursachen. Dies zeigt sich dann in einer Häufung von detektierten Stufen im und kurz nach dem Zeitintervall mit der zusätzlichen UV Bestrahlung zwischen t_S und t_E . Die drei Häufigkeitswerte, welche in diesem Zeitintervall mit der zusätzlichen UV Bestrahlung liegen, sind mit durchschnittlich 0,223 Stufen pro Zeitspur signifikant ($3,2\sigma$) über den Werten außerhalb dieses Intervalls mit durchschnittlich 0.114 Stufen pro Zeitspur (siehe Tabelle 5.1). Außerhalb des Intervalls zwischen t_S und t_E werden die Stufen durch Rotationen, welche unabhängig von zusätzlichen Bestrahlungen auftreten, und durch Falsch-Positiv-Ereignisse aufgrund der Auswertungsmethode erhalten.

5.1.3.2 Größe der Winkeländerung bei der Rotation

Neben dem Zeitpunkt einer Rotationsbewegung eines Moleküls, könnte auch das Ausmaß der Rotationsbewegung vom Photoisomerisierungsprozess beeinflusst werden. Rotationsbewegungen, welche durch die Photoisomerisierung ausgelöst werden, könnten zum Beispiel im Durchschnitt Änderungen um größere Raumwinkel verursachen als Rotationsbewegungen aus anderen Ursachen (oder umgekehrt). Wie zu Beginn von Kapitel 5.1 ausgeführt, ist die Orientierungsänderung des Übergangsdipolmoments in drei Dimensionen nicht direkt durch die hier durchgeführten Experimente ermittelbar, da es auf mehrere Weisen zu Änderungen der absoluten Intensität kommen kann. Rotationsbewegungen über große Raumwinkel sollten allerdings statistisch auch zu größeren Bewegungen in der planaren Projektion dieser Winkel führen. Dies kann mit der Betragsänderung des linearen Dichroismus $|\Delta I_D|$ (siehe Gleichung 5.1) quantifiziert werden. Für die Zeitintervalle Δt mit den Zentralpunkten t_i ist das arithmetische Mittel von $|\Delta I_D|$ pro detektierte Stufe für jedes Zeitintervall unten in Abbildung 5.2 aufgetragen.

Für das Bestrahlungsintervall zwischen t_S und t_E konnte hier jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen der Messreihe mit Bestrahlungen bei 365nm und den anderen beiden Messreihen gefunden werden. Die hier durchgeführten Experimente liefern also keinen Beleg dafür, dass Rotationsbewegungen, welche durch Photoisomerisierung ausgelöst werden, über größere oder kleinere Raumwinkel stattfinden als Rotationsbewegungen anderen Ursprungs.

5.1.3.3 Zusammenfassung der Ergebnisse der polarisationsaufgelösten Detektion der Photoisomerisierung

Die induzierte *trans*-zu-*cis*-Photoisomerisierung einzelner Dendrimere konnte mittels polarisationsaufgelöster Einzelmolekülmikroskopie nachgewiesen werden. Dazu wurden drei Messreihen von Zeitspuren der Emissionsintensität des PDI-Kerns miteinander verglichen. In einer Messreihe wurde neben der permanenten Anregung bei 568nm in einem kurzem Zeitintervall zusätzlich mit UV-Licht bei 365nm angeregt, in einer analogen Messreihe wurde zusätzlich mit blauem Licht bei 445nm angeregt und in der dritten Messreihe wurde keine

zusätzliche Anregung durchgeführt. In allen drei Messreihen konnten durch Intensitätsänderungen in beiden Polarisationskanälen Rotationsbewegungen der Moleküle auf der Oberfläche nachgewiesen werden. Bei der Bestrahlung mit UV-Licht kam es zusätzlich zu einem signifikantem Anstieg von Intensitätsveränderungen in den beiden Polarisationskanälen während der Bestrahlung. Dies wurde auf Rotationsbewegungen zurückgeführt, welche durch die Bewegung der Polyphenyl-Reste durch die vom UV-Licht induzierte *trans*-zu-*cis*-Photoisomerisierung ausgelöst wurden. Bei der Bestrahlung mit blauem Licht bei 445nm wurde ein solches Verhalten nicht beobachtet und es gab keinen signifikanten Unterschied zu der Messreihe ohne zusätzliche Bestrahlung. Dies lässt sich dadurch erklären, dass die Dendrimere zu Messbeginn in der thermodynamisch stabilen *all-trans*-Konformation vorliegen und deshalb keine Rückreaktionen durch Anregung bei 445nm ausgelöst werden können.

5.2 Detektion der Größenänderung einzelner Dendrimere

Mit einer Kombination aus Rasterkraft- und konfokaler Fluoreszenzmikroskopie wurde die Photoschaltung einzelner Dendrimere auf einer Muskovitoberfläche untersucht. Dabei wurde die Größe der Dendrimere vor und nach der Photoisomerisierung gemessen und miteinander verglichen. Im Folgenden werden zunächst die zur Durchführung dieser Experimente spezifischen Messbedingungen diskutiert. Anschließend folgt die Beschreibung der systematischen Untersuchung der photoinduzierten Größenänderung einzelner Dendrimere und die Diskussion der Ergebnisse dieser Experimente.

5.2.1 Messbedingungen zur Detektion der Größenänderungen

Um das Ziel der Experimente - die durch die Photoisomerisierung ausgelöste Größenveränderung zu detektieren - erreichen zu können, müssen einige Voraussetzungen erfüllt sein. In der Folge sollen diese Voraussetzungen kurz erläutert werden.

Eine zentrale Voraussetzung für alle Experimente mit dem kombinierten Messaufbau aus konfokalem Fluoreszenzmikroskop und Rasterkraftmikroskop ist eine zuverlässige Zuordnung von Erhebungen im Topografiebild zu Fluoreszenzflecken im Konfokalbild. Die Anforderungen an die optischen Eigenschaften des Probensubstrats, die Belegungsdichte und die spektroskopische und Partikel-Reinheit der Probe wurden in Kapitel 3.1.3.2 bereits diskutiert. Weiterhin ist zur Detektion von Größenveränderungen die Vergleichbarkeit der Messungen vor und nach der Photoisomerisierung essentiell für die Detektion von Veränderungen des Moleküls. Bei den Experimenten wurde deshalb Muskovit als Substrat für die Probenpräparation eingesetzt, da dieses frisch gespalten eine sehr flache Oberfläche liefert (siehe Kapitel 3.3.1).

Im Zuge der ersten vorbereitenden Experimente mit den zu untersuchenden Dendrimern zeigte sich, dass die auf Muskovit adsorbierten Dendrimere einen geringeren Höhenkontrast zum Substrat lieferten als aus den Ergebnissen der Fluoreszenzkorrelationsmessungen [79]

erwartet. Die Identifikation der Dendrimere auf der Muskovitoberfläche war insbesondere durch die Kontamination mit nicht fluoreszierenden Partikeln (häufig in ähnlichen Größenordnung wie die zu untersuchenden Moleküle) bei der Probenpräparation erschwert, da sie somit häufig nicht sicher von anderen Partikeln unterscheidbar waren. Dies wurde zu Beginn der Experimente insbesondere durch die Limitierung der Auflösung des Rasterkraftmikroskops durch die zum Teil starken Schwingungen der Probenoberfläche, welche vom Ölimmersionsobjektiv auf die Probe übertragen wurden, verstärkt. Weiterhin wurde beobachtet, dass die PDI-Kerne auf Muskovit häufig schnelles Photobleichen und viele Auszeiten zeigten. Das auf das Glassubstrat aufgeklebte Muskovit-Plättchen hatte außerdem oft einen verzerrenden Einfluss auf den transmittierenden Strahlengang. In Folge waren die Fluoreszenzflecken im Konfokalbild häufig unvollständig und verzerrt, wodurch häufig kein Mittelpunkt des beugungsbegrenzten Flecks definiert werden konnte. Auch dies stellte eine Hürde für eine verlässliche Zuordnung von Fluoreszenzflecken zu Topografieerhebungen da.

Durch Maßnahmen und Routinen bei der Präparation konnten einige dieser Effekte abgemildert werden. Diese wurden bereits in Kapitel 3.3.2 und 3.3.1 beschrieben. Besonders hervorzuheben ist der Einsatz von Glaspipetten (anstelle von Kunststoffpipettenspitzen) bei der Herstellung der Probe und zusätzliche Reinigungsschritte aller bei der Probenpräparation verwendeten Gefäße, wodurch die Kontamination mit Fremdpartikeln signifikant reduziert werden konnte. Es zeigte sich außerdem die Bedeutung eines dünnflüssigen Klebstoffes für die Befestigung des Muskovitplättchens auf dem Glassubstrat, um die verzerrenden Eigenschaften der Klebstoffschicht auf den Strahlengang gering zu halten. Wie bereits ausführlich in Kapitel 4 dargelegt, wurde durch die Verwendung des Luftspaltobjektivs anstelle des Ölimmersionsobjektivs die Reduktion der Auflösung des Rasterkraftmikroskops durch äußere Störquellen fast vollständig vermieden. Dies erfolgte auf Kosten geringerer optischer Auflösung und geringerer Photoneneinsamleffizienz. Es wurde außerdem zur Benutzung von Cantilevern mit sehr kleinem initialen Spitzenapex (SSS-FMR von Nanosensors, durchschnittlich 2 nm Spitzenradius) übergegangen. Vom Einsatz dieser Cantilever wurde eine bessere räumliche Auflösung der einzelnen PDI-Polyphenyl-Dendrimere auf der Oberfläche erhofft.

Auch bei der Benutzung einer mit Inertgas (Argon) angereicherten Atmosphäre im Probenraum zeigten die PDI-Kerne der Dendrimere auf der Muskovit-Grenzfläche häufig schnelles Photobleichen. Im folgenden Unterkapitel wird dieses Phänomen systematisch beschrieben. In einem weiteren Unterkapitel wird der Einfluss des Betriebs des Rasterkraftmikroskops im repulsiven und attraktiven Wechselwirkungsregime (siehe Kapitel 2.1.3.2) des intermittierenden Kontaktmodus' auf die Experimente charakterisiert und verglichen.

5.2.1.1 Einfluss der Muskovit-Grenzfläche auf die photophysikalischen Eigenschaften der adsorbierten Dendrimere

Bei der Aufnahme von Fluoreszenzbildern von einzelnen auf Muskovit aufgetragenen PDI-Polyphenyl-Dendrimern mit dem konfokalen Mikroskop konnte beobachtet werden, dass auch bei Verwendung einer Argon-Atmosphäre im Probenraum bei vielen Molekülen bereits nach wenigen Sekunden permanentes Fluoreszenzbleichen eintrat. Zur Quantifizierung dieser Beobachtung wurden Fluoreszenzzeitspuren von der Emission einzelner Moleküle aufgenommen und die Zeit bestimmt, bei welcher Fluoreszenzbleichen eingetreten ist.

Es wurden dazu Fluoreszenzzeitspuren wie in Kapitel 3.4.1 beschrieben aufgenommen ($\lambda_{an} = 532\text{nm}$, $\Delta t = 0,1\text{s}$, $P_{an} = 3000\text{W/cm}^2$). Im Probenraum wurde eine Argon-Atmosphäre eingesetzt, welche durch den konstanten Zufluss von 10-15 mL/min aufrecht erhalten wurde. Wenn für mehrere Sekunden ($> 3\text{s}$) keine Intensität oberhalb des Untergrundes mehr beobachtet werden konnte, wurde die Aufzeichnung abgebrochen. Gleichzeitig mit der Intensitätszeitspur wurde eine Serie von Emissionsspektren mit einer jeweiligen Integrationszeit von 1,0s aufgenommen. Auf diese Weise wurde das Photobleichverhalten von 100 Dendrimer-Molekülen, welche auf einer Muskovitoberfläche adsorbiert waren, untersucht. Weiterhin wurden 52 Dendrimer-Moleküle, welche auf einem Saphirsubstrat (Plano, Durchmesser 22mm, Dicke 0,17 mm) adsorbiert waren, auf diese Weise untersucht, um Unterschiede im Photobleichverhalten zu dokumentieren. Beim Einsatz des Saphirsubstrats war die Benutzung eines weiteren optischen Kurzpassfilters zum Blockieren des bei größeren Wellenlängen höheren Untergrundes, insbesondere der Rubin-Linien notwendig (Semrock, FF01-694/SP, leicht schräg gestellt).

Für jede Zeitspur wurde nun der Zeitpunkt t_{aus} bestimmt, ab welchem das vermutete Fluoreszenzbleichen einsetzte. Dies wurde definiert als der Zeitpunkt, bei welchem die gemessene Intensität innerhalb der Zeitspur letztmalig oberhalb eines Schwellenwertes I_{Schw} lag (siehe linken und mittleren Graph in Abbildung 5.3). Zu Festlegung von I_{Schw} wurde dabei wie folgt vorgegangen: Zunächst wurde auf beiden Substraten jeweils eine Zeitspur des Untergrundes aufgenommen, in dem das Anregungslicht durch das konfokale Mikroskop auf eine Position fokussiert wurde, bei welcher kein Fluoreszenzfleck beobachtet werden konnte (für $> 200\text{s}$ mit gleicher Anregungsleistung und Zeitauflösung, wie bei den Intensitätszeitspuren der Moleküle). An die Verteilung der erhaltenen Intensitätswerte des Untergrundes wurde mit einer Ausgleichsrechnung eine Normalverteilung angepasst. Daraus wurde jeweils die Standardabweichung σ_{UG} als Maß für das Rauschen des Signals für beide Substrate erhalten⁴. Die mittlere Höhe I_{UG} konnte je nach Position auf dem Substrat - insbesondere auf Muskovit - zum Teil signifikant variieren. Grund hierfür können unter anderem Streuzentren sein, wie zum Beispiel Luft- oder Staubeinschlüsse in der

⁴Durch die Berechnung jeweils eines universellen σ_{UG} aus einer langen Zeitspur für beide Substrate konnte der Wert statistisch besser abgesichert werden. Dadurch wurden die starken Schwankungen von σ_{UG} vermieden, welche sich bei der Berechnung der Standardabweichung aus nur wenigen Datenpunkten am Ende einer Zeitspur ergaben.

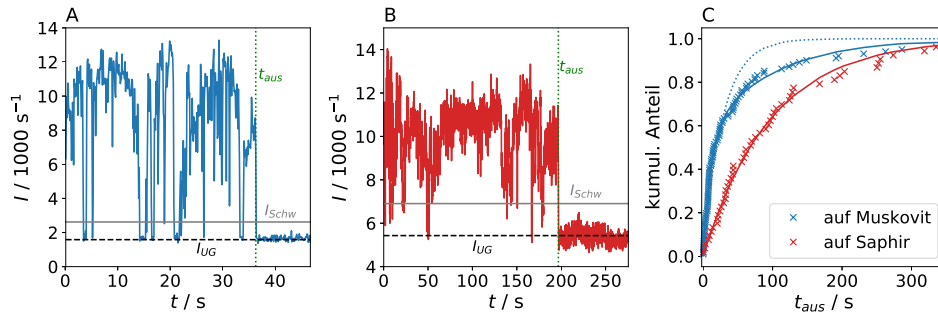


Abbildung 5.3: Beispielhafte Emissionsintensitätszeitspuren ($\lambda_{an} = 532\text{nm}$, $\Delta t = 0,1\text{s}$, $P_{an} = 3000\text{W}/\text{cm}^2$, Argonatmosphäre) der PDI-Kerne der Dendrimere auf Muskovit (links in blau) und Saphir (mittig in rot) mit definiertem I_{UG} , I_{Schw} und t_{aus} . Die kumulative Auftragung von t_{aus} (rechts) lässt sich bei den Dendrimern auf Saphir durch einen mono-exponentiellen Zerfall beschreiben und bei jenen auf Muskovit durch einen bi-exponentiellen Zerfall (Durchgezogene Linien). Die gestrichelte blaue Linie zeigt einen mono-exponentiellen Zerfall, welcher per Ausgleichsrechnung an die Daten der Dendrimere aus Muskovit angepasst wurde, welcher keine akkurate Beschreibung des Verlaufs liefert.

Klebstoffschicht des Muskovit-Präparats oder Fremdpartikel in der Nähe des Detektionsvolumens des konfokalen Mikroskops. Aus diesem Grund wurde I_{UG} für jede Intensitätszeitspur einzeln aus dem Mittelwert der letzten 5 Datenpunkte bestimmt, also zu dem Zeitpunkt, bei welchem bereits Fluoreszenzbleichen eingetreten war. Der Schwellenwert konnte daher für jedes untersuchte Molekül bestimmt werden als $I_{Schw} = I_{UG} + 6\sigma_{UG}$.

Rechts in Abbildung 5.3 sind die kumulativen Verteilungen der ermittelten Zeiten bis zum Fluoreszenzbleichen t_{aus} für die Moleküle auf beiden Substraten aufgetragen. Es ist erkennbar, dass auf Muskovit im Vergleich zum Saphirsubstrat ein deutlich größerer Anteil der untersuchten Moleküle schon nach sehr kleinen Zeitintervallen keine Emission mehr gezeigt hat. Auf Muskovit adsorbierte Moleküle müssen demnach also Umgebungseffekten ausgesetzt sein, welche ihre Photostabilität auf eine Weise beeinflussen, dass ein früheres Fluoreszenzbleichen wahrscheinlicher ist.

Für das Fluoreszenzbleichen wird ein Poisson-Prozess erwartet, was bedeutet, dass die Verteilung der Zeiten bis zum Bleichen einem einfachen Exponentialzerfall entsprechen sollte [258]. Die kumulative Verteilung von t_{aus} sollte sich daher durch die kumulative Verteilungsfunktion eines einfachen Exponentialzerfalls mit der mittleren Lebenszeit τ beschreiben lassen:

$$f(t) = 1 - e^{-\frac{t}{\tau}} \quad (5.2)$$

Durch Anpassung von Gleichung 5.2 an die kumulative Verteilung der Messwerte t_{aus} wird auf dem Saphirsubstrat eine mittlere Lebenszeit von $\tau_{Saph} = 97\text{s}$ erhalten. Auf Muskovit ergibt die Anpassung von Gleichung 5.2 eine Lebenszeit von 28s . Die kumulative Verteilung der t_{aus} -Werte auf Muskovit lässt sich aber nur unzureichend durch einen mono-

exponentiellen Zerfall beschreiben (siehe gestrichelte blaue Linie im Graph rechts in Abbildung 5.3). Eine bessere Übereinstimmung liefert eine Addition aus zwei exponentiellen Zerfällen der folgenden Form:

$$f(t) = A_1 \cdot \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau_1}}\right) + (1 - A_1) \cdot \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau_2}}\right) \quad (5.3)$$

Die Ausgleichsrechnung mit Gleichung 5.3 liefert für die kumulative Verteilung von t_{aus} auf Muskovit die Lebenszeiten $\tau_{Musk,1} = 11$ s und $\tau_{Musk,2} = 96$ s. Der Anteil der Moleküle mit Zerfallskonstante $\tau_{Musk,1}$ an der Gesamtverteilung betrug $A_1 = 0,55$. Eine auffällige Beobachtung hierbei ist, dass $\tau_{Saph} \approx \tau_{Musk,2}$ gilt.

Ein Vergleich des Fluoreszenzblinkens vor dem Bleichen zwischen den beiden Substraten kann erreicht werden, indem an den Messintervallen vor t_{aus} die gemessene Fluoreszenzintensität mit dem Schwellenwert I_{Schw} abgeglichen wird. Der Anteil von Messintervallen oberhalb von I_{Schw} an der Gesamtzahl von Messintervallen vor t_{aus} über alle Zeitspuren hinweg kann auf diese Weise für beide Substrate bestimmt werden. Für Muskovit ergibt sich ein Anteil von 68,3% an Zeitintervallen über I_{Schw} und für Saphir ein Anteil von 74,7%. Die Werte für beide Substrate sind also in einer sehr ähnlichen Größenordnung, wodurch der etwas kleinere Wert für Muskovit keinen Anhaltspunkt für eine signifikant größere Tendenz zum Fluoreszenzblinken auf Muskovitsubstraten liefert.

Aus den aufgenommenen Serien von Emissionsspektren wurde die spektrale Lage des Maximums bestimmt. Dazu wurde zunächst der Untergrund der Spektren abgezogen. Im Fall des Muskovits konnte dieser als näherungsweise konstant über die betrachtete Spektrenbandbreite angesehen werden, die Höhe jedoch schwankte stark mit der Position des Moleküls auf dem Substrat (siehe oben). Der Untergrund wurde deshalb als wellenlängenunabhängige Konstante aus dem geglätteten (Glättungsalgorithmus: *LOWESS*⁵) letzten Spektrum jeder Serie ermittelt, also zu einem Zeitpunkt, bei dem bereits Fluoreszenzbleichen eingetreten war. Beim Saphirsubstrat stieg der Untergrund jedoch ungleichmäßig mit größer werdender Wellenlänge an und fiel dann abrupt an der Position der Filterkante des verwendeten zusätzlichen Kurzpassfilters (siehe oben) ab, die Höhe schwankte jedoch nicht so stark mit der Position auf dem Substrat. Aus den ebenfalls geglätteten Emissionsspektren, welche parallel zur Intensitätszeitspur des reinen Untergrundes auf Saphirsubstrat aufgenommen worden sind, konnte ein wellenlängenabhängiges Untergrundprofil erhalten werden, welches von den Emissionsspektren der individuellen Moleküle abgezogen wurde. Zur Ermittlung der Position des Maximums wurden die aufgenommenen Emissionsspektren über die gesamte Laufzeit der jeweiligen Serie zu einem Gesamtspektrum addiert. Die

⁵*LOWESS - Locally Weighted Scatterplot Smoothing* [259], durchgeführt durch Anwendung des in der Python-Bibliothek *statsmodels* implementierten Algorithmus'

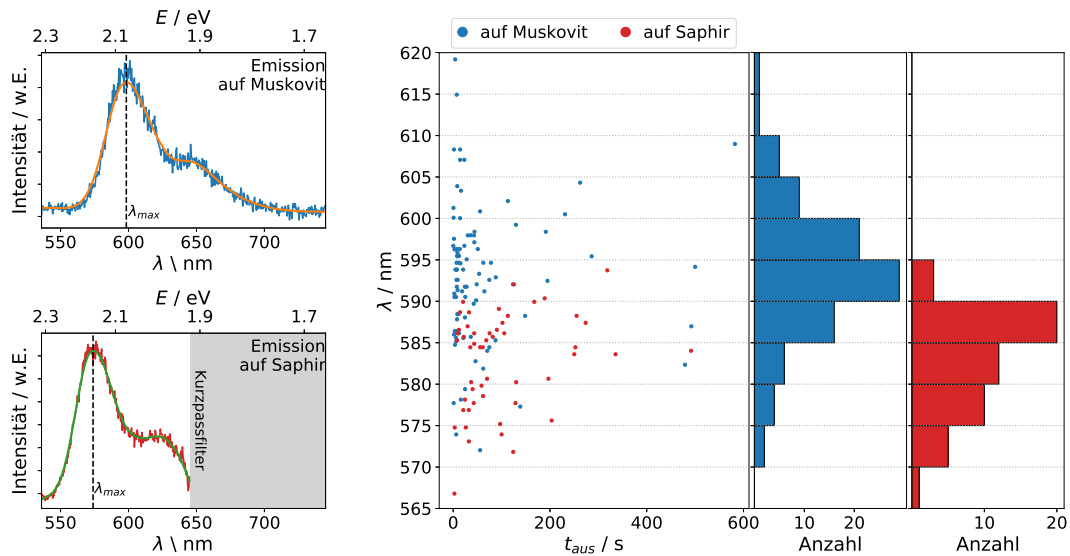


Abbildung 5.4: Links: Beispielhafte Emissionsspektren auf Muskovit und Saphir (spektral-korrigierte Messdaten und mittels des Glättungsalgorithmus erhaltenes Spektrum, $\lambda_{an} = 532$ nm, $\Delta t_{spektrum} = 1,0$ s, $P_{an} = 3000$ W/cm²), aufsummiert über die gesamte Länge der Spektrenserie. Rechts: Korrelationsplot der spektralen Lage des Emissionsmaximums, bestimmt aus den aufsummierten Spektren, und t_{aus} und als Histogramm aufgetragene Verteilung der Emissionsmaxima auf beiden Substraten.

erhaltenen Emissionsspektren wurden daraufhin geglättet und die spektrale Position des Maximums ausgelesen (siehe linke Seite in Abbildung 5.4).

Die erhaltenen spektralen Lagen des Maximums der Spektren sind auf Muskovit breiter gestreut und im Mittel etwas bathochrom verschoben im Vergleich zu den Spektren auf Saphir. Die Verteilung auf Muskovit ist näherungsweise symmetrisch um den Modalwert. Auf Saphir jedoch ist die Verteilung asymmetrisch mit nur sehr wenig gemessenen Spektren, deren Maxima bei Wellenlängen liegen, welche größer sind als der Modalwert der erhaltenen Verteilung. Es kann allerdings nicht ausgeschlossen werden, dass es sich bei dieser Beobachtung nicht oder nicht ausschließlich um eine Eigenschaft des Saphirsubstrats handelt, sondern dass dies durch die verwendeten optischen Bauteile bei diesem Experiment systematisch mitverursacht wurde: Der eingesetzte Kurzpassfilter zum Blockieren der Rubinlinien und des höheren Untergrunds bei größeren Wellenlängen auf Saphir könnte einen Beitrag dazu leisten, dass keine Spektren mit Maxima bei Wellenlängen von größer als ca. 600nm beobachtet wurden. Bei Emissionsspektren deren Maximum bei einer Wellenlänge oberhalb von 600nm liegt, ist bereits ein relevanter Teil der gesamten Emission des PDI-Kerns durch die Filterkante bei ca. 647nm blockiert. Die gemessene Intensität dieser Moleküle hebt sich also weniger stark vom Untergrund auf Saphir ab. Als Konsequenz davon könnten diese Moleküle seltener für die Aufnahme einer Intensitätszeitspur ausgewählt werden. Eine signifikante Korrelation der spektralen Lage mit t_{aus} konnte auf beiden Substraten nicht festgestellt werden (siehe Abbildung 5.4).

Eine mögliche Interpretation der Ergebnisse ist das Vorhandensein einer im Vergleich zum Saphir heterogeneren Umgebung für die auf Muskovit adsorbierten Moleküle. In einem Teil dieser Umgebung kommt es zu einer starken Verringerung der Photostabilität und in anderen Teilen ist die Photostabilität vergleichbar mit anderen Substraten. Eine mögliche Erklärung könnten Ladungsträger, insbesondere Metallkationen, auf der Muskovitoberfläche sein, welche so nicht beim Saphir gefunden werden. Denkbar wären zum Beispiel Reaktionen zwischen den Metallkationen und den photoaktivierten PDI-Kernen der Moleküle.

Die Beobachtung, dass eine starke Abhängigkeit der Photostabilität von der Umgebung gefunden wurde, wirft noch eine weitere Fragestellung auf. Von der Struktur der Dendrimere in Lösung ausgehend befindet sich der emittierende PDI-Kern im Inneren des mehrere Nanometer durchmessenden Makromoleküls. Wenn diese Struktur eine gute Annäherung an die Struktur eines an die Substratoberfläche adsorbierten Moleküls wäre, wäre die Umgebung des PDI-Kerns weiterhin hauptsächlich bestimmt von den dendritischen Substituenten. Da jedoch ein großer Effekt der Oberfläche auf die Umgebung des PDI-Kerns beobachtet wurde, deutet dies daraufhin, dass die räumliche Struktur des Dendrimers auf dem Substrat große Unterschiede zu der in Lösung aufweist und zwar in einer Weise, in der das Substrat einen merklichen Effekt auf den PDI-Kern hat. Zum Beispiel könnte das Dendrimer durch Wechselwirkungen mit der Oberfläche so verformt sein, dass der PDI-Kern sich näher an dieser befindet, als es von der Struktur des Moleküls in Lösung erwartet wäre.

5.2.1.2 Einfluss des repulsiven und attraktiven Betriebsmodus des intermittierenden Kontaktmodus

Neben der zuverlässigen Identifizierung der auf der Muskovitoberfläche adsorbierten Moleküle und ihrer Zuordnung zu Fluoreszenzflecken im Konfokalbild, ist die Vergleichbarkeit der Messungen vor und nach der Photoisomerisierung essentiell für die Detektion von Veränderungen des Moleküls. Stärkere Veränderungen der Spitze durch mechanische Beanspruchung oder durch Adsorption von Kontaminationen, verändern das Auflösungsvermögen des Mikroskops während der Messung. Da diese Veränderungen während der Messung unbekannt sind, kann dies zu erheblichen Unterschieden zwischen Rasterkraftmikroskopie-Aufnahmen vor und nach der Photoisomerisierung führen, welche nicht durch Veränderungen am Molekül verursacht sind. Weiterhin können größere Kräfte zwischen Cantileverspitze und Probe auch zu einer Beschädigung der Moleküle führen.

In vorbereitenden Experimenten, welche im repulsiven Modus des intermittierenden Kontaktmodus durchgeführt wurden (Amplitude ca. 80 – 100nm, Anregung des Cantilevers bei einer Frequenz, welche etwas kleiner als die Resonanzfrequenz ist, siehe Kapitel 2.1.3.2), konnten solche Phänomene beobachtet werden. Die Dendrimere waren dabei auf einer Muskovitoberfläche adsorbiert. Es wurden bei diesen Experimenten Serien von hochaufge-

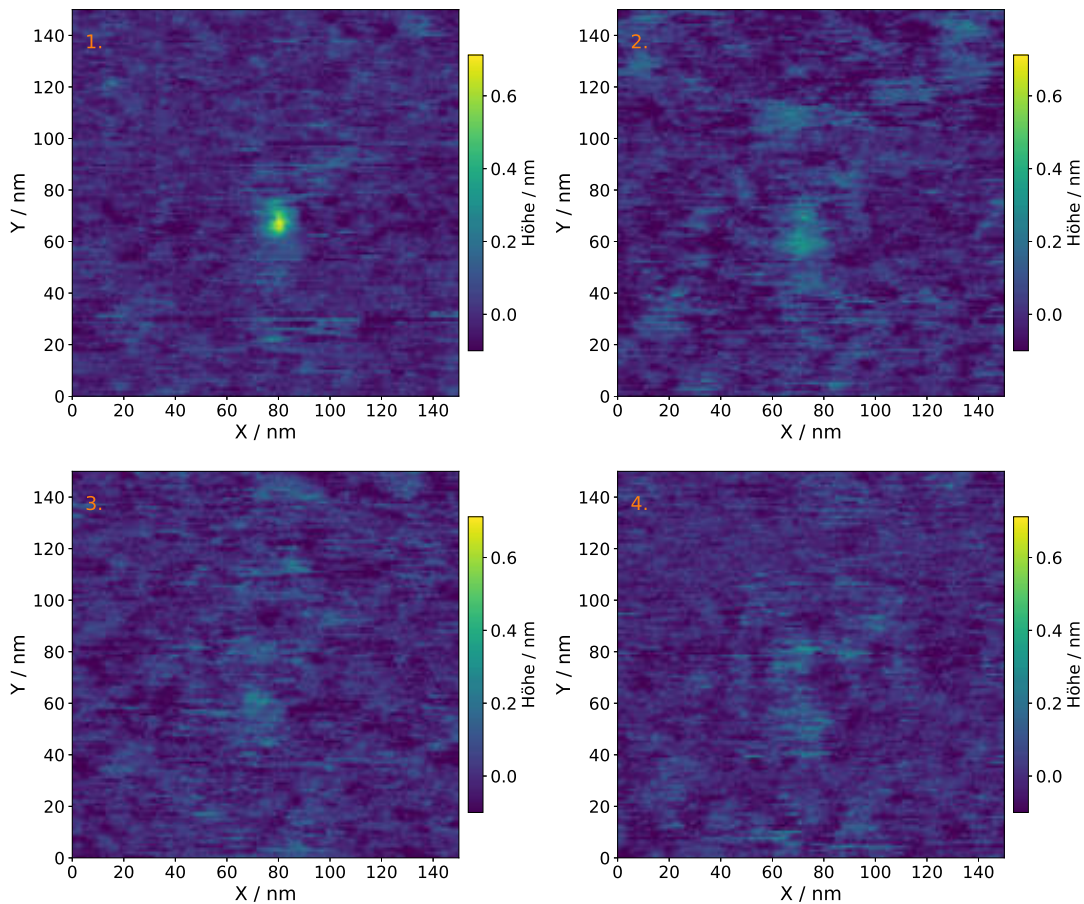


Abbildung 5.5: Im repulsiven Regime des intermittierenden Kontaktmodus aufgenommene, konsekutive Topografiebilder über der Position eines Dendrimer-Moleküls. Im ersten Bild ist die Erhebung des Dendrimers noch deutlich zu erkennen. In den nachfolgenden Bildern zeigt sich, dass die Erhebung verschwindet, beziehungsweise sehr viel breiter und weniger hoch wird. Dies kann als Anzeichen für eine Beschädigung des Moleküls gewertet werden.

lösten Topografiebildern einzelner Moleküle vor und nach der Bestrahlung bei 375nm bzw. 445nm aufgenommen, wie in Kapitel 3.4.2 beschrieben.

Dabei wurden bei diesen vorbereitenden Experimenten mehrere Fälle mit vermuteter Beschädigung des Moleküls beobachtet. Abbildung 5.5 zeigt beispielhaft eine Serie konsekutiv aufgenommener Höhenbilder an der Position eines Dendrimers, bei welcher die dem Molekül zugeordnete Erhebung mit zunehmender Bildfolge zunächst kleiner und deutlich breiter wird und dann völlig verschwindet. Neben diesen Fällen von vermuteter Beschädigung des Probenmoleküls gab es auch Hinweise auf relevante Abnutzungsspuren an der Cantileverspitze. Dies zeigte sich insbesondere darin, dass die Form und Breite der als Dendrimere identifizierten Erhebung teilweise erheblichen Schwankungen unterlag (und dies nicht nur nach induzierten Photoisomerisierungen). Insbesondere nahm die Breite der beobachteten Erhebungen häufig mit zunehmender Benutzungsdauer desselben Cantilevers zu. Diese große Variation in der erzielten Auflösung des Rasterkraftmikroskops (siehe

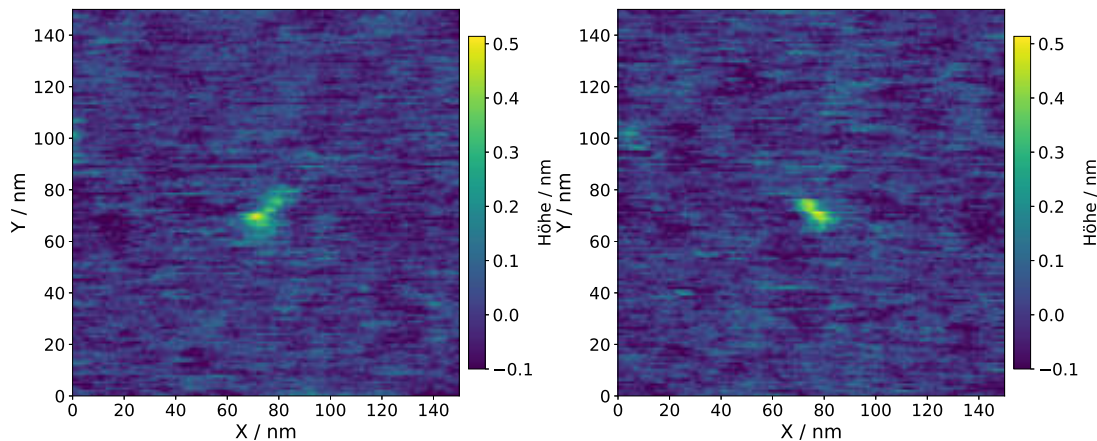


Abbildung 5.6: Beispiele für Anzeichen von Verschiebungen des Dendrimers auf der Oberfläche durch Wechselwirkung mit der Cantileverspitze: Die Erhebungen der Dendrimere sind diagonal zum Bildausschnitt elongiert im Vergleich zu vorigen Topografiemessungen. Dies kann durch Messzeilen-weißes Verschieben des Dendrimers durch den Kontakt mit der Spitze erklärt werden.

Beispiel im Anhang A.2) setzte auch die Zuverlässigkeit der Identifizierung der Moleküle und ihrer Zuordnung zu spezifischen Fluoreszenzflecken herab. In manchen Fällen könnte dabei die Auflösung soweit herabgesetzt worden sein, dass der Höhenkontrast der auf der Oberfläche adsorbierten Dendrimere zu klein war, um diese überhaupt vom Rauschen unterscheiden. Bei vielen Versuchen konnte deshalb keine Übereinstimmung zwischen gefundenen Erhebungen und den Fluoreszenzflecken des Konfokalbildes erzielt werden. In einigen Fällen konnte ein Verschieben des Moleküls auf der Oberfläche, offensichtlich durch die Interaktion mit der Cantileverspitze, beobachtet werden (siehe dazu Abbildung 5.6). Durch die Verschiebung des Moleküls während der Aufnahme eines Bildes werden die lateralen Ausdehnungen des Moleküls verändert⁶ und die Vergleichbarkeit zu den anderen Aufnahmen ist nicht gegeben.

Aus diesen Beobachtungen folgt, dass die wirkenden Kräfte zwischen Cantileverspitze und Probe reduziert werden müssen, um die Wahrscheinlichkeit für Beschädigungen des Dendrimers oder der Spitze, sowie für Verschiebungen der Dendrimere auf der Oberfläche, zu reduzieren. Es wird angenommen, dass insbesondere für die Beschädigungen an Spitze und Dendrimer hohe repulsive Kräfte am Umkehrpunkt der Cantileveroszillation verantwortlich sind. Das Betreiben des Rasterkraftmikroskops im attraktiven Regime des intermittierenden Kontaktmodus ist daher ein vielversprechender Ansatz, um hohe repulsive Kräfte zu vermeiden (siehe Kapitel 2.1.3.2). Der Cantilever wird hierbei bei Frequenzen etwas oberhalb der Resonanzfrequenz angeregt, bei Amplituden von nur wenigen Nanometern (6 – 12nm). Zwar tritt eine Cantileverspitze, welche im attraktiven Regime des intermittierenden Kontaktmodus betrieben wird, bei der Wechselwirkung mit der Probenoberfläche auch in den repulsiven Bereich der Kraftwirkung zwischen Spitze und Probenoberfläche ein, über einen

⁶typischerweise wird die Ausdehnung in Richtung der Verschiebung überschätzt

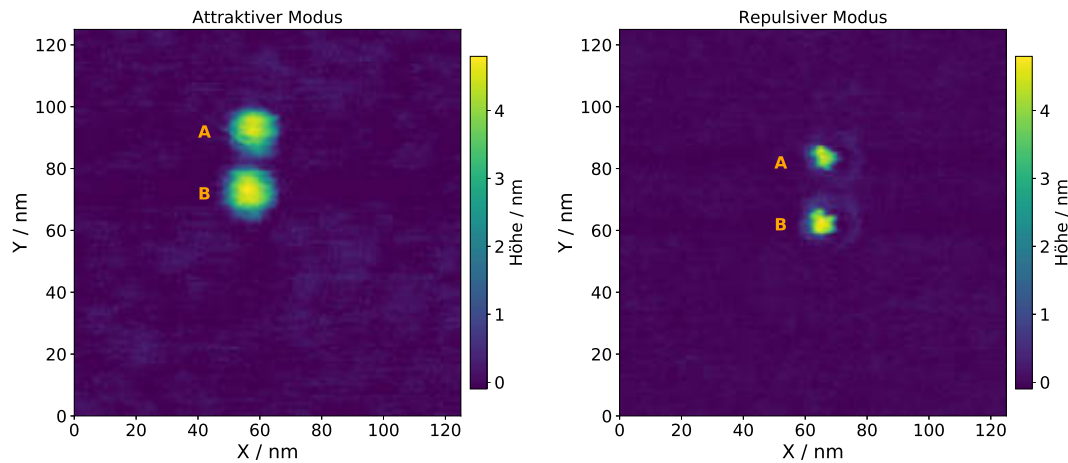


Abbildung 5.7: Vergleich von Topografiebildern von den selben zwei CdSe/CdS-Kern/Schale-Nanokristallen (markiert mit „A“ und „B“) auf Muskovit, welche im attraktiven (links) bzw. repulsiven (rechts) Regime des intermittierenden Kontaktmodus aufgenommen wurden. Bei ähnlichem Höhenkontrast haben die Kristalle im attraktiven Modus eine größere laterale Ausdehnung. Die Kristalle im repulsiven Modus sind dabei von einer Ringstruktur umgeben, welche der lateralen Ausdehnung im attraktiven Modus entspricht.

Oszillationszyklus hinweg wird die Dämpfung jedoch von den attraktiven Kräften dominiert. Durch die somit kleineren maximalen Kraftwirkungen zwischen Spitze und Oberfläche sollte es zu einer Reduktion von Verformungen und Beschädigungen von Proben oder Cantileverspitzen kommen.

Um zu verifizieren, dass bei den gewählten Messparametern für den Betrieb des Mikroskops im attraktiven Regime tatsächlich eine geringere Invasivität der Messung gegeben ist, wurden Messungen an CdSe/CdS/ZnS-Kern/Schale/Schale-Nanokristallen⁷ durchgeführt und die Auswirkungen des Wechsels in den attraktiven Modus charakterisiert. CdSe/CdS/ZnS-Nanokristalle wurden als Modellsystem gewählt, da diese bereits in früheren Experimenten [63, 77, 189] mit diesem Rasterkraftmikroskop umfangreich untersucht wurden, die Erwartungswerte für die Eigenschaften dieser Probe wohlbekannt waren und die Nanokristalle auf der Oberfläche sicher zu identifizieren waren. Dazu wurde eine Probe aus einer verdünnten Lösung von Nanokristallen nach der in Kapitel 3.3.2 beschriebenen Prozedur auf einer Muskovitoberfläche hergestellt.

Nach der Temperaturstabilisierung des Messaufbaus und erfolgreicher Ausrichtung des Mikroskops zueinander, wurden abwechselnd Bilder im repulsiven und im attraktiven Regime des intermittierenden Kontaktmodus vom gleichen Probenausschnitt erstellt und verglichen. Die Nanokristalle auf der Muskovitoberfläche waren in beiden Fällen eindeutig im Höhenbild zu erkennen und Fluoreszenzflecken im Konfokalbild zuzuordnen. Der Vergleich der Anordnung der Nanokristalle auf den konsekutiven Bildern erlaubte außerdem einen direkten Vergleich der Topografie-Erhebung desselben Nanokristalls, bei der Vermessung in den verschiedenen Regimen des intermittierenden Kontaktmodus⁷.

⁷Absorption: $\lambda_{Abs,max} = 300\text{nm}$; Emission: $\lambda_{Em,max} = 589\text{nm}$; ca. 6nm

Tabelle 5.2: Maximale Höhe (h) und laterale Ausdehnung (mit und ohne Ringstruktur) entlang der x - und der y -Achse (Δx bzw. Δy) der Nanokristalle „A“ und „B“ aus Abbildung 5.7, erhalten durch Ablesen aus Profilen der Topografiebilder. Die Höhe der Nanokristalle und die laterale Ausdehnung der Ringstruktur in dem Bild, welches im repulsiven Regime des intermittierenden Kontaktmodus gemessen wurde, stimmen im Rahmen der Messgenauigkeit gut überein mit den Werten aus dem Bild, welches im attraktiven Regime gemessen wurde.

Nano-kristall	Größen-parameter	Repulsiver Modus		Attraktiver Modus
		ohne Ring	mit Ring	
Oben (A)	h / nm	4,4		4,6
	$\Delta x / \text{nm}$	11,7	20,5	20,5
	$\Delta y / \text{nm}$	7,8	18,6	19,5
Unten (B)	h / nm	4,9		4,7
	$\Delta x / \text{nm}$	13,7	22,5	21,5
	$\Delta y / \text{nm}$	9,8	17,6	21,5

Es zeigte sich dabei ein deutlicher Unterschied zwischen den Aufnahmen mit den verschiedenen Methoden. Während der erhaltene Höhenkontrast für einzelne Nanokristalle zwischen Bildern, welche im attraktiven Modus und solchen, welche im repulsiven Modus aufgenommen keine starken Unterschiede aufwies (die gemessene Höhe der Nanokristalle in beiden Messmodi stimmt im Rahmen der Messgenauigkeit gut mit dem erwarteten Durchmesser der Nanokristalle von ca. 6nm überein), hatten die Nanokristalle im attraktiven Modus eine deutlich verbreiterte laterale Ausdehnung (siehe Abbildung 5.7 und Tabelle 5.2). Darüber hinaus waren die Nanokristalle bei Aufnahmen im repulsiven Modus von einem Ring mit geringem Höhenkontrast umgeben, dessen Durchmesser im Rahmen des Messgenauigkeit ziemlich genau der lateralen Ausdehnung der Kristalle bei Aufnahmen im attraktiven Modus entsprach (vergleiche Werte in Tabelle 5.2). Bei den früheren Rasterkraftmikroskopie-Messungen an CdSe/CdS/ZnS-Nanokristallen im repulsiven Modus wurde ein solcher Ring nicht beobachtet [63, 77, 189], allerdings fanden diese Aufnahmen auf silanisierten Glassubstraten statt, welche im Gegensatz zum Muskovit eine deutlich ausgeprägtere Oberflächenstruktur aufweisen, die den geringen Höhenkontrast des Ringes überdeckt hätte.

Aufgrund der Übereinstimmung der Parameter wird vermutet, dass der Ring um die Kristalle im repulsiven Modus und die größere laterale Ausdehnung im attraktiven Modus vom gleichen Phänomen verursacht werden. Eine wahrscheinliche Erklärung ist, dass die Ligandenhülle, welche die Nanokristalle umgibt, für diese Beobachtungen verantwortlich ist. Während im attraktiven Modus aufgrund kleinerer maximaler Wechselwirkungen zwischen Probe und Cantileverspitze die Nanokristalle inklusive ihrer weichen Hülle aus organischen Liganden vermessen werden, verdrängt die Spitze im repulsiven Modus die Liganden teilweise und der Kontrast entsteht hauptsächlich durch Wechselwirkung mit der härteren äußeren Schale des anorganischen Kristalls. Die laterale Ausdehnung der Nanokristalle im repulsiven Modus entspricht dabei den Erwartungen für Kristalle mit einem Durchmesser von ca. 6nm unter Berücksichtigung des lateralen Auflösungsvermögens des

Rasterkraftmikroskops. Die Differenz zwischen der lateralen Ausdehnung der Ringstruktur und dem eigentlich Nanokristall im Zentrum ist etwas größer, als es für eine einzelne Schicht direkt an den Kristall gebundener Ligandenmoleküle erwartet würde⁸. Dies ist ein Hinweis darauf, dass eventuell weitere Moleküle an die unterste Schicht von Liganden gebunden sind. Dies könnten zum Beispiel Moleküle des Lösemittels (Toluol) oder überschüssige Ligandenmoleküle sein. Eine offene Frage aus diesem Experiment ist, weshalb der Höhenkontrast der Nanokristalle in beiden Modi sehr ähnlich ausfällt. Prinzipiell sollte der Höhenkontrast für den Fall, dass die Ligandenhülle mit vermessen wird, etwas höher ausfallen, allerdings hängt die gemessene Höhe noch von vielen weiteren Messparametern ab (siehe Kapitel 2.1.3.3), welche für das Phänomen verantwortlich sein könnten.

Die Beobachtung der Ringstruktur um die Nanokristalle lässt sich auch im Phasenbild nachweisen (siehe Anhang A.3). Im Bereich des Ringes wird im Vergleich zum Muskovit-substrat eine erhöhte und auf den Nanokristallen eine verringerte Phasenverschiebung detektiert. Dies stimmt gut mit der Interpretation überein, dass die Wechselwirkung im Bereich der Ringstruktur vor allem mit organischen Molekülen der Ligandenhülle stattfindet, was zu einer Erhöhung der Phase führt (ein Hinweis auf stärkere attraktive Kräfte in dieser Region). Generell enthält das Phasenbild im repulsiven Modus sehr viel mehr Informationen, nicht nur das Auflösen der Ringstruktur um den Kristall. Auch auf dem Muskovit-Untergrund sind Strukturen zu erkennen, welche im Phasenbild des attraktiven Modus nicht erkennbar sind. Im attraktiven Modus sind die Untergrund-Strukturen des Muskovit stattdessen im Höhenbild aufgelöst. Das Phasenbild ist hingegen beherrscht von einem etwas größerem Rauschen und lediglich an den Kanten der Nanokristalle mit Hülle sind systematische, von der Rasterungsrichtung abhängige Strukturen zu erkennen (ausgelöst durch die inhärente Trägheit des Regelkreises des Rasterkraftmikroskops). Eine Ursache könnte sein, dass es bei den gewählten Messbedingungen im repulsiven Modus im Vergleich zum attraktiven Modus zu einer erhöhten Energiedissipation der Cantileverschwingung kommt [173, 174]. Die Oberflächenstrukturen auf dem Muskovit werden im repulsiven Modus hauptsächlich durch leichte Unterschiede in der Energiedissipation aufgelöst, im attraktiven Modus jedoch direkt topografisch. Die Energiedissipation bei der Wechselwirkung des Cantilevers mit der Probe im attraktiven Modus ist trotz Unterschieden in Topografie und Material dabei so gering, dass das gesamte Bild vom Rauschen dominiert ist.

Diese Hinweise auf die stark verringerte Energiedissipation im attraktiven Modus bei der Wechselwirkung des Cantilevers mit dem wohlbekannten Modellsystem der CdSe/CdS/ZnS-Nanokristalle und die Beobachtung, dass die Ligandenhülle der Nanokristalle mit aufgelöst wird, weisen daraufhin, dass die Vermessung einer Probe bei den gewählten Messparametern tatsächlich weniger invasiv sein sollte als im repulsiven Modus. Dies sollte also die Wahrscheinlichkeit der Beschädigung von Cantileverspitze und Molekülen während der

⁸Für den Ligand Oleylamin kann aufgrund der Molekülgeometrie und dem Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindungsabstand von ca. 150pm [260] eine Länge von ca. 2nm erwartet werden. Die anderen Liganden, z.B. Ölsäure oder Octadecen sind ähnlich groß.

Messung signifikant verringern und eine bessere Vergleichbarkeit der Messungen vor und nach der Photoisomerisierung, sowie der Moleküle untereinander ermöglichen. Aus diesem Grund wurden die Messungen zum Größenvergleich der Moleküle vor und nach der Bestrahlung zur Induzierung der Photoisomerisierung im attraktiven Regime des intermittierenden Kontaktmodus des Rasterkraftmikroskops ausgeführt.

5.2.2 Identifizierung der Dendrimere auf Muskovit und systematische Untersuchung der photoinduzierten Größenänderung

Für die Detektion der Größenveränderung bei individuellen PDI-Polyphenyl-Dendrimern nach einer induzierten Photoisomerisation wurden diese auf einer frisch gespaltenen Muskovitoberfläche aufgebracht. Die Präparation der Muskovitsubstrate und die Aufbringung der Moleküle auf der Oberfläche mit einem Rotationsbeschichter wurde nach den in Kapitel 3.3 beschriebenen Prozeduren durchgeführt. Nach dem Einbau der Proben wurden die beschriebenen Verfahren zur Temperaturstabilisierung und zur gegenseitigen Ausrichtung von optischer Achse und Cantileverspitze durchgeführt (siehe Kapitel 3.1.3.3 und 3.1.3.4). Alle Versuche wurden unter Verwendung eines Luftspaltobjektivs durchgeführt. Die benutzten Cantilever waren vom Modell SSS-FMR von Nanosensors. Zur Anregung der PDI-Kerne der Dendrimere wurde eine Leistungsdichte von ca. 5300 W/cm^2 bei 532 nm Wellenlänge gewählt. Ein konstanter Argon-Strom von $10\text{-}15 \text{ ml/min}$ sorgte für eine Flutung des Probenraums zwischen Cantileverhalterung und Probenhalterung. Als Resultat aus den vorbereitenden Messungen in Kapitel 5.2.1.2 wurden alle Messungen in diesem Teil der Experimente im attraktiven Regime des intermittierenden Kontaktmodus des Rasterkraftmikroskops erhalten. Das wurde erreicht, indem der Cantilever etwas oberhalb der Resonanzfrequenz zur Schwingung angeregt wurde und im Vergleich zu Messungen im repulsiven Regime kleinere Amplituden der freien Oszillation gewählt wurden (typischerweise ca. 8 nm).

Durch die Benutzung des intermittierenden Kontaktmodus im attraktiven Regime konnte neben einer zuverlässigeren Auflösung der einzelnen adsorbierten PDI-Polyphenyl-Dendrimere und geringerer Wahrscheinlichkeit diese zu beschädigen auch eine in nachfolgenden Aufnahmen reproduzierbare Oberflächentopografie der Muskovitoberfläche erhalten werden. Die maximalen Unterschiede zwischen Erhebungen und Vertiefungen betragen bei dieser in der Regel etwa 200 pm . Diese Oberflächentopografie ist vermutlich in erster Linie auf Wasser- und Salzablagerungen zurückzuführen, welche durch die Reaktion der Oberflächenladungen mit CO_2 und H_2O aus der Atmosphärenluft entstanden sind (siehe dazu Kapitel 3.3.1) [243, 244]. Diese Oberflächenstruktur des Muskovitsubstrats war bei Messungen im repulsiven Regime des intermittierenden Kontaktmodus in der Regel nicht im Topografiebild auflösbar. Die in früheren Publikationen [243, 244] beschriebene Beobachtung, dass in Atmosphäre gespaltenes Muskovit nicht als atomar flach angesehen werden kann, konnte in dieser Messreihe demnach bestätigt werden.

Nach genügender Temperaturstabilisierung des Messaufbaus wurden Experimente zur Beobachtung der photoinduzierten Schaltung individueller Dendrimere durchgeführt, deren einzelne Arbeitsschritte im Folgenden erläutert werden. Zunächst wurde ein Emissionsspektrum am Ort eines Fluoreszenzemitters aufgenommen (Anregung: $\approx 5300\text{W}/\text{cm}^2$ bei 532nm , Integrationszeit: $1 - 5\text{s}$), um zu verifizieren, dass das beobachtete Fluoreszenzsignal von einem der PDI-Polyphenyl-Dendrimere stammt und nicht von einer der seltenen, aber vorkommenden fluoreszierenden Kontaminationen. Danach wurde ein Topografiebild mit dem Rasterkraftmikroskop aufgenommen ($1 \times 1 \mu\text{m}$, 512×512 Bildpunkte, Abtastrate $0,5\text{Hz}$), zentriert über der Mitte des Fluoreszenzflecks im Konfokalbild. Wenn die gegenseitige Ausrichtung der Mikroskope erfolgreich war, befand sich in der Bildmitte dieses Höhenbildes eine Erhebung, deren Parameter im Erwartungsbereich für die detektierten Dendrimere war (siehe dazu Abbildung 5.8). Zentriert über der Position dieser Erhebung wurde nun die in Kapitel 3.4.2 beschriebene Prozedur zur Messung der Größenparameter vor und nach der Photoschaltung der Azobenzolgruppen durchgeführt. Aufgrund der Annahme, dass sich das Dendrimer - laut den Erkenntnissen der Charakterisierung im Ensemble (siehe Kapitel 3.2.1) und den Ergebnissen der Versuche in Kapitel 5.1 - normalerweise in der thermisch stabilen *all-trans* Konfiguration befindet, wurde dabei in der Regel zunächst zur Induzierung der *trans*-zu-*cis*-Photoisomerisation mit ultraviolettem Licht (375nm , im Durchschnitt: $\approx 550\text{W}/\text{cm}^2$ ⁹ variiert. Ca. $550\text{W}/\text{cm}^2$ war die durchschnittliche Leistungsdichte, die verwendet wurde.) bestrahlt. Darauf wurden die Azobenzolgruppen dann mit Licht bei 445nm ($\approx 650\text{W}/\text{cm}^2$) angeregt, um die Rückreaktion der Photoisomerisierung auszulösen. Insgesamt wurden jeweils 8 Topografiebilder des untersuchten Dendrimers vor der ersten Bestrahlung und nach der Bestrahlung bei 375nm und nach der Bestrahlung bei 445nm gemessen.

In seltenen Fällen wurde von dem oben beschriebenen Vorgehen abgewichen, zum Beispiel indem die Reihenfolge der Bestrahlungen getauscht wurde, oder indem anschließend weitere Schaltungen der Moleküle versucht wurden. Auch die Bestrahlungsstärke bei der Induktion der Photoisomerisierungsvorgänge wurde in einigen Fällen variiert. Das abweichende Vorgehen in solchen Fällen wird bei der Diskussion der jeweiligen Ergebnisse gesondert erwähnt. Insgesamt wurden 25 individuelle Moleküle des Polyphenyl-PDI-Dendrimers auf die beschriebene Art und Weise untersucht. Bei 23 davon erfolgte dann die Bestrahlung mit ultraviolettem Licht, gefolgt von der Bestrahlung mit blauem Licht. In zwei von diesen 23 Fällen wurde anschließend noch einmal jeweils mit ultraviolettem Licht, gefolgt von blauem Licht die Hin- und Rückreaktion am selben Molekül versucht. In zwei weiteren Fällen wurde nur noch einmal mit ultraviolettem Licht bestrahlt. Zwei der 25 Moleküle wurden in einer Umkehr des üblichen Vorganges zunächst mit blauem Licht bestrahlt und dann mit ultraviolettem Licht und beide Vorgänge anschließend wiederholt.

⁹Die Anregungsleistungsdichte der ultravioletten Bestrahlung wurde im Laufe der Versuchsreihe zwischen $\approx 150\text{W}/\text{cm}^2$ und $\approx 925\text{W}/\text{cm}^2$

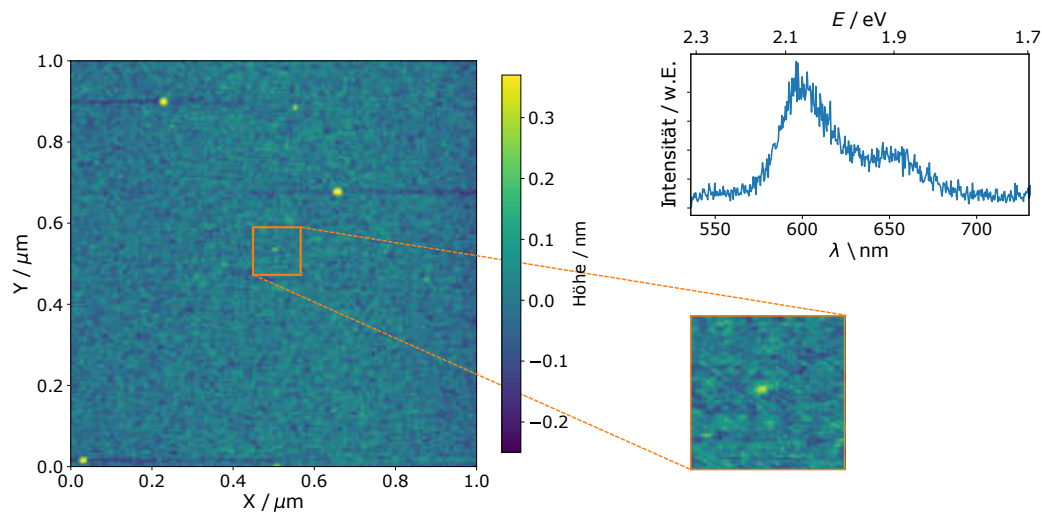


Abbildung 5.8: Topografiebild zentriert über der Position eines Fluoreszenzflecks (links). In der Bildmitte befindet sich eine Erhebung (Vergrößerung des Ausschnitts rechts unten zur besseren Ersichtlichkeit), welche dem Molekül zugeordnet werden kann. Zuvor wurde ein Emissionsspektrum (Anregung: $\approx 5300\text{W}/\text{cm}^2$ bei 532nm , Integrationszeit: 2s) am Ort des Fluoreszenzflecks aufgezeichnet (rechts oben), um zu bestätigen, dass es sich um die Emission eines der untersuchten Dendrimere handelt.

5.2.3 Vergleich der Moleküle vor und nach den Bestrahlungsvorgängen

Es wird nun betrachtet, welche Änderungen in der Topografie der adsorbierten Moleküle nach den Bestrahlungsvorgängen gefunden wurden. Nach der Beschreibung der Beobachtungen wird ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Größe der Moleküle auf der Oberfläche beschrieben und die Ergebnisse vor und nach den Bestrahlungsvorgängen verglichen. Anschließend werden kurz die Effekte der Schaltvorgänge auf die spektroskopischen Eigenschaften der Moleküle, sowie auf die Position der Moleküle betrachtet.

5.2.3.1 Qualitative Beschreibung der beobachteten Topografie vor und nach den Bestrahlungsvorgängen

Die jeweils acht Topografiebilder, welche vor dem ersten Schaltvorgang auf die in Kapitel 3.4.2 beschriebene Art erhalten wurden, zeigen die dem Molekül zugeordnete Erhebung etwa mittig auf dem $150 \times 150\text{ nm}$ großen Bildausschnitt. Die Erhebung ragte dabei typischerweise wenige hundert Pikometer aus der Untergrundtopografie des Muskovits hervor. Im betrachteten Größenbereich waren die statistischen Schwankungen der Höhenwerte durch thermisches Rauschen und verbliebenes Systemrauschen allerdings nicht vernachlässigbar, so dass der Höhenkontrast des Moleküls und auch der Untergrundtopografie zwischen den einzelnen Bildern einer Messreihe signifikant fluktuieren konnte. In diesen hochauflösenden Messeinstellungen war die Erhebung jedoch dennoch zuverlässig vom Untergrund des Substrats zu unterscheiden. Auch relevante Erhebungen und Vertiefungen der Untergrundtopografie konnten trotz Rauschens verlässlich in den Bildern der Messreihe

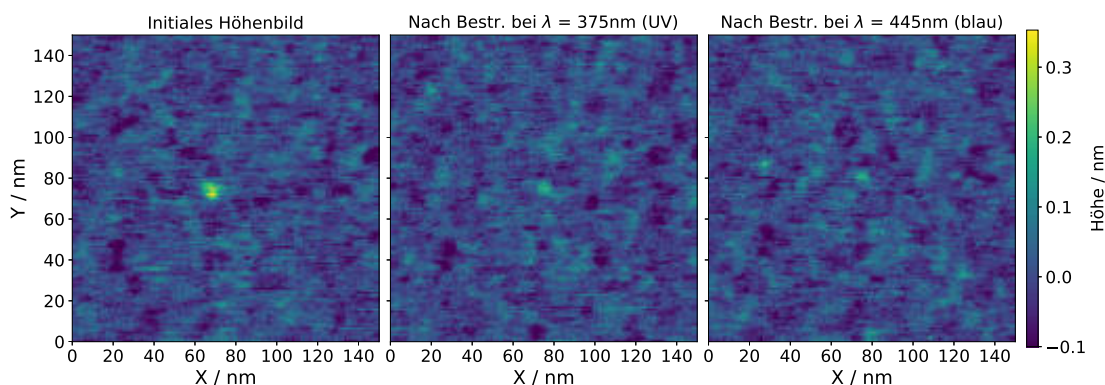


Abbildung 5.9: Vergleich von Topografiebildern an der Position eines individuellen Dendrimer-Moleküls vor (links) und nach der Bestrahlung mit ultraviolettem (Mitte) bzw. blauem Licht (rechts). Trotz signifikantem thermischen Rauschen ist das Molekül vor dem Bestrahlungsvorgang als größte Erhebung über der Untergrundtopografie in der Bildmitte zu erkennen. Nach der Bestrahlung mit ultraviolettem Licht hat sich der gemessene Höhenkontrast des Moleküls erheblich verkleinert und er liegt nur noch gering über den Erhebungen der Untergrundtopografie. Merkmale der Untergrundtopografie, die trotz des Rauschens erkannt werden können, dienen jedoch als deutlicher Beleg, dass diese verkleinerte Erhebung an der gleichen Position zu finden ist, wie die Erhebung vor der Bestrahlung. Eine Bestrahlung mit blauem Licht führte zu keiner weiteren Veränderung des Moleküls.

wiedererkannt werden (siehe links in Abbildung 5.9 für ein Beispiel eines Höhenbildes vor Induzierung einer Photoisomerisierung).

Nach der Induzierung der Photoisomerisierung mit ultraviolettem Licht war die Erhebung in der Regel signifikant kleiner, sowohl im gemessenen Höhenkontrast, als auch in den lateralen Dimensionen. Dies entspricht der qualitativen Erwartung der Photoisomerisierung von einer *all-trans*-Konfiguration zu einem Isomer mit hohem *cis*-Azobenzol-Anteil. Häufig lag dabei die maximale gemessene Höhe des Moleküls nun nur noch sehr geringfügig über den maximalen Erhebungen der Untergrundtopografie. Signifikante Erhebungen und Vertiefungen der Untergrundtopografie konnten jedoch hier als Orientierungshilfe verwendet werden, um die Position des Moleküls auch in verkleinert Form nach dem Schaltvorgang trotz thermischer Drift der gesamten Probe mit hoher Sicherheit wiederzufinden. Die verkleinerte Erhebung des nach der Photoisomerisierung geschrumpften Dendrimer-Moleküls konnte dann etwa an dieser relativen Position gefunden werden und dem Molekül zugeordnet werden (siehe mittleres Bild in Abbildung 5.9). In wenigen Fällen befand sich die Erhebung nach dem Bestrahlungsvorgang um wenige Nanometer versetzt zur ursprünglichen Position des Moleküls (siehe Kapitel 5.2.3.5). Dies ist in guter Übereinstimmung mit den Beobachtungen der polarisationsaufgelösten Detektion der Photoschaltung (Kapitel 5.1). Durch die Bewegung der äußeren Substituenten des Moleküls bei der Photoisomerisierung des Azobenzolgruppe zum *cis*-Isomer erscheint eine geringe Positionsveränderung des Moleküls durch die Photoschaltung wahrscheinlich.

Nach dem anschließenden Bestrahlungsvorgang mit blauem Licht bei 445nm änderten sich in erster Abschätzung der Höhenkontrast und die lateralen Ausdehnungen des Moleküls nur

unwesentlich. Die gemessene Höhe und die ungefähre laterale Ausdehnung des Moleküls auf Muskovit waren - soweit dies in Gegenwart des thermischen Rauschens erkennbar war - sehr ähnlich zu jenen vor der Bestrahlung bei 445nm. Auch wurden hier keine Lageänderungen beobachtet. Dies weist daraufhin, dass das Auslösen der Rückreaktion der Photoisomerisierung unter den Messbedingungen nicht oder nur bei einem sehr kleinen Teil der Azobenzolgruppen eines Moleküls stattgefunden hat.

5.2.3.2 Bestimmung der Größenparameter der Moleküle

Zur Quantifizierung dieser Beobachtungen wurden nun die Größenparameter der Moleküle vor und nach den jeweiligen Bestrahlungsvorgängen aus den Topografiebildern bestimmt und verglichen. Die statistischen Schwankungen der Höhenwerte waren jedoch nicht vernachlässigbar, wodurch insbesondere die Grenzen der lateralen Ausdehnung der Moleküle und der Beginn des Muskovit-Untergrundes nicht eindeutig zu definieren waren. Auch unterlagen die maximalen Höhenwerte der Moleküle signifikanten Schwankungen zwischen den acht Einzelbildern jeder aufgenommenen Bilderserie. Dies fiel insbesondere bei den Topografiebildern ins Gewicht, welche nach der Bestrahlung bei 375nm aufgenommen wurden, da dort die erhaltenen Höhenwerte der Moleküle nur sehr gering über denen des Untergrundes lagen.

Um den Einfluss des Rauschens auf die Topografie zu minimieren und damit eine genauere Bestimmung der Größenparameter zu ermöglichen, wurde deshalb aus den jeweils acht Einzelbildern jeder Bilderserie jeweils ein Durchschnittstopografiebild des Moleküls und dessen direkter Umgebung gebildet. Da es aufgrund schwacher, aber vorhandener thermischer Drift zwischen den Aufnahmen der einzelnen Bilder zu einer leichten Verschiebung der relativen Position von Cantilever und Probe kommen konnte, musste dazu zunächst die relative Verschiebung zwischen den Bildaufnahmen ermittelt werden. Zu diesem Zweck wurde jeweils eine zweidimensionale Korrelationsmatrix zwischen dem ersten Bild jeder Messreihe und den jeweiligen darauffolgenden Bildern ermittelt. Die Bestimmung der Korrelation erfolgte durch die Berechnung des Pearson-Korrelationskoeffizienten $p_{corr}(i, j)$ nach Formel 5.4 mit den Höhenwerten h_1 und h_2 aus den beiden Topografiebildern, bzw. deren Mittelwerten \bar{h}_1 und \bar{h}_2 und der relativen Bildpunkt-weisen Verschiebung i und j in x - und y -Richtung der Bilder zueinander.

$$p_{corr}(ij) = \frac{\sum_{x,y} (h_1(x,y) - \bar{h}_1) \cdot (h_2(x+i, y+j) - \bar{h}_2)}{\sqrt{\sum_{x,y} (h_1(x,y) - \bar{h}_1)^2 \cdot \sum_{x,y} (h_2(x+i, y+j) - \bar{h}_2)^2}} \quad (5.4)$$

Die relative Positionierung der beiden Topografiebilder zur Erstellung der Korrelationsmatrix erfolgte über einen Bereich von jeweils 50 Bildpunkten in positive und negative Richtung in beiden lateralen Achsen. Die Position des Maximums der Korrelationsmatrix zeigte die Stelle mit der größten statistischen Übereinstimmung der beiden Bilder an. Die relative

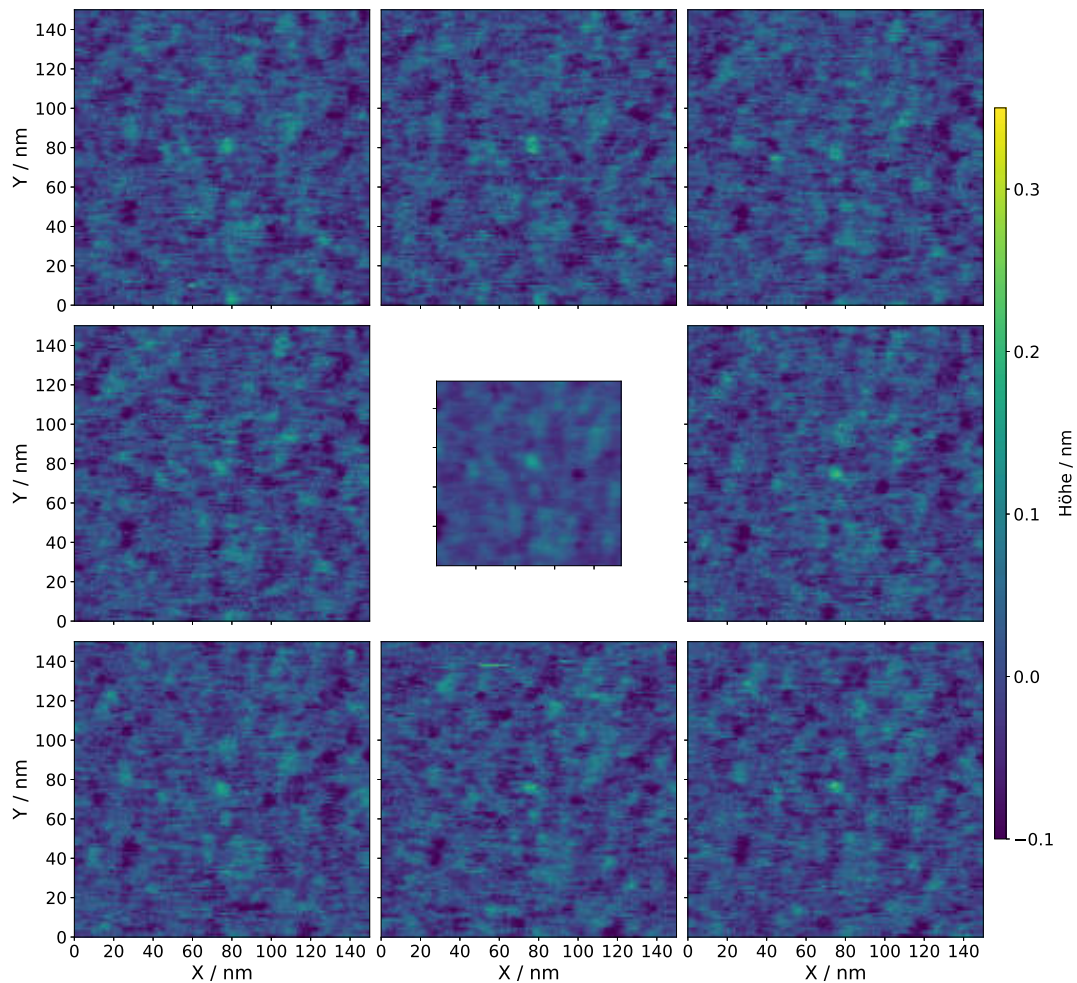


Abbildung 5.10: Gegenüberstellung der acht Einzelbilder einer Bilderserie des selben Moleküls (Bilder am Rand) mit dem daraus ermittelten Durchschnittstopografiebild eines Ausschnitts um die Position des Moleküls (Mitte). Es handelt sich um die Bilderreihe nach Bestrahlung bei 375nm aus Abbildung 5.9. Messwertschwankungen des Höhenwertes durch thermisches Rauschen und Systemoszillation werden effektiv verringert. Die laterale Ausdehnung eines Moleküls ist auch dann klarer zu erkennen, wenn die Höhenwerte nur knapp über denen des Untergrundes liegen. Die Topografie des Untergrundes ist nun auch detailreicher abgebildet. Für das gleiche Molekül finden sich im Anhang A.4 die Bilderserien und daraus erhaltenen Durchschnittstopografiebilder für die Zeit vor der Bestrahlung mit UV-Licht (375nm), bzw. nach der Bestrahlung bei 445nm.

Position dieses Maximums zur Position $i, j = 0$ diente zur Ermittlung der Verschiebung durch thermische Drift. Nun wurden übereinstimmende Ausschnitte (typischerweise 80×80 Bildpunkte) aller Bilder einer Messreihe gewählt. Die Position des ersten Bildes einer Messreihe galt dabei als Bezugspunkt. Die Ausschnitte der sieben darauffolgenden Bilder wurden anhand ihrer durch die Korrelationsmatrix ermittelten Verschiebungsparameter relativ zum ersten Bild ausgewählt. Aus diesen Ausschnitten wurde dann für jede Position das arithmetische Mittel der Höhenwerte gebildet. Ein Beispiel aller acht Einzelbilder und des daraus erhaltenen Durchschnittstopografiebilds für ein Molekül nach der Photoschaltung bei 375nm findet sich in Abbildung 5.10 (Analoge Abbildungen für das gleiche

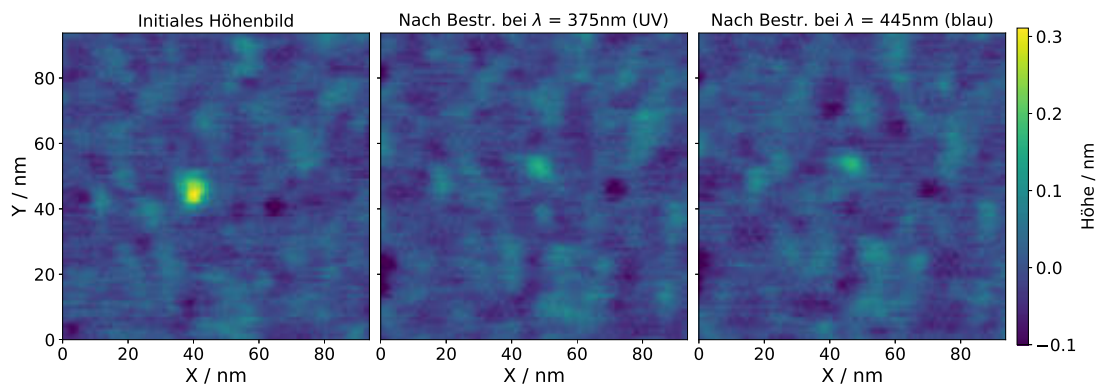


Abbildung 5.11: Topografiebilder an der Position eines Moleküls vor (links) und nach der Bestrahlung mit ultraviolettem Licht (Mitte) und blauem Licht (rechts), erhalten als arithmetisches Mittel aller 8 Bilder der jeweiligen Messreihe. Das Ausmaß der thermischen Drift zwischen den Bildaufnahmen wurde vorher durch eine Korrelationsmatrix ermittelt. Das abgebildete Molekül ist das gleiche wie in Abbildung 5.9

Molekül vor der Bestrahlung mit ultraviolettem Licht und nach jener mit blauem können im Anhang A.4 gefunden werden).

In einem kleinen Teil der Höhenbilder der Messreihen fanden sich Liniendefekte parallel zur schnellen Rasterungsrichtung. Hierbei handelt es sich um ein häufiges Messartefakt bei Rasterkraftmikroskopie, typischerweise verursacht durch einzelne stärkere Erschütterungen oder akustische Störungen. Treten Liniendefekte mit sehr starken negativen oder positiven Ausschlägen in zwei oder mehr Bildern einer Messreihe auf, können diese bei der Ermittlung der Korrelationsmatrix zu starken positiven Korrelationswerten führen an Stellen, welche nicht der größten statistischen Übereinstimmung der Topografie entsprechen. Stattdessen markieren diese die Übereinstimmung der Position der Liniendefekte. Aus diesem Grund wurden Liniendefekte mit Ausschlägen größer als das vermessene Molekül entfernt, in dem die betroffene Messzeile durch Mittelwerte der Nachbarzeilen ersetzt wurde.

In den gemittelten Topografien waren statistische Messwertschwankungen deutlich verringert. Die den Molekülen zugeordneten Erhebungen, sowie die Merkmale der Untergrundtopografie hatten definiertere Kanten und waren durch die Minimierung des Rauschens zuverlässiger erkennbar (siehe Beispiele in Abbildung 5.11). Dies gilt insbesondere für die Moleküle nach den Bestrahlungsvorgängen, welche sich nun stärker von der Untergrundtopografie abheben.

Aus den erhaltenen Durchschnittsbildern der Messreihen wurden nun die maximalen Höhenwerte der Erhebungen der Moleküle ausgelesen. Als Bezugspunkt für den Höhenkontrast der Moleküle wurde der Mittelwert des Untergrundes als $h_z = 0$ definiert. Die Bestimmung des Mittelwerts des Untergrundes erfolgte, in dem zunächst ein rechteckiger Ausschnitt an Datenpunkten um die Position des Moleküls ausgewählt wurde (siehe Teil A in Abbildung 5.12)¹⁰. Die Bestimmung des Mittelwert des Untergrundes erfolgte dann

¹⁰Die Auswahl wurde rechteckig gewählt, da dies einfach innerhalb der Höhenwertmatrix zu definieren war

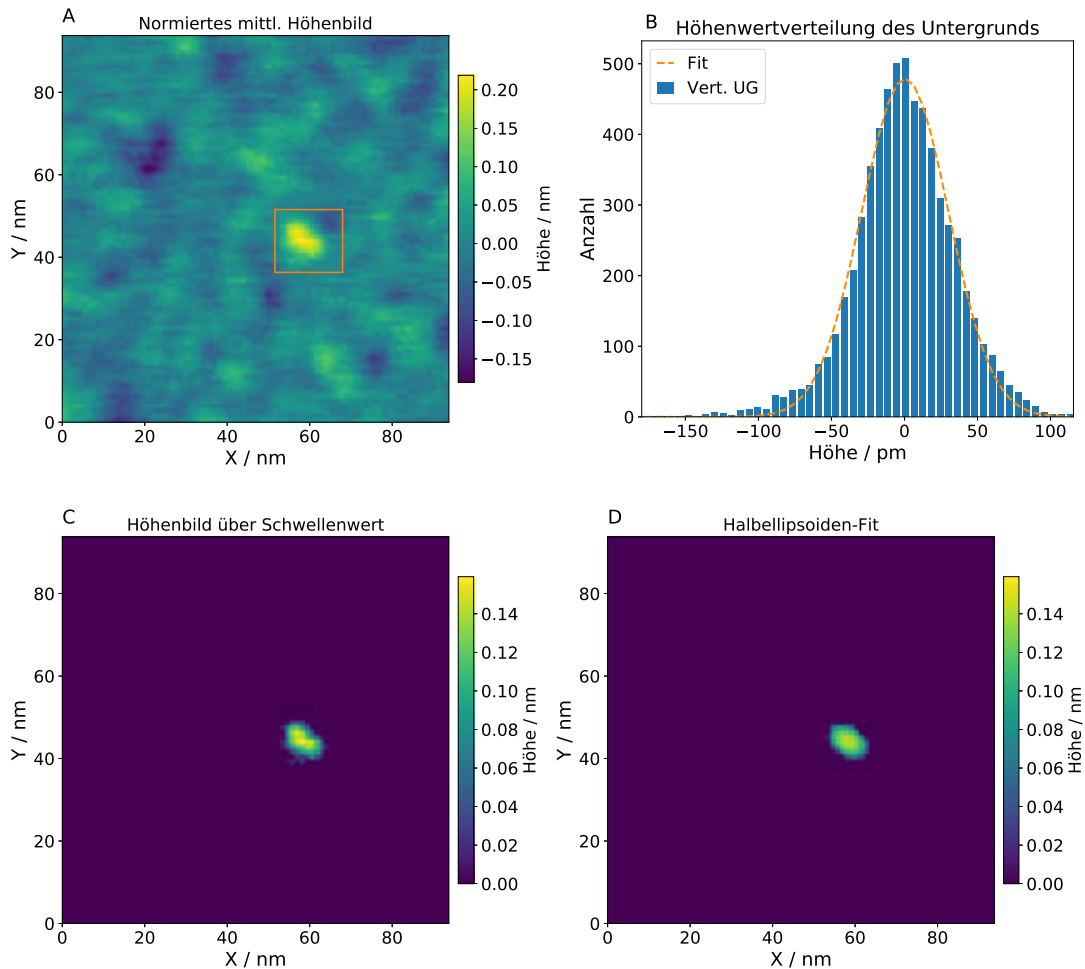


Abbildung 5.12: Kantenbestimmung des Moleküls im Topografiebild über Definieren eines Schwellenwertes und Anpassen eines Halbellipsoiden an die Messdaten oberhalb des Schwellenwertes. A: Rechteckige Auswahl um die Position eines Moleküls auf der Muskovitoberfläche. B: Als Schwellenwert wird die zweifache Standardabweichung der Normalverteilung festgelegt, welche durch eine Ausgleichsrechnung an die Verteilung der Höhenwerte der Untergrundtopografie außerhalb der rechteckigen Auswahl um das Molekül angepasst wurde. C: Höhenwertmatrix der Topografie eines Moleküls oberhalb des Schwellenwertes zur Kantenfindung. D: Halbellipsoid-Funktion deren Parameter durch eine Ausgleichsrechnung an die Datenpunkte der Höhenwertmatrix erhalten wurden.

aus allen Datenpunkten außerhalb dieser rechteckigen Auswahl. Der erhaltene Wert wurde dann von allen Datenpunkten des Bildes abgezogen. Die Ermittlung des maximalen Wertes erfolgte dann anschließend aus den Datenpunkten innerhalb dieser Auswahl.

Neben den Höhenwertmaxima wurden als weitere Größenparameter eine Abschätzung der lateralen Dimensionen sowie des Volumens der Moleküle im Topografiebild vorgenommen. Zu diesem Zweck wurde zunächst die Kante der Erhebung des Moleküls im Topografiebild definiert. Dazu wurde als Schwellenwert die zweifache Standardabweichung der Höhenwerte der Untergrundtopografie außerhalb der beschriebenen rechteckigen Auswahl um das Molekül festgelegt. Die Bestimmung erfolgte durch die Annäherung einer Normalverteilung

an die Verteilung der Höhenwerte (siehe Teile A und B in Abbildung 5.12) durch eine Ausgleichsrechnung. Die statistische Chance, dass ein Wert des Untergrundes oberhalb dieses Schwellenwertes liegt, ist damit kleiner als 5%. Alle Datenpunkte innerhalb der rechteckigen Auswahl oberhalb dieses Schwellenwertes wurde der Erhebung des Moleküls zugehörig definiert. Im nächsten Schritt wurde dann von den Datenpunkten, welche auf diese Weise dem Molekül zugeordnet wurden, der Schwellenwert abgezogen. Alle anderen Punkte der Topografie wurden auf $h = 0$ gesetzt. Daraus wurde eine Höhenwertmatrix erhalten, welche ausschließlich die Topografie des Moleküls oberhalb des Schwellenwertes, welcher die Kante definiert, abbildet (siehe Abbildung 5.12 Teil C). Anhand dieser Höhenwertmatrix können nun die laterale Ausdehnung und das Volumen eines Dendrimer-Moleküls abgeschätzt werden. Dazu wurde ein Halbellipsoid mit einer Ausgleichsrechnung an diese Messdaten angenähert. Ein Halbellipsoid ist dabei ein Kompromiss zwischen einer einfachen geometrischen Form und dennoch genügend Freiheitsgraden. Die beiden lateralen Achsen des Halbellipsoiden a und b , liegen in der Rasterungsebene (x,y -Ebene) des Mikroskops und stehen in einem Winkel ϕ zu den Rasterungsrichtungen entlang der x -, bzw. y -Achse. Es erfolgt daher ein Koordinatentransfer nach Gleichungen 5.5 und 5.6.

$$a(x, y, \phi) = x \cdot \cos \phi + y \cdot \sin \phi \quad (5.5)$$

$$b(x, y, \phi) = -x \cdot \sin \phi + y \cdot \cos \phi \quad (5.6)$$

Der Funktion des Halbellipsoiden wird mit Gleichung 5.8 beschrieben. Die Kenngrößen r_a und r_b sind die Radien entlang der transferierten Achsen a und b , r_h steht für den Radius senkrecht zur Rasterungsebene und entspricht der maximalen Höhe des Halbellipsoiden. Der Parameter R_{def} (Gleichung 5.7) ergibt sich aus dem Definitionsbereich eines Halbellipsoiden. Jede Kombination aus x - und y -Koordinaten, welche ein $R_{def} > 1$ liefert, liegt außerhalb der von r_a und r_b gegebenen Grenzen des Ellipsoiden in der x,y -Ebene. Diesen Koordinaten wird der Höhenwert $h_z(x, y) = 0$ zugeordnet. Das Zentrum des Halbellipsoiden in der x,y -Ebene ist durch die Koordinaten des Ortsvektors x_0 und y_0 gegeben, bzw. aus den daraus errechneten Größen a_0 und b_0 .

$$R_{def} = \frac{(a(x, y, \phi) - a_0(x_0, y_0, \phi))^2}{r_a^2} + \frac{(b(x, y, \phi) - b_0(x_0, y_0, \phi))^2}{r_b^2} \quad (5.7)$$

$$h_z(x, y) = \begin{cases} \sqrt{1 - \frac{(a(x, y, \phi) - a_0(x_0, y_0, \phi))^2}{r_a^2} - \frac{(b(x, y, \phi) - b_0(x_0, y_0, \phi))^2}{r_b^2}} \cdot r_h & \text{wenn } R_{def} \leq 1 \\ 0 & \text{wenn } R_{def} > 1 \end{cases} \quad (5.8)$$

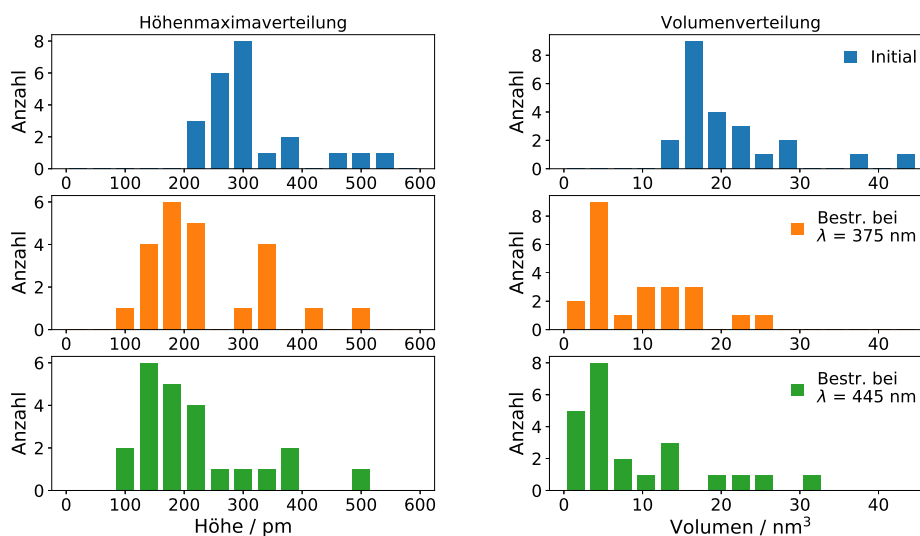


Abbildung 5.13: Histogramme der Verteilungen von maximalem Höhenwert (links) und berechnetem Volumen (rechts) der Moleküle. In der oberen Zeile finden sich die Verteilungen vor der Initiierung einer Photoisomerisierung, in der mittleren bzw. unteren Zeile die Verteilungen nach Bestrahlung mit ultraviolettem Licht bei 375 nm bzw. der sukzessiven Bestrahlung mit blauem Licht bei 445 nm.

Ein Beispiel für einen durch eine Ausgleichsrechnung¹¹ an die Messdaten angenäherten Halbellipsoiden findet sich unten in Abbildung 5.12. Die aus der Ausgleichsrechnung erhaltenen Parameter r_a und r_b sind ein Maß für die laterale Ausdehnung der topografischen Erhebung des Moleküls. Aus ihnen lässt sich eine Flächenprojektion errechnen, sowie ein Aspektverhältnis aus kurzer und langer Achse. Zusätzlich mit dem Parameter r_h kann außerdem eine Abschätzung des Volumens vorgenommen werden. Hier wird das Volumen eines Ellipsoids mit den Radien r_a , r_b und r_h zu Grunde gelegt (siehe Gleichung 5.9). Somit wird für diese Abschätzung postuliert, dass der Teil des Moleküls unterhalb des kalkulierten Schwellenwertes zur Kantenfindung ein äquivalentes Volumen besitzt, wie der Teil darüber.

$$V_{ell} = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r_a \cdot r_b \cdot r_h \quad (5.9)$$

5.2.3.3 Vergleich der Größenparameter vor und nach den Bestrahlungsvorgängen

Im Folgenden werden zunächst die Ergebnisse der Berechnung der Größenparameter der Moleküle vorgestellt, bei denen zuerst eine Bestrahlung mit ultraviolettem Licht zur Induzierung der *trans-zu-cis*-Photoisomerisierung durchgeführt wurde, gefolgt von einer Bestrahlung mit blauem Licht, um die Rückreaktion auszulösen. Anschließend werden die wenigen Fälle betrachtet, bei denen von dieser Reihenfolge abgewichen wurde.

¹¹Die Ausgleichsrechnung zur Anpassung der Halbellipsoidenfunktion an die Höhenwertmatrix erfolgte mittels der Methode der Minimierung der Abweichungsquadrate durch den Nelder-Mead-Algorithmus [261].

In Abbildungen 5.13 und 5.14 sind die Verteilungen der erhaltenen Größenparameter (maximale Höhe, Radien der lateralen Ausdehnung und Volumen¹²) der Moleküle vor und jeweils nach den sukzessiven Bestrahlungen graphisch aufgetragen. Die relativen Veränderungen der betrachteten Größenparameter nach Initiierung der Photoisomerisierung mit ultraviolettem bzw. blauem Licht sind als Histogramme der Verteilungen in Abbildung 5.15 zu finden. Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardabweichung der Verteilungen vor und jeweils nach den sukzessiven Bestrahlungen sind in Tabelle 5.3 zu finden. Da in einigen Fällen die Verteilungen eine deutliche Asymmetrie zeigten, ist zusätzlich auch der Median angegeben.

Die erhaltenen Höhenwerte h_{max} der Moleküle in ihrer Ausgangslage, also vor der Durchführung eines Bestrahlungsvorganges, streuten um einen Mittelwert von $318\text{pm} \pm 79\text{pm}$. Keines der Moleküle hatte dabei ein Höhenwertmaximum kleiner als 200pm , zu größeren Werten gab es einzelne Ausreißer mit Höhenwerten $h_{max} > 500\text{pm}$ (siehe Abbildung 5.13). Die erhaltenen Werte für den Höhenkontrast lagen damit deutlich unterhalb der Werte, welche aufgrund des hydrodynamischen Radius' von $3,6\text{nm}$ (siehe Kapitel 3.2.1) für Dendrimere in der *all-trans*-Konfiguration erwartet wurden. Dieser Trend gilt auch für die Höhenwerte, welche nach den sukzessiven Bestrahlungen erhalten wurden.

Die Radien r_a und r_b des an die Daten angenäherten Ellipsoiden, deren Achsen parallel zur x,y -Ebene verlaufen, sind ein Maß für die laterale Ausdehnung der Moleküle auf der Substratoberfläche. Wie aus den Messungen in Kapitel 5.1 hervorgeht und wie es auch bei diesen Experimenten beobachtet wurde (siehe Kapitel 5.2.3.5), sind kleine Bewegungen der Moleküle relativ zur Substratoberfläche bei der Photoisomerisierung zu erwarten. Es kann daher keine Zuordnung der lateralen Achsen des Moleküls auf der Oberfläche vor der Photoisomerisierung zu denen danach getroffen werden. Es werden daher in Folge stets die kurzen Achsen bzw. die langen Achsen vor und nach der Photoisomerisierung miteinander verglichen.

Der Mittelwert des Radius der längeren Achse r_a beträgt vor der Durchführung eines Bestrahlungsvorganges $5,6\text{nm} \pm 0,5\text{nm}$, der des kürzeren $4,5\text{nm} \pm 0,3\text{nm}$. Eine gegenseitige Auftragung der Werte für beide Achsen findet sich auf der linken Seite in Abbildung 5.14. Die mittleren Werte für beide laterale Achsen der Dendrimer-Moleküle lagen damit im Bereich der Erwartungen aufgrund des hydrodynamischen Radius von $3,6\text{nm}$ unter der Berücksichtigung einer vermuteten lateralen Verbreiterung bei der Abbildung durch das Rasterkraftmikroskop wegen den Dimensionen des Cantileverspitzenapex'. Der signifikante Unterschied zwischen den Werten für beide laterale Achsen entspricht einem mittleren Aspektverhältnis von $0,81 \pm 0,08$. Eine mögliche Erklärung für das Abweichen des Aspektverhältnisses vom Wert 1 wäre eine durch den statistischen Messfehler induzierte Verzerrung.

¹²Hier wird ein Vergleich der Größenparameter der Moleküle vor und nach den Bestrahlungen vorgenommen. Aus diesem Grund sind hier die Parameter aus dem angepassten Halbellipsoiden, welche sich auf die Lage des Moleküls beziehen (Drehwinkel und Ortsvektor) von der Diskussion ausgenommen. Eine Diskussion der beobachteten Lageänderungen findet sich in Unterkapitel 5.2.3.5.

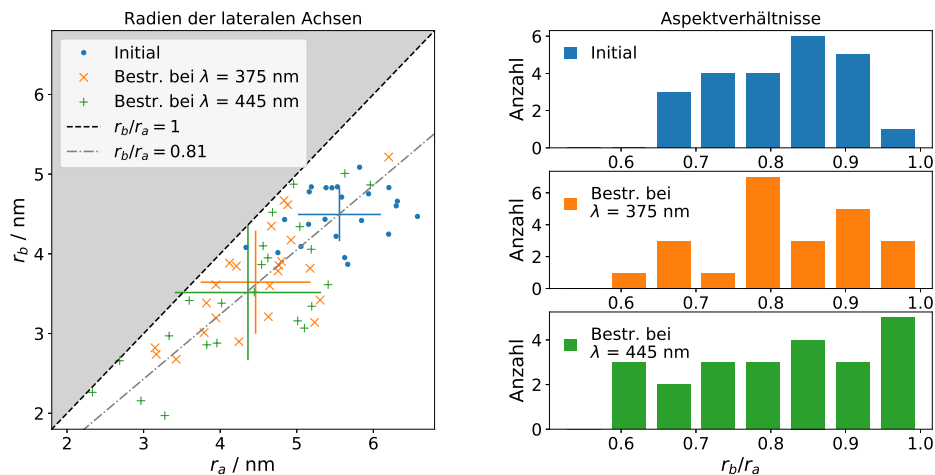


Abbildung 5.14: Links: Auftragung der lateralen Radien (kurze Achse gegen lange Achse) für die Moleküle vor der Initiierung einer Photoisomerisierung, sowie nach den jeweiligen Bestrahlungsvorgängen. Zur visuellen Orientierung ist eine Linie bei $r_b/r_a = 1$ aufgetragen, was der Form eines Kreises für die Flächenprojektion entspricht, sowie bei $r_b/r_a = 0.81$, was etwa dem Mittelwert des beobachteten Aspectverhältnisses in allen drei Fällen entspricht. Im schraffierten Bereich des Graphens sind keine Wertepaare möglich aufgrund der Definition von r_a und r_b . Die großen Kreuze markieren den Schwerpunkt der Verteilungen, wobei die Länge der Kreuzarme der Standardabweichung in dieser Dimension entspricht. Rechts: Histogramme der Verteilung des Aspectverhältnisses vor und nach den sukzessiven Bestrahlungsvorgängen.

Im Falle gleichlanger lateraler Achsen, deren absolute Werte nur durch statistische Messfehler schwanken, würde diese entstehen, da zur Berechnung des Aspectverhältnisses r_b/r_a stets die kurze durch die lange Achse geteilt wird und somit ein Wert kleiner als 1 das Resultat der statistischen Fehler bei der Bestimmung der Radien wäre. Wie durch eine Simulation belegt werden konnte (siehe Anhang A.5), wäre in solch einem Fall bei der Verteilung des Aspectverhältnisses eine abnehmende Häufigkeit des Auftretens mit zunehmenden Abstand vom Wert 1 zu erwarten. Es wird in der gemessenen Verteilung vor den Bestrahlungen jedoch für Aspectverhältnisse nahe 1 nur eine sehr geringe Häufigkeit festgestellt. Die meisten berechneten Aspectverhältnisse der untersuchten Moleküle liegen hier in der Nähe des Mittelwertes der Verteilung¹³. Dies spricht dafür, dass es sich bei der Beobachtung eines systematischen Unterschiedes zwischen r_a und r_b tatsächlich um ein physikalisches Phänomen und nicht um ein statistisches Artefakt handelt. Die Flächenprojektion der Moleküle vor den Bestrahlungen scheint elongiert entlang einer Achse zu sein, also von einer ungefähren Kreisform abzuweichen. Bei den Verteilungen der Aspectverhältnisse nach den Bestrahlungen kommen Werte nahe 1 hingegen häufiger vor. Dies bedeutet, dass hier der Unterschied zwischen r_a und r_b mit größerer Wahrscheinlichkeit auf eine durch den statistischen Messfehler induzierte Verzerrung zurückzuführen ist. Die Flächenprojektion könnte demnach nach der Photoschaltung näherungsweise kreisförmig sein.

¹³Kein Aspectverhältnis hat hier einen Wert $> 0,95$. Die Wahrscheinlichkeit aus der Verteilung der Aspectverhältnisse der Simulation (siehe Anhang A.5) eine Stichprobe $n = 23$ zu ziehen, bei der kein Wert $> 0,95$ vorkommt beträgt ca. 0,5%.

5 Detektion der Größenveränderung photoschaltbarer Dendrimere

Tabelle 5.3: Mittelwerte und Mediane der Größenparameter-Verteilungen. Die Höhenwerte h wurden aus dem Maximum der dem Molekül zugeordneten Erhebung im Durchschnittstopografiebild erhalten, Volumen V und laterale Radien r_a bzw. r_b aus der Annäherung eines Ellipsoiden via Ausgleichsrechnung zu den Daten der Erhebung.

	max. Höhe / pm			Volumen / nm ³		
	\bar{h}_{max}	$\sigma(h_{max})$	h_{max}^{med}	\bar{V}	$\sigma(V)$	V^{med}
Initial	318	79	308	21,0	7,4	18,4
Nach Bestr. bei 375nm	236	96	205	9,7	6,6	6,6
Nach Bestr. bei 445nm	214	100	178	9,0	8,2	4,8
	Radius lange Achse / nm			Radius kurze Achse / nm		
	\bar{r}_a	$\sigma(r_a)$	r_a^{med}	\bar{r}_b	$\sigma(r_b)$	r_b^{med}
Initial	5,6	0,5	5,5	4,5	0,3	4,5
Nach Bestr. bei 375nm	4,5	0,7	4,7	3,6	0,6	3,6
Nach Bestr. bei 445nm	4,4	1,0	4,6	3,5	0,8	3,4

Die nach Gleichung 5.9 errechneten Volumina der Moleküle vor den Bestrahlungsvorgängen waren mit einem Durchschnittswert von $21,0\text{nm}^3 \pm 7,4\text{nm}^3$ ebenfalls etwa eine Größenordnung kleiner als das aus dem hydrodynamischen Radius berechnete Volumen (aus einem Kugelradius von $3,5\text{nm}$ folgt ein Volumen von ca. 195nm^3). Dies lässt sich vollständig auf die sehr geringen Höhenwerte zurückführen. Auch beim Volumen lag eine asymmetrische Verteilung mit Ausreißern zu größeren Werten vor (siehe Histogramm in Abbildung 5.13).

Die Verteilungen aller erhaltenen Größenparameter der Moleküle nach dem Bestrahlungsvorgang mit ultraviolettem Licht bei 375nm zeigten im Vergleich zu den Ausgangswerten eine deutliche Tendenz zu kleineren Werten (siehe Abbildungen 5.13 und 5.14). Dies entspricht den Erwartungen aufgrund der Erkenntnisse über das Verhalten der Moleküle in Lösung bei der Photoschaltung der Azobenzolgruppen in den Substituenten von der *trans*- zur *cis*-Konformation[79]. Bei allen Größenparametern zeigen die erhaltenen Verteilungen außerdem eine Tendenz zur Verbreiterung im Vergleich zu der Situation vor dem Bestrahlungsvorgang, was in größeren Standardabweichungen vom Mittelwert erkennbar ist (siehe Tabelle 5.3). Dies ist vermutlich den größeren statistischen Fehlern bei der Bestimmung der Größenparameter zuzuschreiben, welche infolge der geringeren Abhebung des nun verkleinerten Moleküls vom topografischen Untergrund entstehen.

Der Mittelwert der Höhenwerte \bar{h}_{max} beträgt nun $236\text{pm} \pm 96\text{pm}$ und ist damit 82pm kleiner als vorher. Die Absolutwerte sind auch hier mehr als eine Größenordnung kleiner als der hydrodynamische Radius ($2,5\text{nm}$) der *5c3t*-Konfiguration des Dendrimers, welche in Lösung nach der Bestrahlung mit ultraviolettem Licht vorliegt. In der Verteilung der Höhenwerte ist aber auch eine kleine Population von Ausreißern mit Werten nahe des Mittelwerts vor der Bestrahlung mit ultraviolettem Licht zu sehen. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass die Photoisomerisierung bei einem Teil der Moleküle nicht stattgefunden hat. Auch bei Betrachtung der relativen Abnahmen der Höhenwerte der einzelnen Moleküle (siehe oben

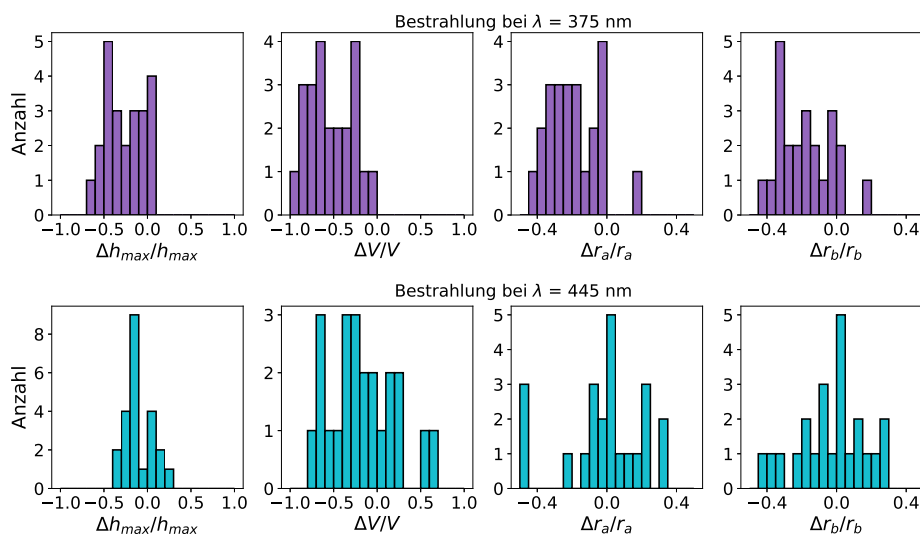


Abbildung 5.15: Verteilungen der relativen Veränderungen der Größenparameter nach der Initiierung der Photoisomerisierungen. Obere Zeile: Nach der Bestrahlung mit ultraviolettem Licht bei 375 nm kann eine Abnahme von maximaler Höhe, Volumen und lateralen Radien beobachtet werden. Untere Zeile: Die Größenparameter stagnieren nach der Bestrahlung bei 445 nm weitgehend.

in Abbildung 5.15) zeigt sich, dass bei einem kleinen Teil der betrachteten Moleküle die Veränderung der Höhe nahe Null war. Im Mittel jedoch verringerte sich die maximale Höhe um 26% (Standardabweichung $\pm 22\%$). Dies entspricht sehr gut der erwarteten relativen Abnahme des Durchmessers der Moleküle bei der Photoschaltung mit ultraviolettem Licht (30%), wenn man von der Annahme ausgeht, dass die Höhe auf Muskovit proportional zum Radius des Moleküls in Lösung ist.

Auch die Radien der lateralen Achsen r_a und r_b zeigten ein ähnliches Bild. Im Mittel ($4,5\text{nm} \pm 0,7\text{nm}$ bzw. $3,6\text{nm} \pm 0,6\text{nm}$) waren diese nach der Bestrahlung mit ultraviolettem Licht gegenüber dem Ausgangszustand ebenfalls signifikant verkleinert (um $1,1\text{nm}$ bzw. $0,9\text{nm}$). Die mittlere relative Abnahme war mit jeweils 19% (Standardabweichung $\pm 15\%$ bzw. $\pm 14\%$) nur geringfügig kleiner, als die Abnahme des hydrodynamischen Radius. Die näherungsweise gleiche Abnahme der Radien der lateralen Achsen spiegelt sich auch in dem nahezu unveränderten Aspektverhältnis r_b/r_a von $0,82 \pm 0,10$ wieder. In den Verteilungen (siehe Abbildung 5.15) zeigt sich auch hier, dass bei einem kleinen Teil der untersuchten Moleküle keine signifikante Veränderung dieser Parameter beobachtet wurde.

Als Folge der Verringerung von Höhe und lateraler Ausdehnung der Moleküle auf der Muskovitoberfläche ist auch das berechnete Volumen nach der Bestrahlung mit ultraviolettem Licht kleiner als zuvor. Der Mittelwert der stark asymmetrischen Verteilung beträgt nun $9,7\text{nm}^3 \pm 6,6\text{nm}^3$ und ist damit $11,3\text{nm}^3$ geringer als zuvor. Durchschnittlich verkleinert sich das Volumen der einzelnen Moleküle dabei um 54% ($\pm 26\%$). Bei den Experimenten in Lösung wurde durch die *trans*-zu-*cis*-Photoisomerisierung eine Volumenabnahme um 66% beobachtet [79]. Im Rahmen der Messgenauigkeit nimmt das Volumen damit im

Mittel ungefähr um den erwarteten Wert ab, wenn man davon ausgeht, dass die laterale Ausdehnung und Höhe des Moleküls auf Muskovit proportional zu den Dimensionen des Moleküls in Lösung sind. Es ist zu beachten, dass der vom Rasterkraftmikroskops gemessene Höhenkontrast in vielen Fällen nicht exakt mit der tatsächlichen Höhe der Objekte auf der Oberfläche übereinstimmt (siehe hierzu Kapitel 2.1.3.3). Die Abweichung zwischen tatsächlicher Höhe muss in diesem Fall aber beim größeren *8t*- und beim kleineren *5c3t*-Isomer des Dendrimers nicht gleich ausfallen. Dies würde sich auf die relative Änderung der Höhe und des Volumens auswirken, jedoch nicht die beobachteten Trends ändern. In der Verteilung der Volumenänderung ist außerdem zu erkennen, dass beim Volumen im Gegensatz zur maximalen Höhe und der lateralen Ausdehnung bei allen untersuchten Molekülen eine Abnahme nach der Bestrahlung mit ultraviolettem Licht beobachtet wurde (siehe Abbildung 5.15). Die bei Höhe und Radien beobachteten Fälle ohne signifikante Veränderung sind also nicht auf nicht erfolgte Isomerisierungen zurückzuführen, sondern in mindestens einer Dimension der Dendrimere fand stets eine Verkleinerung statt. Dies wird auch unterstützt durch die allerdings nur sehr kleine Korrelation zwischen der Änderung der Höhe Δh_{max} und der Änderung der von den lateralen Radien r_a und r_b aufgespannten elliptischen Fläche ΔA (Pearson-Korrelationskoeffizient $p_{corr} = 0,21$).

Kein Zusammenhang konnte außerdem zwischen der Leistungsdichte des verwendeten UV-Lichts (insgesamt sechs verschiedene Leistungsniveaus im Bereich von ca. $150\text{W}/\text{cm}^2$ bis ca. $900\text{W}/\text{cm}^2$) und dem Ausmaß der Veränderung festgestellt werden. Der Pearson-Korrelationskoeffizient von der Volumenänderung ΔV und der Leistungsdichte des UV-Lichts an der Probe I_{an} beträgt $-0,01$. Dies ist ein Hinweis auf die hohe Effizienz des Schaltvorganges. Aufgrund des hohen Absorptionsquerschnittes bei 375nm und der hohen Quantenausbeute der Photoisomerisierung führen bereits geringe Anregungsleistungen zuverlässig zu einer Volumenänderung. Die Fälle, in denen zum Beispiel nur eine geringe Veränderung des Volumens festgestellt wurde, haben demnach wahrscheinlich eine andere Ursache als eine zu geringe Anregungsleistung.

Die Größenparameter der Dendrimer-Moleküle änderten sich nach Bestrahlung bei 445nm im Mittel nicht signifikant. Die Durchschnittswerte für maximale Höhe ($214\text{pm} \pm 100\text{pm}$), Radien der lateralen Achsen ($4,4\text{nm} \pm 1,0\text{nm}$ bzw. $3,5\text{nm} \pm 0,8\text{nm}$) und Volumen ($4,4\text{nm} \pm 1,0\text{nm}$) zeigen eine große Übereinstimmung mit den Werten zuvor. Bei Höhe und Volumen gibt es sogar eine leichte Tendenz zur weiteren Verkleinerung ($9\% \pm 16\%$ und $17\% \pm 37\%$), welche jedoch in Anbetracht der Breite der Werteverteilung und der Stichprobengröße als nicht signifikant angesehen wird. Die lateralen Radien stagnieren trotz starker Streuung im Mittel weitgehend mit $0,7\% \pm 22\%$ und $3\% \pm 18\%$. Dies bedeutet, dass die Rückreaktion der Photoisomerisierung zur *8t*-Konformation offensichtlich nicht stattgefunden hat. Es konnte in den Experimenten - trotz der teilweise sehr breiten Verteilungen der Werte - kein einziger Fall beobachtet werden, bei dem es zu einer weitgehenden Wiederherstellung der Dendrimer-Ausdehnung nach der Bestrahlung mit blauem Licht kam, wenn diese vorher durch die Bestrahlung mit ultraviolettem Licht signifikant abgenommen hatten. Nur sehr

5.2 Detektion der Größenänderung einzelner Dendrimere

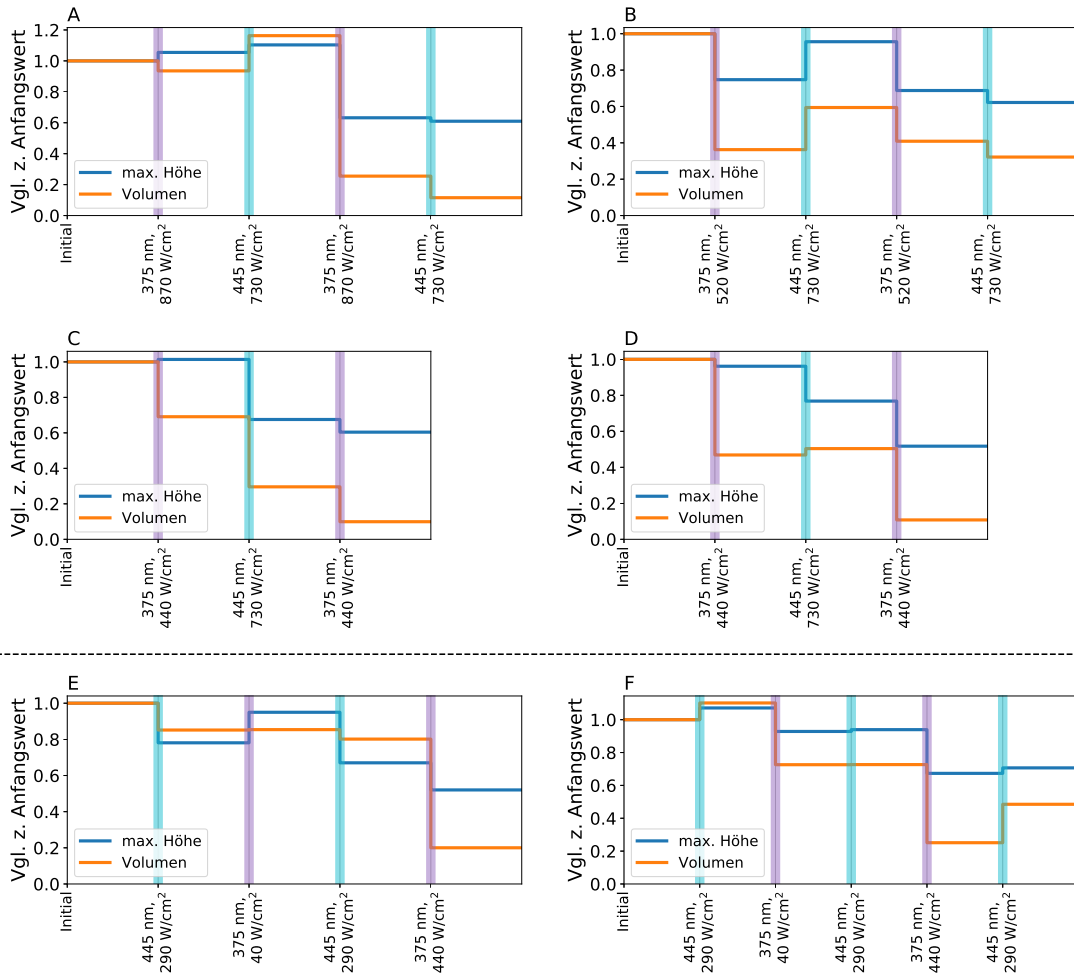


Abbildung 5.16: Relativer Verlauf der Größenparameter für Dendrimere, bei denen an die jeweilige Initiierung der Hin- und Rückreaktion der Photoisomerisierung, weitere Bestrahlungsvorgänge angeschlossen wurden. Bei E und F wurde außerdem mit einer Bestrahlung mit blauem anstelle von ultraviolettem Licht begonnen.

wenige Fälle konnten gefunden werden, bei welchen es wenigstens zu einem bedeutenden Anstieg eines Größenparameters kam und welche damit auf eine zumindest teilweise Wiederherstellung der Molekülausdehnung vor der *trans-zu-cis*-Photoisomerisierung hindeuten könnten. Diese sind jedoch statistisch nicht relevant und stehen Fällen gegenüber, bei denen es sogar zu einer weiteren Reduktion der gemessenen Größe kam. Eine sehr leichte, aber mit zunehmender Messdauer zunehmende Abstumpfung der Cantileverspitze könnte eine Ursache für die leichte mittlere Reduktion des Höhenkontrastes sein (siehe Kapitel 2.1.3.3). Es kann aber auch nicht ausgeschlossen werden, dass trotz Messung im attraktiven Regime des intermittierenden Kontaktmodus dennoch Beschädigungen am Molekül durch die repetitiven Abrasterungen mit der Cantileverspitze in einzelnen Fällen für geringere Messwerte verantwortlich waren.

Wie in Kapitel 5.2.2 beschrieben, wurde bei zwei von den betrachteten 23 Molekülen nach dem Versuch der Initiierung der Rückreaktion die Bestrahlungsvorgänge bei 375 nm

und 445 nm wiederholt und jeweils die Größenparameter ermittelt. Bei zwei weiteren Molekülen wurde nur die Bestrahlung bei 375 nm erneut ausgeführt. Die relativen Veränderungen über den gesamten Messverlauf finden sich in den Teilen A-D in Abbildung 5.16 (Zur Übersichtlichkeit wurden nur maximale Höhe und Volumen abgebildet). Aus diesen Beispielen kann erkannt werden, dass in Fällen, in denen es nach der ersten Bestrahlung mit ultraviolettem Licht nur in geringem Ausmaß (Fälle A, C und D) zu einer Reduktion der Größenparameter kommt, es in einer zweiten Bestrahlung bei dieser Wellenlänge doch noch zu einer stärkeren Reduktion kommen kann. Dies deutet auf unvollständige Photoisomerisierungen nach der ersten Bestrahlung hin. Bei der Bestrahlung mit blauem Licht konnte auch hier keine vollständige Regeneration des Ausgangszustandes erhalten werden, stattdessen kann sogar in einigen Fällen eine leichte weitere Reduktion erkannt werden.

Bei zwei Molekülen wurde die Reihenfolge der Bestrahlung umgekehrt. Dies geschah aufgrund der Beobachtung, dass die Größenparameter nach der Bestrahlung mit blauem Licht entgegen der Erwartungen manchmal noch eine weitere Verkleinerung zeigten (siehe oben). Es war dort aufgrund der geringen Größe der Moleküle insbesondere nach der bereits erfolgten Verkleinerung durch die Schaltung mit ultraviolettem Licht nicht feststellbar, ob es sich um einen statistischen Effekt aufgrund der Messfehler beim Bestimmen der Molekülgröße handelt oder ob es sich um eine physikalische Ursache handelt. Daher wurde nun untersucht, ob dies auch auftritt (und gegebenenfalls stärker), wenn die Azobenzolgruppen der Moleküle in Ausgangslage zuerst mit blauem Licht angeregt werden. Bei den auf diese Weise untersuchten Molekülen wurden die Bestrahlungen anschließend noch einmal wiederholt. Der Verlauf der Veränderung von maximaler Höhe und Volumen für beide Fälle ist in Teilen E und F in Abbildung 5.16 aufgetragen. Anhand dieser kleinen Stichprobe ist kein signifikanter Einfluss der Bestrahlung bei 445nm auf den Ausgangszustand zu erkennen. Die beobachtete Verringerung der Molekülgröße nach der Bestrahlung mit blauem Licht ist daher wahrscheinlich auf statistische Schwankungen der Messwerte zurückzuführen. Eine weitere Beobachtung bei diesen Experimenten ist, dass in der ersten Bestrahlungsphase mit ultraviolettem Licht ebenfalls keine signifikante (Fall E) bzw. nur eine relativ geringe (Fall F) Veränderung beobachtet wurde. Die verwendete Anregungsintensität war hier jedoch mit $40\text{W}/\text{cm}^3$ sehr gering (auch deutlich geringer als alle verwendeten Anregungsintensitäten bei den Photoschaltungen der anderen 23 Moleküle). Dies könnte ein Indiz dafür sein, dass bei diesen geringen Intensitäten eine Schaltung unwahrscheinlicher ist.

5.2.3.4 Beeinflussung der spektroskopischen Eigenschaften des PDI-Kerns durch die Schaltvorgänge

Bei den Topografiebilderserien wurden nach den induzierten Photoisomerisierungen auch Emissionsspektren (Anregung: $\approx 5300\text{W}/\text{cm}^2$ bei 532nm, Integrationszeit: 1s) aufgenommen. Es stellte sich heraus, dass in den meisten Fällen die PDI-Kerne nach der Aufnahme der Topografiebilder und der induzierten Photoisomerisierung keine messbare Emission

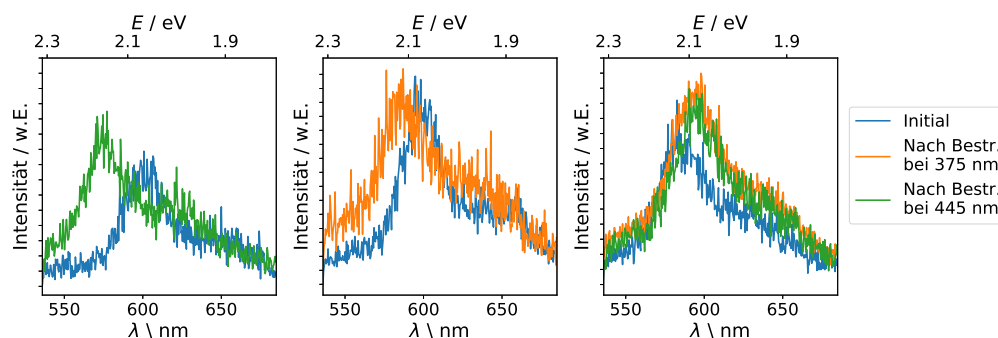


Abbildung 5.17: Vergleich von Emissionsspektren (Anregung: $\approx 5300\text{W}/\text{cm}^2$ bei 532nm , Integrationszeit: 2 – 5s, Intensität jeweils normiert auf 1s Integrationszeit) einzelner Dendrimere vor und nach den Bestrahlungen zur Auslösung der Photoisomerisierungen der Azobenzolgruppen.

mehr zeigten, oder aber nach Beginn der Spektrenaufnahme so schnell Photobleichen aufgetreten war, dass aufgrund der geringen Photonenmenge das Emissionsspektrum sich nicht signifikant vom Untergrund unterscheiden ließ. In den Fällen, bei welchen die Aufnahme von Emissionsspektren auch nach der Photoisomerisierung noch möglich war, waren Verschiebungen der spektralen Lage zu erkennen und teilweise Veränderungen der Intensität (siehe Abbildung 5.17).

Die spektrale Lage war dabei auch nach den Schaltungen stets in dem Bereich, welcher für die Dendrimere auf Muskovit in Kapitel 5.2.1.1 beobachtet wurde. Die spektrale Verschiebung ist vermutlich auf eine Veränderung der Umgebung des adsorbierten Moleküls durch die Photoschaltung zurückzuführen. Durch das Bewegen des äußersten Teils der Substituenten bei der Photoisomerisierung, welcher auch Kontakt zu der Muskovitoberfläche hat, kommt es zu einem Kraftübertrag auch auf den PDI-Kern, wodurch es zu einer räumlichen Verschiebung der Ausrichtung des PDI-Kerns gegenüber der Muskovitoberfläche kommen kann (siehe dazu die beobachteten indizierten Rotationen in Kapitel 5.1). Auf diese Weise ist auch das Übergangsdipolmoment des PDI-Kerns neu gegenüber der Oberfläche ausgerichtet und damit einer veränderten Umgebung ausgesetzt, was die Verschiebung der spektralen Lage erklären könnte. Diese Interpretation wird auch dadurch unterstützt, dass in dem Fall, dass Spektren sowohl nach der Bestrahlung mit ultraviolettem Licht als auch nach der anschließenden Bestrahlung mit blauem Licht erhalten wurden, signifikante Unterschiede nur zu dem Emissionsspektrum vor der ersten Bestrahlung erkannt wurden und nicht zwischen den Spektren nach den jeweiligen Bestrahlungen (siehe rechts in Abbildung 5.17). Da eine erfolgreiche Photoschaltung nur nach der Bestrahlung mit ultraviolettem Licht beobachtet wurde, wird davon ausgegangen, dass die beobachtete Änderung der spektralen Lage tatsächlich auf die Photoisomerisierung der Azobenzolgruppen zurückgeführt werden kann.

Bei den Ensembleexperimenten in Lösung wurden keine spektralen Verschiebungen, jedoch eine Abnahme der Emissionsintensität für das *5c3t*-Isomer gegenüber dem *8t*-Isomer berichtet [79]. Bei den Einzelmolekülexperimenten auf Muskovit dieser Messreihe, bei denen ein

Spektrum nach der Photoisomerisierung erhalten werden konnte, wurden allerdings auch Zunahmen beobachtet. Die bereits diskutierte Neuausrichtung des Übergangsdipolmoments kann auch diese Veränderung der Intensität erklären, da sich dadurch auch der Winkel zur optischen Achse des Mikroskops ändern kann. Da das Strahlungsfeld der Emission von der Ausrichtung des Übergangsdipolmoments abhängt, kann sich damit der Anteil der emittierten Photonen, der vom Mikroskopobjektiv aufgesammelt wird, ändern und damit die gemessene Intensität. Aus dem gleichen Grund kann sich außerdem die Anregungswahrscheinlichkeit ändern, wenn sich der Winkel zwischen dem Feldvektor des Anregungslichts und dem Übergangsdipolmoment ändert. Hierbei wären Abnahmen und Zunahmen denkbar.

Die Hauptursache für das häufige Bleichen der Moleküle bei diesen Experimenten ist sehr wahrscheinlich die schon in Kapitel 5.2.1.1 beobachtete Instabilität der PDI-Kerne auf Muskovit. Während der Bestrahlungen bei 375nm und 445nm kann es zum intramolekularen Energietransfer zwischen den angeregten Azobenzolgruppen als Donor und dem PDI-Kern als Akzeptor kommen. Durch diese indirekte Anregung des PDI-Kerns ist also auch während der Bestrahlungen zum Auslösen der Isomerisierungen (siehe dazu die Kapitel 3.4.2 und 5.2.2) ein Photobleichen des Fluorophors möglich. Dies gilt insbesondere unter der Berücksichtigung der Dauer dieser Rasterungen (ca. 2min), dem hohen Absorptionsquerschnitt der Dendrimere bei 375nm bzw. 445nm und der relativ hohen Energietransfereffizienz.

5.2.3.5 Beobachtungen von Lageänderungen der Dendrimere durch die Photoisomerisierung

Neben der Änderung der Größenparameter der Moleküle durch UV-Licht wurden in manchen Fällen ebenfalls Lageänderungen der Moleküle durch die Photoisomerisierung gefunden. Dies war möglich durch die Beobachtung der Untergrundstruktur auf Muskovit im attraktiven Modus des Rasterkraftmikroskops. Insbesondere die Verminderung des Einflusses des thermischen Rauschens durch die in Kapitel 5.2.3.2 beschriebene Prozedur des Bildens von Durchschnittstopografien erlaubte es, die Oberflächenmerkmale des Untergrundes detailliert aufzulösen. Durch einen Vergleich der Lage eines Moleküls relativ zu markanten Oberflächenmerkmalen kann erkannt werden, dass sich die Positionen einiger Moleküle nach der Photoisomerisierung merklich geändert hatten (siehe Abbildung 5.18).

Für eine Quantifizierung der Verschiebungen nach den Photoisomerisierungen können die Positionen der in Kapitel 5.2.3.2 angenäherten Halbellipsoiden verglichen werden. Da durch thermische Drift eine laterale Verschiebung zwischen den Aufnahmen existiert, muss diese dafür zunächst ebenfalls berücksichtigt werden. Durch die Erstellung einer Matrix von Pearson-Korrelationskoeffizienten der zueinander schrittweise in x - und y -Richtung verschobenen Topografiebilder kann die Position der maximalen Übereinstimmung der Untergründe bestimmt werden als die Position des maximalen Pearson-Korrelationskoeffizienten in der Matrix. Das Vorgehen ist dabei analog zu der Bestimmung der durchschnittlichen Topogra-

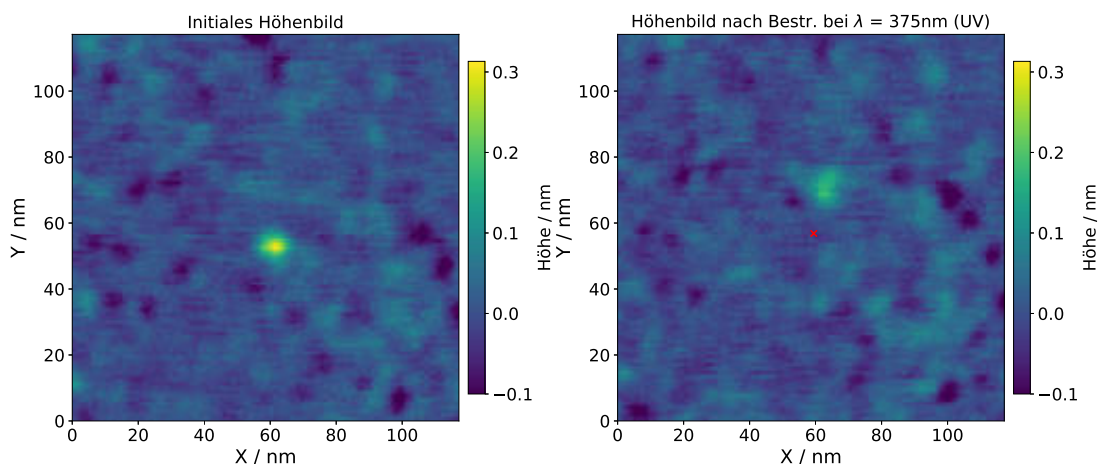


Abbildung 5.18: Durchschnittsbilder der Topografie vor (links) und nach (rechts) der Bestrahlung eines Moleküls mit ultraviolettem Licht. Die dem Molekül zugeordnete Erhebung ist in Relation zur Untergrundtopografie signifikant verschoben. Ein rotes Kreuz markiert die ursprüngliche Position des Moleküls im rechten Bild.

fien, wie es in Kapitel 5.2.3.2 ausführlich beschrieben wurde. Der einzige Unterschied im Vorgehen lag darin, dass die Position der Moleküle innerhalb der Topografiebilder nicht zur Berechnung der Pearson-Koeffizienten berücksichtigt wurden, da es explizit nur um die Berechnung der Übereinstimmung des Untergrundes ging (siehe dazu im Anhang die Topografiebilder unter Ausklammerung der Moleküle und die daraus berechnete Korrelationsmatrix im Anhang A.7 für das Beispiel in Abbildung 5.18). Die Berücksichtigung der Molekültopografien als die größte Erhebung in beiden Bildern würde große Korrelationskoeffizienten für die Übereinstimmung dieser Erhebungen liefern, unabhängig davon, ob die Untergründe übereinstimmen. Die auf diese Weise erhaltene laterale thermische Drift zwischen den Aufnahmen ergibt - zusammen mit der Differenz der Positionen - die Verschiebung der Moleküle relativ zum Untergrund nach der Bestrahlung. Histogramme der gefundenen Translationen der Moleküle sind in Abbildung 5.19 aufgetragen¹⁴.

Beim Vergleich der Verteilungen der lateralen Molekülbewegungen zeigt sich eine deutliche Tendenz zu größeren Sprüngen nach der Bestrahlung bei 375nm (Mittelwert: 3,5nm) gegenüber der Bestrahlung bei 445nm (Mittelwert: 2,0nm). Bei 4 von den 23 untersuchten Molekülen konnten nach der UV-Licht-Bestrahlung signifikante Verschiebungen (> 6nm) beobachtet werden. In 7 weiteren Fällen wurden geringere Verschiebungen (2 – 6nm) gefunden. Hierbei handelte es sich um Fälle, bei denen sich die Positionen des Moleküls vor und nach der Photoisomerisierung noch zu großen Teilen überlappen. In diesen Fällen ist der Fehler bei der Bestimmung der Verschiebung bereits groß gegenüber der gemessenen Verschiebung. Die Kantenlänge eines Pixels ist 1,2nm groß und die relative Position der

¹⁴Es wurden auch die Änderungen der Winkel zwischen x,y -Achsensystem der Bildaufnahmen und den Achsen der Ellipsoiden nach den Bestrahlungen aufgezeichnet (siehe Anhang A.8). Hier konnte jedoch kein systematischer Trend erkannt werden.

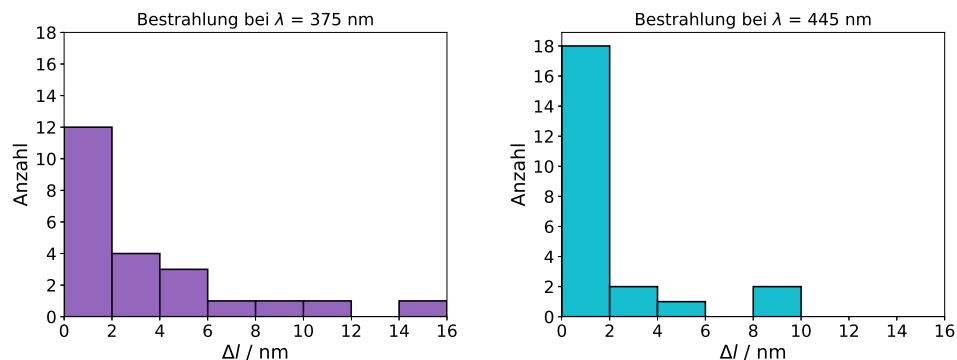


Abbildung 5.19: Verteilungen der lateralen Molekülbewegungen durch die Bestrahlung bei 375nm (links) bzw. 445nm (rechts).

Moleküle kann nur auf ein oder zwei Pixel genau bestimmt werden. Aus diesem Grund sind gemessene Verschiebungen von unter 2nm als nicht signifikant anzusehen.

Nach der Bestrahlung bei 445nm kommt es nur zu insignifikanten oder sehr geringen Lageveränderungen der Moleküle mit Ausnahme von zwei Fällen. In diesen beiden Fällen handelt es sich jedoch um Moleküle, deren Höhenkontraste nach der Schaltung besonders niedrig waren und welche deshalb besonders schwer vom Untergrund zu unterscheiden waren. Der Fehler bei der Positionsbestimmung der Moleküle war deshalb dort auch besonders hoch. Auch könnten Beschädigungen durch die Wechselwirkung mit der Cantileverspitze bei den repetitiven Rasterungen hier zu den auffällig kleinen Höhenkontrasten beigetragen haben.

Der Grund für die beobachteten lateralen Verschiebungen ist mit hoher Wahrscheinlichkeit der gleiche wie für die in Kapitel 5.1 beschriebenen Rotationsbewegungen. Die Photoisomerisierung der Azobenzolgruppen verursacht eine Bewegung der äußersten Teile der Substituenten. Da diese mindestens teilweise mit der Oberfläche des Muskovits wechselwirken, kann es zu einem Kraftübertrag auf den Rest der Moleküls kommen. Neben Rotationen sind dabei auch Translationen denkbar. Da diese maximal über wenige Nanometer stattfinden, sind diese im Gegensatz zu den Rotationen mit dem Konfokalmikroskop nicht auflösbar, da solche Distanzen deutlich unter der Auflösungsgrenze des optischen Mikroskops liegen. Mit dem Rasterkraftmikroskop kann dies jedoch beobachtet werden. Da lediglich die *trans*-zu-*cis*-Photoisomerisierung stattgefunden hat - und nicht jedoch die Rückreaktion - wird nach der Bestrahlung mit UV-Licht eine höhere Tendenz zu signifikanten Translationsbewegungen der Moleküle beobachtet.

5.3 Vergleich der Ergebnisse mit theoretischen Modellen

Bei den Experimenten zur Größenänderung der Dendrimere durch Photoisomerisierung in Kapitel 5.2 waren zwei Befunde nicht erwartet worden: der erhaltene Höhenkontrast der Dendrimere war sehr viel kleiner als die Größe der Moleküle in Lösung und die Rückreaktion

der Photoisomerisierung konnte nicht beobachtet werden. In den folgenden Unterkapiteln werden diese Beobachtungen mit Modellrechnungen verglichen und Rückschlüsse auf die Wechselwirkung der Moleküle mit dem Muskovitsubstrat gezogen.

5.3.1 Diskussion des Höhenkontrasts

Die erhaltenen Höhenkontraste einzelner Dendrimere liegen sehr weit unterhalb der Werte, welche für den Durchmesser der Moleküle in Lösung durch Fluoreszenzkorrelationspektroskopie erhalten wurden. Die Moleküle in Lösung mit einem lipophilen Lösungsmittel haben jedoch - verglichen mit denen, welche adsorbiert auf einer hydrophilen Oberfläche in atmosphärischer Umgebung vorliegen - eine sehr unterschiedliche Umgebung. Es wird daher vermutet, dass sich dies auch auf die räumliche Form der Moleküle auswirkt. Dies könnte dazu führen, dass die Höhe der Dendrimere auf der Oberfläche kleiner ist als ihr Durchmesser in Lösung. Darüber hinaus wird auch erwartet, dass ein nicht unwesentlicher Teil des zu geringen Höhenkontrastes systematisch verursacht wird, da die unterschiedlichen Materialeigenschaften von Dendrimer-Molekülen und der Muskovit-Probenoberfläche zu verschiedenen Wechselwirkungen mit der Cantileverspitze führen (siehe Kapitel 2.1.3.3). In Folge sollen daher Wechselwirkungen zwischen einer Cantileverspitze und einem Dendrimer bzw. der Substratoberfläche modelliert werden. Mit numerischen Rechnungen wird dann der zu erwartende Höhenkontrast bei einer Rasterkraftmikroskopiemessung abgeschätzt. Der Höhenkontrast wird dabei für drei verschiedene Modelle eines Dendrimers auf einer Oberfläche bei einer Reihe von typischen Mess- und Umgebungsparametern errechnet und anschließend mit den Messergebnissen aus Kapitel 5.2.3 verglichen.

In den folgenden Unterkapiteln werden zunächst die verwendeten Modelle für die räumliche Struktur eines Dendrimers auf Muskovit vorgestellt. Anschließend wird die Modellierung der Wechselwirkung des Cantilevers mit der Probe beschrieben und die Näherungen für die nicht bekannten materialspezifischen Eigenschaften des Makromoleküls erläutert. Danach wird die genaue Vorgehensweise dargelegt, um den Höhenkontrast für die verschiedenen Modelle aus den numerischen Kalkulationen zu erhalten. Es folgt die Diskussion der Ergebnisse und der Vergleich mit den Messwerten der Experimente.

5.3.1.1 Hypothetische Modelle für ein adsorbiertes Dendrimer

Das erste hypothetische Modell folgt der Prämisse, dass sich die Form der Moleküle auf der Muskovitoberfläche in atmosphärischen Bedingungen nicht von jener unterscheidet, die sie in einem Lösungsmittel haben, in welchem sie eine gute Löslichkeit besitzen. Die voluminösen dendritischen Polyphenyl-Substituenten sind in *bay*-Position am PDI-Kern des Moleküls angebracht. Frühere Untersuchungen [239, 240] haben gezeigt, dass Substituenten in dieser Position in Abhängigkeit von ihrer Größe zu einer Verdrillung des PDI-Kerns führen. Es wird für dieses Modell angenommen, dass die Substituenten aufgrund dieser signifikanten Verdrillung in grober Näherung tetraedrisch vom Zentrum des PDI-Kerns weg zeigen. Daher wird das Molekül in dieser Modellierung als Kugel genähert

(siehe Abbildung 5.20), wobei als Radien 3,6 nm für die *all-trans*-Konformation (*8t*) und 2,5 nm für die nach der Photoisomerisierung durch Wechselwirkung mit ultraviolettem Licht vorliegende *5cis-3trans*-Konformation (*5c3t*) verwendet wurden¹⁵.

Ein Molekül, welches auf einer Substratoberfläche adsorbiert ist, wechselwirkt auch mit den Atomen und funktionellen Gruppen des Substrats. Es treten dabei in allen Fällen mindestens van-der-Waals-Kräfte zwischen Molekül und Substrat auf. Es sind im betrachteten Fall des Dendrimers auf frisch gespaltenem Muskovit jedoch zum Beispiel auch Wechselwirkungen von Oberflächenladungen mit den π -Elektronensystemen der Phenylringe denkbar (frisch gespaltenes Muskovit hat insbesondere im Vakuum eine sehr hohe Oberflächenenergie [122]). Da die Wechselwirkung mit dem wesentlich weniger dichten Medium Luft als sehr klein angenommen werden kann gegenüber der Wechselwirkung mit der Oberfläche, kommt es zu einer anisotropen Krafteinwirkung auf das Molekül, die zu einer Deformierung der Struktur des Moleküls im Vergleich zur Form in Lösung führen kann. Die zusätzliche Energie, die für die Verformung des Moleküls in eine sterisch ungünstigere Struktur nötig ist, wird von der zusätzlichen Bindungsenergie aufgrund der Wechselwirkung mit der Oberfläche durch Vergrößerung der Kontaktfläche zwischen Molekül und Substratoberfläche aufgebracht. Sogar für wesentlich steifere Kohlenstoff- und Silizium-Nanoröhren konnten signifikante Verformungen bei der Adsorption auf einer Substratoberfläche (passiviertes Silizium bzw. Graphit) bereits nachgewiesen werden [262, 263]. Für die numerischen Rechnungen dieser Arbeit wurden aus dieser Überlegung zwei hypothetische Modelle abgeleitet, welche sich im Wesentlichen durch den Grad der Verformung unterscheiden.

Für das zweite Modell des adsorbierten Moleküls wird postuliert, dass drei der vier Substituenten (analog der drei Ecken einer Tetraederseite) direkten Kontakt zur Substratoberfläche haben und durch Wechselwirkung mit dieser verformt werden. Durch die Wechselwirkung mit der Oberfläche verformt sich das Molekül so, dass diese drei Substituenten über den Großteil ihrer Länge parallel zur Oberfläche ausgerichtet sind. Die Orientierung des vierten Substituenten hingegen ist von der Substratoberfläche weg gerichtet. Vom PDI-Kern aus betrachtet wandelt sich die Struktur von einem angenähertem Tetraeder also zu einer trigonal-pyramidalen Ausrichtung der Substituenten (siehe Abbildung 5.20). Es ist zu beachten, dass damit nur die ungefähre Ausrichtung der Substituenten gemeint ist - bezogen auf die Gesamtstruktur des Dendrimers - und nicht die Ausrichtungen der Bindungen an den *bay*-Positionen des PDI-Kerns (Die Verdrillung des PDI-Kerns bleibt also nur unwesentlich verändert erhalten). Stattdessen stehen die drei Substituenten mit Muskovit-Kontakt durch die Verformung der Molekülstruktur unter einer moderaten sterischen Spannung, so dass sie eine größere Kontaktregion mit der Oberfläche haben. Für die Modellierung der Interaktion dieser Struktur des adsorbierten Moleküls mit der Cantileverspitze wird die Form einer Halbkugel angenommen, deren flache Seite zur Oberfläche gewandt ist. Der Radius der Halbkugel soll dabei durch die Länge der Substituenten gegeben sein. Durch geometrische Überlegungen aus der Molekülstruktur (siehe Anhang A.6) kann dabei abgeschätzt werden,

¹⁵Diese Radien wurden aus Fluoreszenzkorrelationsmessungen (FCS) in Lösung erhalten [79].

dass es für das *8t*- und das *5c3t*-Isomer eine ungefähre Übereinstimmung der mittleren Länge der Substituenten und dem hydrodynamischen Radius gibt, weshalb auch hier die Werte der FCS-Messungen eingesetzt werden.

Für ein drittes Modell des Dendrimers auf Muskovit wird die Möglichkeit berücksichtigt, dass durch starke Wechselwirkungen mit der Oberfläche des Muskovits alle vier Substituenten unter teilweise erheblicher sterischer Spannung stehen, so dass die Kontaktfläche zur Oberfläche möglichst groß ist. Im Gedankenexperiment wird ein weiteres Mal ausgegangen von der näherungsweise tetraedrischen Form in Lösung. Man nähert den Tetraeder über eine der Kanten an die Oberfläche an. Die beiden Substituenten, welche vom Zentrum des Tetraeders zu den beiden Ecken zeigen, welche der Oberfläche zugewandt sind, krümmen sich somit von der Oberfläche weg, so dass ein möglichst großer Teil ihrer Länge Kontakt zum Muskovit hat. Die anderen beiden Substituenten werden hingegen durch die Wechselwirkung mit dem Muskovit zur Oberfläche hin gebogen und treten ebenfalls in Kontakt zur Oberfläche. Für die grobe mathematische Modellierung dieser hypothetischen Form des Moleküls auf der Oberfläche wird eine Kugelkalotte (ein Schnitt einer Kugel) gewählt. Der Radius der kreisförmigen Kontaktfläche a_{kal} ist dabei für beide Isomere durch die mittleren Längen der Substituenten gegeben, abgeschätzt durch den hydrodynamischen Radius des Moleküls in Lösung (3,6 nm und 2,5 nm). Für die Höhe der Kalotte h_{kal} wird der Durchmesser einer Polyphenyl-Generation der Substituenten gewählt (3 Phenylringe und jeweils zwei C-C- und C-H-Bindungen, deren typischen Bindungslängen bekannt sind [260]), welcher als 1,36 nm abgeschätzt werden kann. Der Krümmungsradius der Kalotte R_M ist gegeben durch:

$$R_M = \frac{a_{kal}^2 + h_{kal}^2}{2h_{kal}} \quad (5.10)$$

Die drei vorgestellten hypothetischen Modelle eines einzelnen Dendrimers auf der Muskovitoberfläche werden in Folge als Kugel, Halbkugel und Kalotte bezeichnet. In Abbildung 5.20 findet sich eine schematische Darstellung der Modelle und der approximierten Substituenten-Ausrichtung der Molekül-Modelle, die ihnen zu Grunde liegen.

5.3.1.2 Aufschlüsselung der Wechselwirkung in Einzelkomponenten

Wie in Kapitel 2.1.3.1 beschrieben, kann der oszillierende Cantilever in Wechselwirkung mit der Probe als gedämpftes Punktmasse-Feder-System modelliert werden, auf welches eine sinusförmige Antriebskraft einwirkt (mathematisch beschrieben als gedämpfter harmonischer Oszillator). Zusätzlich wirken - in Abhängigkeit von der Auslenkung und Position des Cantilevers - die Kräfte, die aus den Wechselwirkungen der Spitze mit der Probe resultieren, auf das Federsystem ein. Dabei muss unterschieden werden zwischen Positionen der Probe, auf welchen der Cantilever mit dem reinen Substrat wechselwirkt und solchen, bei denen

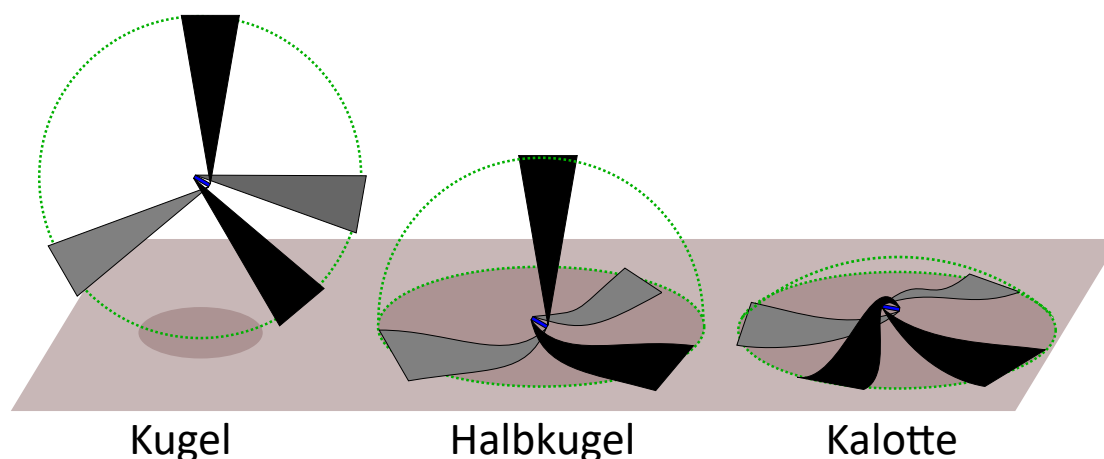


Abbildung 5.20: Hypothetische Modelle der räumlichen Struktur des Dendrimers auf der Muskovitoberfläche. Links: Die wahrscheinliche Struktur des Dendrimers, wie es in Lösung vorkommt mit näherungsweise tetraedrischer Ausrichtung der Substituenten vom PDI-Kern aus - für die Wechselwirkung mit der Cantileverspitze approximiert als Kugel. Mitte: Ein Modell mit moderater Deformierung der Substituenten aufgrund der Wechselwirkung mit Muskovit, angenähert als Halbkugel. Rechts: Ein Modell mit starker Deformierung aller Substituenten zur Oberfläche hin, genähert als Kugelkalotte.

ein Molekül auf dem Substrat adsorbiert ist. Im Folgenden wird betrachtet, aus welchen Komponenten diese Kräfte in den verschiedenen Fällen bestehen und welche Implikationen sich daraus für den zu erwartenden Höhenkontrast ergeben. Einen theoretischen Wert für den zu erwartenden Höhenkontrast der Moleküle erhält man, indem man - bei gleichem Sollwert für die Amplitude der Cantileverschwingung - die Ruheposition des Cantilevers für die Wechselwirkung mit dem reinen Substrat und jene mit adsorbiertem Molekül durch die numerische Lösung der Bewegungsgleichung errechnet. Anschließend bildet man dann eine Differenz zwischen diesen Werten. Die mathematischen Modelle für die Wechselwirkung zwischen der Probe und dem Cantilever für die verschiedenen Fälle werden in den nachfolgenden Kapiteln beschrieben.

Zunächst soll gegenübergestellt werden, welche Arten von Wechselwirkungen zwischen Probe und Cantilever zu erwarten sind, wenn dieser mit reinem Substrat bzw. wenn dieser mit einem auf dem Substrat adsorbierten Dendrimer interagiert. In beiden Fällen wirken zwischen der Probe und dem Cantilever attraktive van-der-Waals-Kräfte. Die van-der-Waals-Kräfte $F_{vdW,O}$ zwischen Cantilever und Substrat treten dabei in beiden Fällen auf, da die Cantileverspitze und das Molekül eine ähnliche Größe haben und die Wechselwirkung mit dem Substrat daher nicht vernachlässigt werden kann. Wenn auf dem Substrat ein Dendrimer adsorbiert ist, dann treten also sowohl van-der-Waals-Kräfte $F_{vdW,O}$ zwischen Cantilever und Substrat als auch van-der-Waals-Kräfte zwischen Molekül und Cantilever $F_{vdW,M}$ auf. Aufgrund der hydrophilen Eigenschaften von Muskovit und Silizium wird davon ausgegangen, dass die Cantileverspitze und die Muskovit-Probenoberfläche in atmosphärischer Umgebung mit Wasser benetzt sind [264]. Die Polyphenyl-Substituenten des Dendrimers hingegen sind hydrophob und adsorbieren keine Wassermoleküle. Bei der Wechselwirkung mit reinem Substrat wird deshalb bei einer gewissen Entfernung während eines Oszilla-

tionszyklus erwartet, dass die Wasserfilme auf Cantilever und Substrat einen Meniskus ausbilden. Es muss deshalb ebenfalls eine attraktive Kapillarkraft F_{Kap} berücksichtigt werden. Wenn sich der Cantilever an einer Stelle mit Molekül befindet, wird angenommen, dass durch die hydrophoben Eigenschaften des Moleküls sich kein Meniskus ausbilden kann. Tritt die Cantileverspitze schließlich in mechanischen Kontakt¹⁶ zur Probe treten repulsive Rückstellkräfte auf den Cantilever aufgrund der Verformung von Spitze und Probe auf: $F_{rep,O}$ für die Rückstellkraft bei der Verformung von reinem Substrat und $F_{rep,M}$, wenn eines der Dendrimere verformt wird. Die wirkenden Kräfte zwischen Cantilever und Substrat $F_{S,O}$ und zwischen Cantilever und Substrat mit adsorbierten Molekül $F_{S,M}$ setzen sich additiv aus diesen Kraftanteilen zusammen (siehe Gleichungen 5.11 und 5.12).

$$F_{S,O} = F_{vdW,O} + F_{Kap} + F_{rep,O} \quad (5.11)$$

$$F_{S,M} = F_{vdW,M} + F_{vdW,O} + F_{rep,M} \quad (5.12)$$

Die Unterschiedlichkeit von $F_{S,O}$ und $F_{S,M}$ wirkt sich auf den gemessenen Höhenkontrast aus. Abweichungen des erhaltenen Höhenkontrastes von der tatsächlichen Höhe des Moleküls auf der Oberfläche sind zu erwarten, insbesondere da Kapillarkräfte nur bei der Wechselwirkung mit dem Substrat erwartet werden, aber auch aufgrund der zusätzlichen attraktiven Kraftwirkung des Substrats bei der Wechselwirkung des Cantilevers mit einem adsorbierten Molekül und infolge unterschiedlicher materialspezifischer Eigenschaften (zum Beispiel bei den Rückstellkräften von Substrat und Molekül).

5.3.1.3 Modellierung der Wechselwirkung zwischen Cantilever und Probe

Die verschiedenen Komponenten von $F_{S,O}$ und $F_{S,M}$ werden in Kapitel 2.1.2 beschrieben. Im Folgenden wird nun die mathematische Modellierung der zwischen Cantilever und Probe wirkenden Kräfte für die numerischen Berechnungen des zu erwartenden Höhenkontrasts in dieser Arbeit erläutert. Es wird dabei - insbesondere im Bezug auf den Einfluss der adsorbierten Wasserfilme auf Substrat und Cantileverspitze auf die Wechselwirkungen - auf die Modellierung aus den Arbeiten von Santos et. al. [80, 81, 148, 197, 265, 266] zurückgegriffen. Diese wird an die Parameter der Messungen dieser Arbeit und die drei diskutierten Modelle für das Molekül auf der Oberfläche (Kapitel 5.3.1.1) angepasst. Eine zentrale Erkenntnis von Santos et. al. ist die Feststellung, dass die Anwesenheit von adsorbierten Wasserfilmen auf Cantileverspitze und Substratoberfläche die für van-der-Waals-Kräfte zwischen Spitze und Substratoberfläche relevante Distanz effektiv um die Höhe der Wasserfilme verringern. Das Einsetzen der van-der-Waals-Kräfte im adhäsiven Kontakt (also der nicht mehr abstandsabhängigen van-der-Waals-Kräfte) beginnt demnach auch, sobald die Wasserfilme in Kontakt treten (zum Beispiel beim Herausbilden eines kapillaren

¹⁶Mit mechanischen Kontakt ist dabei gemeint, dass sich die Atome von Spitze und Probe aufgrund starker Pauli-Repulsion nicht weiter annähern können, siehe Kapitel 2.1.3.

Meniskus). Die van-der-Waals-Kräfte beim Kontakt der Wasserfilme sind zunächst vor allem von den Materialeigenschaften des Wassers dominiert. Sobald ein direkter mechanischer Kontakt von Cantileverspitze und Probe hergestellt ist, sind die van-der-Waals-Kräfte von den Stoffeigenschaften dieser Substanzen geprägt. Der Übergang zwischen diesen beiden Grenzfällen wird von Santos et. al. in wesentlichen Teilen phänomenologisch beschrieben.

Es soll zunächst der Fall betrachtet werden, in welchem die Cantileverspitze mit der Substratoberfläche ohne adsorbiertes Molekül wechselwirkt. Der Abstand der Cantileverspitze von der Substratoberfläche wird als d bezeichnet. Vereinfachend wird davon ausgegangen, dass die auf Muskovit und Silizium adsorbierten Wasserfilme eine ähnliche Dicke h_w haben. Die van-der-Waals-Wechselwirkung zwischen Substrat und Cantileverspitze erfolgt nach Santos [80, 81, 148, 197, 265, 266] daher über den effektiven Abstand $d_w = d - 2h_w$. Die Cantileverspitze wird dabei als Kugel mit dem Radius R_S genähert (siehe Gleichung 2.5). In Abbildung 5.21 sind verwendete Größen dieser Modellierung schematisch dargestellt. Eine Betrachtung der verschiedenen Wechselwirkungsbereiche beim Annähern und Entfernen der Spitze ist für den Kraftanteil der van-der-Waals-Kräfte in Gleichung 5.13 zu finden.

$$F_{vdW,O} = \begin{cases} -\frac{H_w R_S}{6} \cdot \frac{1}{d_w^2} & \text{(a) ohne Meniskus und } d > d_{on} \\ -\frac{H^* R_S}{6} \cdot \frac{1}{a_0^2} & \text{(b) mit Meniskus und } a_0 < d \leq d_{on} \\ -\frac{H_{S,O} R_S}{6} \cdot \frac{1}{a_0^2} & \text{(c) mit Meniskus und } d \leq a_0 \\ -\frac{F_{Doff} - F_{Don}}{d_{off} - d_{on}} \cdot (d - d_{on}) + F_{Don} & \text{(d) mit Meniskus und } d_{on} < d \leq d_{off} \end{cases} \quad (5.13)$$

Solange sich die Spitze in einem Abstand vom Substrat befindet, bei dem sich noch kein kapillarer Wassermeniskus ausbildet, ist die van-der-Waals-Kraft abhängig von d_w . Da außerdem die van-der-Waals-Wechselwirkung vor allem dominiert ist durch die Wechselwirkung der Atome der Wassermoleküle auf den Oberflächen von Substrat und Spitze, wird die Hamaker-Konstante von Wasser H_w genutzt, um die stoffspezifischen Eigenschaften der Wechselwirkung auf dieser Distanz zu charakterisieren [144]. Wenn die Distanz zwischen Spitze und Substrat im Verlauf eines Oszillationszyklus nun sukzessive verringert wird, bildet sich ab einer bestimmten Distanz d_{on} ein Wassermeniskus zwischen Spitze und Substrat. Im Rahmen dieser Arbeit wird die Abschätzung $d_{on} = 3h_w$ gewählt, was ein in der Literatur ebenfalls häufig verwendeter Wert ist [80, 144]. Dieser Wert spiegelt die Erwartung wider, dass der kapillare Meniskus sich bereits ausbildet, bevor die beiden Wasserfilme in Kontakt treten. Dies kann einerseits durch Kondensation von Luftfeuchtigkeit in den Zwischenraum zwischen Spitze und Substrat geschehen, aber auch durch spontane Verformung der Was-

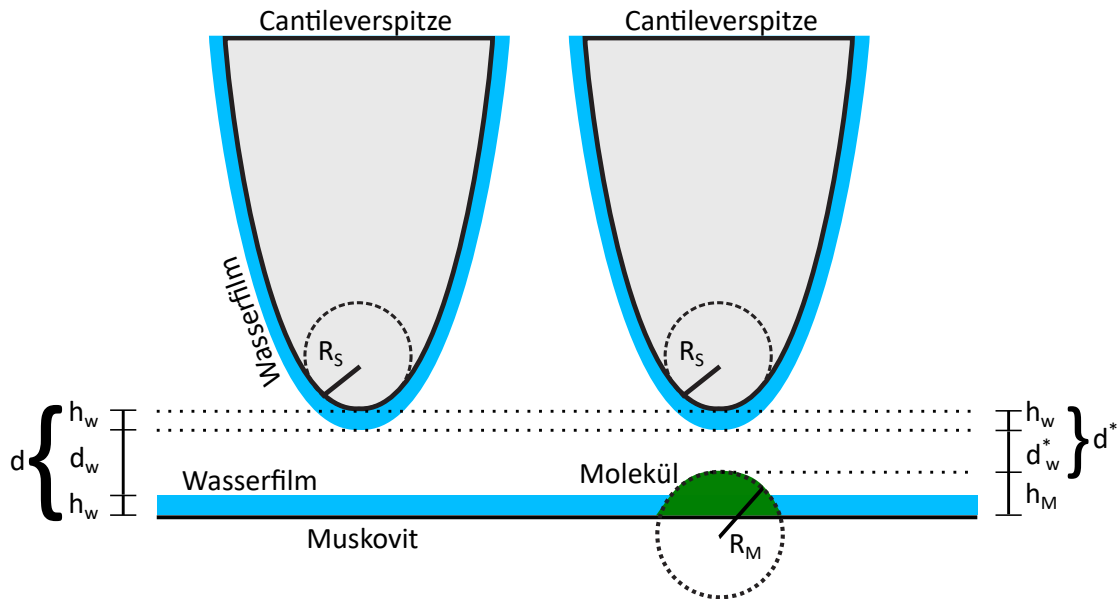


Abbildung 5.21: Schematische Darstellung einiger der Parameter, die in der mathematischen Modellierung der Cantilever-Probe-Wechselwirkung verwendet werden. Links für die Wechselwirkung mit dem Substrat und rechts für die Wechselwirkung mit einem auf dem Substrat adsorbierten Molekül (Das Molekülmodell Kalotte wurde hier als Beispiel gewählt).

serfilme zueinander durch attraktive Wechselwirkungen. Die attraktive van-der-Waals-Kraft ist nun dominiert vom direkten Kontakt der Wassermoleküle und nicht mehr vom effektiven Abstand der Spitze zur Substratprobe. Der feste intermolekulare Abstand a_0 ersetzt deshalb die effektive Distanz d_w bei Berechnung von $F_{vdW,O}$. Bei weiterer Annäherung und mit zunehmender Verdrängung des Wassers zwischen Spitze und Substratoberfläche werden die stoffspezifischen Eigenschaften der Wechselwirkung zunehmend charakterisiert von dem Spitzenmaterial und Substrat. Deshalb wird nach Santos et al. [80] die Hamaker-Konstante H^* in dem Wechselwirkungsbereich zwischen dem direkten Spitzesubstrat-Kontakt bei $d \leq a_0$ und dem Punkt des Reißens des Meniskus beim Entfernen der Spitze d_{off} interpoliert zwischen der Hamaker-Konstante des direkten Spitzesubstrat-Kontakts $H_{S,O}$ (bei $d \leq a_0$) und der des Wassers H_w (siehe Gleichung 5.14). Die Hamaker-Konstante der Wechselwirkung von Silizium mit Muskovit kann nach Gleichung 2.7 aus den Hamaker-Konstanten der Einzelmaterialien abgeschätzt werden.

$$H^* = \frac{H_w - H_{S,O}}{d_{off} - a_0} \cdot (d - a_0) + H_{S,O} \quad (5.14)$$

$$d_{off} \approx V_{men}^{(1/3)} - \frac{1}{5R_S} V_{men}^{(2/3)} \quad (5.15)$$

$$V_{men} = 4\pi R_S h_w^2 + \frac{4}{3}\pi h_w^3 + 2\pi r_{DMT} h_w \quad (5.16)$$

Die Distanz d_{off} , bei welcher der Meniskus beim Entfernen der Spitze reißt, kann approximiert werden nach Gleichung 5.15 [80, 146, 147]. Es gilt stets $d_{on} < d_{off}$. Das dafür benötigte Meniskusvolumen kann nach Gleichung 5.16 aus geometrischen Überlegungen abgeschätzt werden [80, 147]. Der letzte Term in Gleichung 5.16 ist abhängig von dem Kontaktradius $r_{DMT} = \sqrt{R_S \delta}$ [85] zwischen Spitze und Substratoberfläche nach dem DMT-Modell, wobei $\delta = a_0 - d$ die Einkerbung der Spitze in das Substrat ist. Ohne direkten Spitze-Substrat-Kontakt gilt demnach stets $r_{DMT} = 0$.

$$F_{Don} = -\frac{R_S}{6a_0^2} \left(\frac{H_w - H_{S,O}}{d_{off} - a_0} \cdot (d_{on} - a_0) + H_{S,O} \right) \quad (5.17)$$

$$F_{Doff} = -C_{off} \frac{H_w R_S}{6a_0^2} \quad (5.18)$$

Der Wechselwirkungsbereich zwischen d_{on} und d_{off} wird abstandsabhängig linear zwischen den Werten F_{Don} und F_{Doff} interpoliert. F_{Don} und F_{Doff} sind durch die Gleichungen 5.17 und 5.18 definiert. F_{Don} entspricht dabei dem Ausdruck von Gleichung 5.13 Fall (b) an der Stelle d_{on} und F_{Doff} dem Ausdruck an Stelle d_{off} , jedoch multipliziert mit einer Konstante C_{off} . Für diese Konstante wurde von Santos et. al. relativ willkürlich der Wert $C_{off} = 0,15$ gewählt [80], jedoch ist dieser geeignet, den relativ starken beobachteten Abfall von adhäsiven Kräften im betrachteten Wechselwirkungsbereich zwischen d_{on} und d_{off} vor dem Reißen des Meniskus phänomenologisch nachzubilden und wird deshalb auch in den hiesigen Berechnungen eingesetzt.

Im Abstandsbereich, in welchem der Wassermeniskus existiert, beim Annähern der Spitze zwischen d_{on} und Kontaktpunkt $d = a_0$ und beim Entfernen der Spitze zwischen Kontaktpunkt und d_{off} , wirkt außerdem die Kapillarkraft aufgrund der Oberflächenspannung und Krümmung der Wasseroberfläche nach Gleichung 5.19.

$$F_{Kap} = -\frac{4\pi\gamma R_S}{1 + \frac{\pi R_S d^2}{V_{men}}} \quad (5.19)$$

Bei Gleichung 5.19 handelt es sich um eine Modellierung der Kapillarkraft bei näherungsweise konstantem Meniskusvolumen (vergleiche dazu Gleichung 2.13). Da die Oberflächen von Silizium (mit einer vermutlich oxidierten Schicht an der Oberfläche) und Muskovit als

hydrophil angesehen werden, werden kleine Kontaktwinkel erwartet. Es wird hier deshalb die Näherung $\chi = \cos \theta_S + \cos \theta_O \approx 2$ verwendet (siehe Gleichung 2.12).

Bei weiterer Annäherung der Spitze, wenn sich diese schon in Kontakt zum Substrat befindet ($d \leq a_0$), kommt es zu einer Verformung von Spitze und Substrat mit der Einkerbung $\delta = a_0 - d$, welche zu einer Rückstellkraft $F_{rep,O}$ führt. Die Rückstellkraft kann mit dem DMT-Modell für den Kontakt von Kugel mit einer Fläche genähert werden kann (siehe Gleichung 2.14). Das dafür benötigte effektive Elastizitätsmodul E^* kann nach Gleichung 2.15 mit der materialspezifischen Poissonzahl ν_x und dem Elastizitätsmodul E_x von Silizium und Muskovit errechnet werden.

Es soll nun der Fall betrachtet werden, in dem die Cantileverspitze mit der Probe an einer der Positionen wechselwirkt, an welcher ein Molekül auf dem Substrat adsorbiert ist. Die Distanz d ist erneut der Abstand zwischen Substrat und Spitze. Der Abstand zwischen dem höchsten Punkt des Moleküls und der Cantileverspitze ist daher $d^* = d - h_M$, wobei h_M die Höhe des Moleküls ist. Das betrachtete hypothetische Modell - Kugel, Halbkugel oder Kalotte (siehe Kapitel 5.3.1.1) - des adsorbierten Moleküls definiert dabei h_M . Im Fall des Kugelmodells entspricht h_M dem zweifachen Radius, bei der Halbkugel deren einfachen Radius (und damit der abgeschätzten Länge eines Substituenten, s.o.) und bei der Kalotte h_{kal} . Wie bereits diskutiert, wird aufgrund des hydrophoben Charakters kein Wasserfilm auf dem Molekül erwartet. Die effektive Distanz von Cantileverspitze und Molekül ist daher $d_w^* = d - h_M - h_w$. Es wird außerdem angenommen, dass sich oberhalb der Position des hydrophoben Moleküls kein Meniskus formen kann. Bei der Modellierung der van-der-Waals-Kräfte zwischen Molekül und Cantileverspitze werden alle drei Molekülmodelle näherungsweise als Kugeln, aber mit jeweils unterschiedlichen Krümmungsradien der Oberfläche R_M behandelt. Bei den Modellen Halbkugel und Kalotte wird davon ausgegangen, dass Atome, welche sich weit außerhalb des Bereichs um den späteren Kontaktpunkt zwischen Spitze und Molekül befinden, aufgrund der starken Abstandsabhängigkeit nur einen sehr kleinen Beitrag zur van-der-Waals-Kraft liefern. Die Kraft wird stattdessen dominiert von den Atomen im Bereich um den späteren Kontaktpunkt (also diesen, die den geringsten Abstand zueinander haben). Dies rechtfertigt die Näherung der Modelle Halbkugel und Kalotte als Kugeln für den Zweck der mathematischen Beschreibung der van-der-Waals-Kräfte (eine vergleichbare Näherung wird bereits für die Cantileverspitze eingesetzt, welche auch als Kugel genähert wird, obwohl sie nur im Bereich des Apex' der Spitze einer Kugel näherungsweise entspricht). Gleichung 5.20 zeigt den Kraftanteil der van-der-Waals-Kräfte zwischen Spitze und Molekül $F_{vdM,M}$ in den verschiedenen Wechselwirkungsbereichen.

$$F_{vdW,M} = \begin{cases} -\frac{H_{w,M}R^*}{6} \cdot \frac{1}{d_w^{*2}} & \text{(a) wenn } d_w^* > a_0 \\ -\frac{H^{**}R^*}{6} \cdot \frac{1}{a_0^2} & \text{(b) wenn } d_w^* \leq a_0 \text{ und } d^* > a_0 \\ -\frac{H_{S,M}R^*}{6} \cdot \frac{1}{a_0^2} & \text{(c) wenn } d^* \leq a_0 \end{cases} \quad (5.20)$$

Die Modellierung der van-der-Waals-Kräfte zwischen Molekül und Spitze folgt also analogen Überlegungen, wie bei der Wechselwirkung von der Spitze mit reinem Substrat. Statt des Radius' der Cantileverspitze wird ein effektiver Radius R^* eingesetzt, welcher sich aus dem Spitzenradius R_S und dem Krümmungsradius R_M der Oberfläche des Molekülmodells ergibt:

$$R^* = \frac{R_S \cdot R_M}{R_S + R_M} \quad (5.21)$$

Solange der Wasserfilm der Spitze keinen Kontakt zum Molekül hat ($d_w^* > a_0$), sind die stoffspezifischen Eigenschaften geprägt von der Interaktion der auf der Spitze adsorbierten Wassermoleküle mit den Atomen des Probenmoleküls ($H_{w,M}$, erhaltbar nach Gleichung 2.7). Ab Kontakt des Wasserfilms zum Molekül wird die Hamaker-Konstante linear interpoliert zwischen dieser Position zu der Position des direkten Kontakts der Spitze mit dem Molekül:

$$H^{**} = \frac{H_{w,M} - H_{S,M}}{h} \cdot (d^* - a_0) + H_{S,M} \quad (5.22)$$

Nach direktem Kontakt der Spitze zum Molekül ($d^* \leq a_0$) wird die Hamaker-Konstante der Wechselwirkung zwischen Spitze und Molekül $H_{S,M}$ verwendet. Sobald der direkte Kontakt hergestellt ist, kommt es bei weiterer Annäherung zur Verformung des Moleküls unter der Krafteinwirkung der Spitze. Die Einkerbung ist hier $\delta^* = a_0 - d^*$. Bei der Betrachtung des adsorbierten Moleküls als Kugel kann das Tataro-Modell (Gleichung 2.16) eine Modellierung der Rückstellkraft $F_{rep,M}$ liefern, da hier auch die Verformung des Kugelmodells des Moleküls in der Kontaktregion zum Substrat Berücksichtigung findet. Im Fall der Molekülapproximationen als Halbkugel und Kalotte jedoch, wo eine kreisförmige, näherungsweise flache Kontaktfläche postuliert ist, sollte das DMT-Modell für den Kontakt zwischen zwei Kugeln (erhaltbar aus Gleichung 2.14 durch Benutzung des effektiven Radius' R^*) eine passendere Modellierung der Rückstellkraft liefern, da hier nur von einer Verformung in der Kontaktregion zwischen den gewölbten Flächen von Molekül und Apex der Cantileverspitze ausgegangen wird.

Bei der Interaktion zwischen Spitze und eines auf einer Substratoberfläche adsorbierten Moleküls ist außerdem auch noch die Interaktion zwischen Spitze und Substrat zu berücksichtigen. Hier können für $F_{vdW,O}$ analoge Modellierungen zu Gleichung 5.13 vorgenommen werden. Da jedoch davon ausgegangen wird, dass sich kein Meniskus ausbilden kann (es tritt demnach auch keine Kapillarkraft auf), kommt es erst zu einem Kontakt der Wasserfilme bei $d_w \leq a_0$ (an Stelle von $d \leq d_{on}$). Der Term für den Bereich zwischen d_{on} und d_{off} entfällt. Für Cantileverspitzen mit deutlich kleinerem Radius als die laterale Ausdehnung des Moleküls ist diese Modellierung allerdings möglicherweise sehr ungenau, da nicht zwingend davon ausgegangen werden kann, dass es dort überhaupt zu einem Kontakt der Wasserfilme kommen kann. Dies fällt allerdings nur ins Gewicht, wenn sich die Cantileverspitze trotz dazwischenliegendem Moleküls der Substratoberfläche überhaupt soweit nähern kann, dass die Bedingung $d_w \leq a_0$ erfüllt ist.

5.3.1.4 Näherung der unbekannt materialspezifischen Konstanten

Die Werte für die stoffspezifischen Hamaker-Konstanten, Elastizitätsmodule und Poissonzahlen für Silizium und Muskovit, sowie die Hamaker-Konstante und die Oberflächenspannung von Wasser können in der Literatur gefunden werden [85, 117, 122, 267–269]. Die verwendeten Werte sind in Tabelle 5.4 aufgelistet. Für das untersuchte Molekül existieren jedoch keine solche Werte, weshalb eine Abschätzung nach chemischer Ähnlichkeit anhand von in der Literatur bekannten Daten vorgenommen wird: Aufgrund der großen Anzahl von Phenylringen in den dendritischen Substituenten des Moleküls werden dessen material-spezifische Werte für die hier vorgenommene Modellierung aus den Werten von Polystyrol errechnet.

Wie Gleichung 2.6 zu entnehmen ist, zeigen Hamaker-Konstanten eine Abhängigkeit von der Atomdichte q_i der wechselwirkenden Materialien. Dies bedeutet, dass für die Abschätzung der Hamaker-Konstante H_M des untersuchten Moleküls die Hamaker-Konstante von Polystyrol H_{PS} [117] auf die im Dendrimer vorherrschende Atomdichte korrigiert werden muss. Für die Hamaker-Konstanten der Wechselwirkung der jeweiligen Molekülmodelle mit einander gilt daher:

$$H_M = H_{PS} \cdot \left(\frac{q_M}{q_{PS}} \right)^2 \quad (5.23)$$

Die Atomdichte q_{PS} von Polystyrol kann erhalten werden aus dessen Massendichte [270, 271] und der Molmasse der Summenformel $((CH)_n, M_{PS} \approx 13\text{g/mol})$. Die Atomdichte der Molekülmodelle hingegen ergibt sich aus der Summenformel des Moleküls ($C_{1000}H_{674}N_{26}O_8$) und dem Volumen des verwendeten Modells (Kugel, Halbkugel oder Kalotte).

Als Ausgangspunkt für die Berechnung des Elastizitätsmoduls wird das bekannte Elastizitätsmodul von Polystyrol-Nanosphären E_{PS} gewählt [272], welche einen Durchmesser von

Tabelle 5.4: Stoffspezifische Konstanten bei der Modellierung der Wechselwirkungen

Material	H	E	ν	Quellen
Muskovit	9,86	79	0,25	[117, 267, 268]
Silizium	18,65	158	0,27	[85, 117]
Polystyrol	6,58	8	0,33	[117, 272, 274]
	10^{-20}J	GPa		

ρ_{PS}	γ_w	H_w	a_0	Quellen
51,0	73	3,7	180	[117, 269–271, 275, 276]
g/cm^3	mN/m	10^{-20}J	pm	

einigen Nanometern haben (an Stelle des Elastizitätsmoduls der Polystyrol-Bulkware). Dies sollte eine bessere Approximation an das wenige Nanometer große Makromolekül liefern. Auch die elastische Antwort eines verformten Körpers hat eine Abhängigkeit von der Dichte des Materials. Eine Abschätzung kann mit folgendem Zusammenhang beschrieben werden [273].

$$c_s \approx \sqrt{\frac{E}{\rho}} \quad (5.24)$$

Hierbei ist c_s die Schallgeschwindigkeit des betrachteten Mediums, welche ebenfalls eine Abhängigkeit von dessen Dichte zeigt. Es kann jedoch als Faustregel gelten: Das Elastizitätsmodul wächst mit steigender Dichte, die Schallgeschwindigkeit ändert sich hingegen vor allem mit Veränderung der Ordnung des Mediums, also insbesondere bei einem Phasenübergang [273]. Für den Zweck der Modellierung des Elastizitätsmoduls der untersuchten Moleküle wird daher angenommen, dass der Quotient aus Elastizitätsmodul und Dichte konstant ist. Somit kann zum Abschätzen des Elastizitätsmoduls die Dichte von Polystyrol und dem jeweiligen Molekülmodell ins Verhältnis gesetzt und damit ein Modifikationsfaktor zu E_{PS} erhalten werden. Die Poissonzahl des Polystyrols ν_{PS} wird für diese Modellierung als konstant angenommen (Für viele Polystyrol-Schäume wurde nur eine schwache Abhängigkeit von der Dichte gefunden [274]).

Neben den materialspezifischen Konstanten für das Molekül muss für die Modellierung der Wechselwirkungen ebenfalls ein Wert für den intermolekularen Abstand a_0 festgelegt werden. Der Abstand a_0 definiert die Distanz, ab welcher zwei Körper (zum Beispiel Cantileverspitze und Substratoberfläche) in mechanischem Kontakt stehen. Weitere Annäherungen nach diesem Punkt führen zu elastischen Verformungen der Körper. Wenn auf mindestens einem der Körper ein Wasserfilm vorhanden ist, definiert a_0 außerdem die Distanz, ab welcher es statt einer weiteren Annäherung zu einer Verdrängung von Wassermolekülen aus dem Zwischenraum zwischen den Körpern kommt.

Wassermoleküle wechselwirken miteinander unter anderem über Wasserstoffbrückenbindungen. Auch an der Grenzfläche zwischen Silikat (Muskovit) und passiviertem (also oxidiertem) Silizium erscheint die Ausbildung von Wasserstoffbrücken wahrscheinlich. Daher erscheint die Länge einer solchen Bindung ein sinnvolles Maß für den Abstand zu sein, nach welchem eine Verdrängung von Wasser bzw. Verformungen von Spitze und Probe eintreten. Für die Modellierung wurde die im Vergleich zu flüssigem Wasser etwas kürzere Bindungslänge von Wasserstoffbrückenbindungen in Eis gewählt [275, 276]. Es wurde diese untere Abschätzung dieser Bindungslänge gewählt, da angesichts der Kraftwirkung der Cantileverspitze der kleinstmögliche Bindungsabstand zwischen den Atomen in der Grenzregion erwartet wird.

Eine Auflistung der verwendeten materialspezifischen Konstanten mit Angabe der verwendeten Quellen findet sich in Tabelle 5.4. In Abbildung 5.22 sind beispielhaft abstandsabhängige Wechselwirkungen zwischen Cantilever und Probe für die verschiedenen Molekülmodelle und das reine Substrat aufgetragen, die mit Hilfe der in Kapitel 5.3.1.3 beschriebenen Modellierung und den Werten aus Tabelle 5.4 erhalten wurden. Bei der Wechselwirkung der Cantileverspitze mit dem Substrat werden vor allem aufgrund der Kapillarkraft deutlich größere attraktive Kräfte errechnet als bei der Wechselwirkung mit dem hydrophoben Molekül auf der Substratoberfläche. Durch die unterschiedliche Position von Formung und Reißen des kapillaren Meniskus während einer Oszillation kommt es dort außerdem zu einer signifikanten Hysterese. Bei den drei Molekülmodellen treten die attraktiven und repulsiven Kräfte bei unterschiedlichen Abständen infolge der verschiedenen Höhen der Modelle auf. Es zeigen sich auch signifikante Unterschiede in der maximalen Stärke der attraktiven Wechselwirkungen und im Anstieg der repulsiven Kräfte. Dies ist vor allem das Resultat der dichteabhängigen Modellierung von Hamaker-Konstante und Elastizitätsmodul.

5.3.1.5 Numerische Kalkulation des erwarteten Höhenkontrastes

Die Modellierungen der Wechselwirkung zwischen Cantileverspitze und Substrat $F_{S,O}$ bzw. Molekül $F_{S,M}$ kann nun in die Bewegungsgleichung des harmonischen Oszillators (Gleichung 2.19 für $F_{S,P}$ eingesetzt werden.

$$0 = -m \frac{d^2 z}{dt^2} - \frac{\omega_0 \cdot m}{Q} \frac{dz}{dt} - k \cdot z + F_0 \cdot \cos(\omega t) + F_{S,P}(z, z_0) \quad (2.19)$$

Die Abschätzung einer Lösung $z(t)$ dieser Differentialgleichung zweiter Ordnung kann mit Hilfe des in Kapitel 2.3 beschriebenen Runge-Kutta-Verfahren erhalten werden. Dazu wird zunächst die Bewegungsgleichung des Cantilevers nach $d^2 z/dt^2$ aufgelöst und $u_1 = z$ und $u_2 = dz/dt$ substituiert. Der Zusammenhang zwischen effektiver Masse des

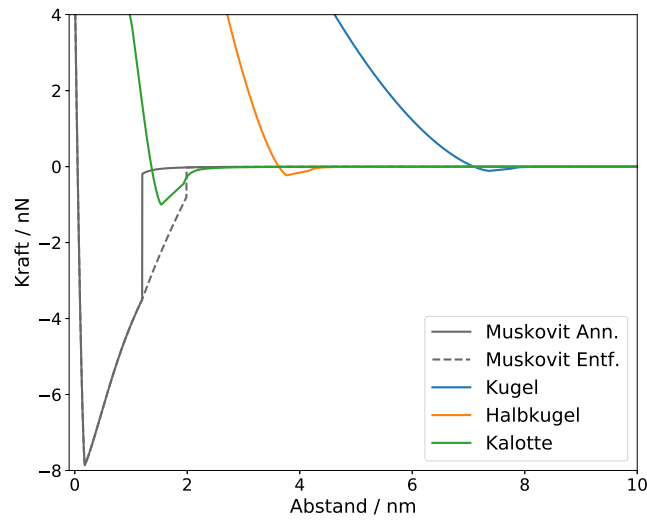


Abbildung 5.22: Beispielhafte Wechselwirkungsprofile zwischen Cantileverspitze und Probe, unterschieden nach Wechselwirkung mit reinem Substrat und der Wechselwirkung mit einem der drei Molekülmodelle auf dem Substrat. Zur Kalkulation der Profile wurde die Dicke der Wasserfilme auf $h_w = 0,4\text{nm}$ und der Radius der Cantileverspitze auf $R_s = 5\text{nm}$ gesetzt.

Punktmasse-Feder-Systeme m , Federkonstante k und Resonanzfrequenz ω_0 (Gleichung 2.20) wird eingesetzt und man erhält:

$$\frac{du_2}{dt} = -\frac{\omega_0}{Q}u_2 - \omega_0^2u_1 + \frac{F_0}{m} \cdot \cos(\omega t) + \frac{F_{S,P}(u_1, z_0)}{m} = g(u_1, u_2) \quad (5.25)$$

Wie in Kapitel 2.3 beschrieben, bilden u_1 und u_2 die beiden Koordinaten eines zweidimensionalen Vektors $u = (u_1, u_2)$, dessen Ableitung $du/dt = (u_2, g(u_1, u_2))$ ebenfalls eine Funktion der Vektorkoordinaten ist. Auf diese vektorielle Funktion kann das Runge-Kutta-Verfahren angewendet werden. Die Bewegung des Cantilevers, welche aus den Kräften, die in der Bewegungsgleichung enthalten sind, resultiert, wird dabei ausgehend von einem Anfangswert über einen bestimmten Zeitraum für Datenpunkte mit Abstand Δt numerisch kalkuliert. Als Anfangswert zur Zeit $t_0 = 0\text{s}$ wurde $u_1 = 0\text{m}$ und $u_2 = 0\text{m/s}$ gewählt. Demnach befindet sich der Cantilever im unausgelenkten Zustand und hat auch keine Anfangsgeschwindigkeit. Für den Endzeitpunkt t_{lim} des Zeitraums zur Kalkulation der Cantileverbewegung wurde die zehnfache Abklingzeit $\tau = 2Q/\omega_0$ des transienten Teils der Lösung der Bewegungsgleichung eines harmonischen Oszillators gewählt (siehe Kapitel 2.1.3.1). Die Schrittweite Δt zwischen den Datenpunkten wurde dabei so gewählt, dass in der Periodendauer der Resonanzschwingung $T = 2\pi/\omega_0$ 1024 Datenpunkte generiert werden. Die Gesamtzahl der Schritte beträgt demnach $n = 1024 * t_{lim}/T$ für jede numerische Kalkulation der Cantileverschwingung. Zur Bestimmung des statischen Teils der Lösung werden die Datenpunkte der letzten 10 Resonanzperiodendauern herangezogen. Hier kann davon ausgegangen

werden, dass der transiente Teil der Lösung insignifikant klein geworden ist gegenüber dem statischen Teil (nach der zehnfachen Abklingzeit ist der transiente Teil der Lösung auf $< 0,5\%$ abgefallen). An diese Datenpunkte wird mit einer Ausgleichsrechnung eine Funktion der folgenden Form angepasst:

$$z(t) = A_0 \cdot \cos(\omega t + \phi) \quad (5.26)$$

Für die durchgeführten Kalkulationen wurde die vom Hersteller angegebene Federkonstante k und die Resonanzkreisfrequenz $\omega_0 = 2\pi f_0$ des bei den Experimenten aus Kapitel 5.2 benutzten Cantilevers (SSS-FMR) eingesetzt (siehe dazu Kapitel 3.1.1). Als Wert für den Qualitätsfaktor Q wurde 120 eingesetzt, was einem typischen Wert für den freischwingenden Cantilever entspricht, der in diesen Experimenten eingesetzt wurde (SSS-FMR von Nanosensors). Die Frequenz ω der antreibenden Kraft wird - wie bei den Experimenten auch - etwas größer als die Resonanzfrequenz ω_0 gewählt, um den Cantilever möglichst im attraktiven Regime des intermittierenden Kontaktmodus' zu betreiben. Aus der Resonanzkurve, welche sich aus Gleichung 2.22 ergibt, wird dazu die Frequenz $\omega > \omega_0$ bestimmt, bei welcher die Amplitude bei gleichstarker Anregung um 10% geringer ist als im Maximum. Dies reproduziert die Vorgehensweise in den Experimenten, bei welchen die Antriebsfrequenz mit Hilfe der Messsoftware auf die gleiche Art aus der gemessenen Resonanzkurve des Cantilevers ermittelt wurde. Das Antreiben des Cantilevers bei einer Frequenz, welche 10% geringere Amplituden liefert als das Antreiben mit der Resonanzfrequenz, ist ein typischer Wert, welcher bei den Messungen verwendet wurde um eine stabile Wechselwirkung (ohne signifikante Sprünge in Phase oder Amplitude) zwischen Probe und Cantilever im intermittierenden Kontaktmodus zu erhalten.

Im ersten Schritt der numerischen Kalkulationen wird die Antriebskraft F_0 bestimmt, welche benötigt wird um die gewünschte Amplitude des freischwingenden Cantilevers A_t zu erhalten. Dazu wird die Kalkulation für einen freischwingenden Cantilever - also mit $F_{S,P} = 0$ - mit einer zufällig gewählten Antriebskraft durchgeführt und die Amplitude A_0 des stationären Lösungsteils bestimmt (siehe Gleichung 5.26). Die Antriebskraft wird daraufhin so verändert, dass $A_0 = A_t$ gilt (hier gilt ein proportionaler Zusammenhang).

Im nächsten Schritt wird für $F_{S,P}$ eine der oben beschriebenen Wechselwirkungen des Cantilevers mit der Probe eingesetzt: $F_{S,O}$ für die Wechselwirkung mit dem Muskovitsubstrat und $F_{S,M}$ für die Wechselwirkung mit einem auf Muskovit adsorbierten Molekül, wobei hier die drei verschiedenen diskutierten Modelle des Moleküls (Kugel, Halbkugel und Kalotte) und ihre jeweiligen Isomere ($8t$ bzw. $5c3t$) zu unterscheiden sind. Der für die Kalkulation von $F_{S,P}$ notwendige Abstand zwischen Cantileverspitze und Substratoberfläche d ergibt sich hierbei zu jedem Zeitpunkt t aus der Ruheposition der Cantileverspitze z_0 auf der z -Achse, deren Ursprung auf der Substratoberfläche liegt, und der Auslenkung $z(t)$ als $d = z_0 + z(t)$.

Der Abstand der Ruhepunkts des Cantilevers z_0 wird dabei zunächst so gewählt, dass der freischwingende Cantilever an seinem Umkehrpunkt gerade Kontakt zur Probe hätte, also $z_0 = A_t$ bei der Wechselwirkung mit reinem Muskovit bzw. $z_0 = A_t + h_M$ bei der Wechselwirkung mit einem auf dem Muskovit adsorbierten Molekül. Die Höhe h_M des Moleküls ist dabei abhängig vom gewählten Molekülmodell und dessen Konformation. Die resultierende Amplitude A_0 der stationären Lösung wird ermittelt und mit einer Sollwert-Amplitude A_d verglichen. Anschließend wird z_0 stufenweise in Schritten von mindestens¹⁷ 100pm verkleinert, bis A_0 mit der Soll-Amplitude A_d in einem Intervall von ± 20 pm übereinstimmt. Der Wert für z_0 , bei welchem der Sollwert erreicht ist, wird von hier an als z_d bezeichnet. Der kalkulierte zu erwartende Höhenkontrast der jeweiligen Molekülmodelle h_z ergibt sich aus der Differenz der erhaltenen Werte für z_d bei Wechselwirkung von reinem Muskovit ($F_{S,O}$) und bei Wechselwirkung mit einem auf dem Substrat adsorbierten Molekül ($F_{S,M}$).

Einige Messparameter streuen aufgrund schwankender Einflussfaktoren wie Luftfeuchtigkeit unter atmosphärischen Bedingungen, oder durch geringe Variation der exakten Messeinstellungen um eine stabile Wechselwirkung zwischen Cantilever und Probe zu erhalten. Es kann außerdem eine gewisse Fluktuation bei der Cantilever-Güte vermutet werden. Um den Einfluss dieser Parameter zu berücksichtigen, wurden die eingesetzten Werte für die Dicke des Wasserfilms h_w , den Durchmesser des Apex des Cantileverspitze R_S , die Amplitude der freien Schwingung A_t und des Sollwerts A_d/A_t über einen Bereich variiert, der typische Messbedingungen abbildet bzw. der realistischen Abschätzungen der Schwankungen der Cantilevergüte entspricht. Es wurde dabei stets von einem Standardfall ausgegangen ($h_w = 0,4$ nm, $R_S = 5$ nm, $A_t = 8$ nm, $A_d/A_t = 0,8$) und dann einer der Parameter variiert (h_w : 0,2 – 0,8 nm, R_S : 2 – 8 nm, A_t : 6 – 12 nm, A_d/A_t : 0,7 – 0,85).

5.3.1.6 Errechnete Höhenkontraste für die hypothetischen Molekülmodelle

In Abbildung 5.23 sind die erhaltene Werte für den Höhenkontrast h_z für die drei hypothetischen Molekülmodelle, bei allen Variationen von h_w , R_S , A_t und A_d/A_t zu finden. Die tatsächliche Höhe h_M der Molekülmodelle ist zum Vergleich in der jeweils gleichen Farbe wie h_z als gestrichelte Linie eingetragen.

Wie Abbildung 5.23 zu entnehmen, wirkt sich die Variation der Schichtdicke h_w der auf Substrat und Cantilever adsorbierten Wasserfilme von den verglichenen Parametern am stärksten auf den zu erwartenden Höhenkontrast aus. Bis auf wenige Ausnahmen sinkt dabei der Höhenkontrast mit steigendem h_w . Dies entspricht auch im Wesentlichen den Beobachtungen, welche von Santos et. al. gemacht wurden[80, 81, 148, 197, 265, 266]. Es lässt sich dabei insbesondere bei Kugel- und Halbkugelmodell über weite Teile der betrachteten Variation von h_w ein näherungsweise linearer Zusammenhang beobachten. Dies liegt vor allem an der Reduzierung des effektiven Abstandes zwischen Cantilever und Substrat und dem Apex der Cantileverspitze und an der Stärke der simulierten Wechsel-

¹⁷Die Schrittweite wurde verringert wenn sich A_0 der Sollwert-Amplitude A_d annäherte, um das anvisierte Genauigkeitsintervall zu treffen.

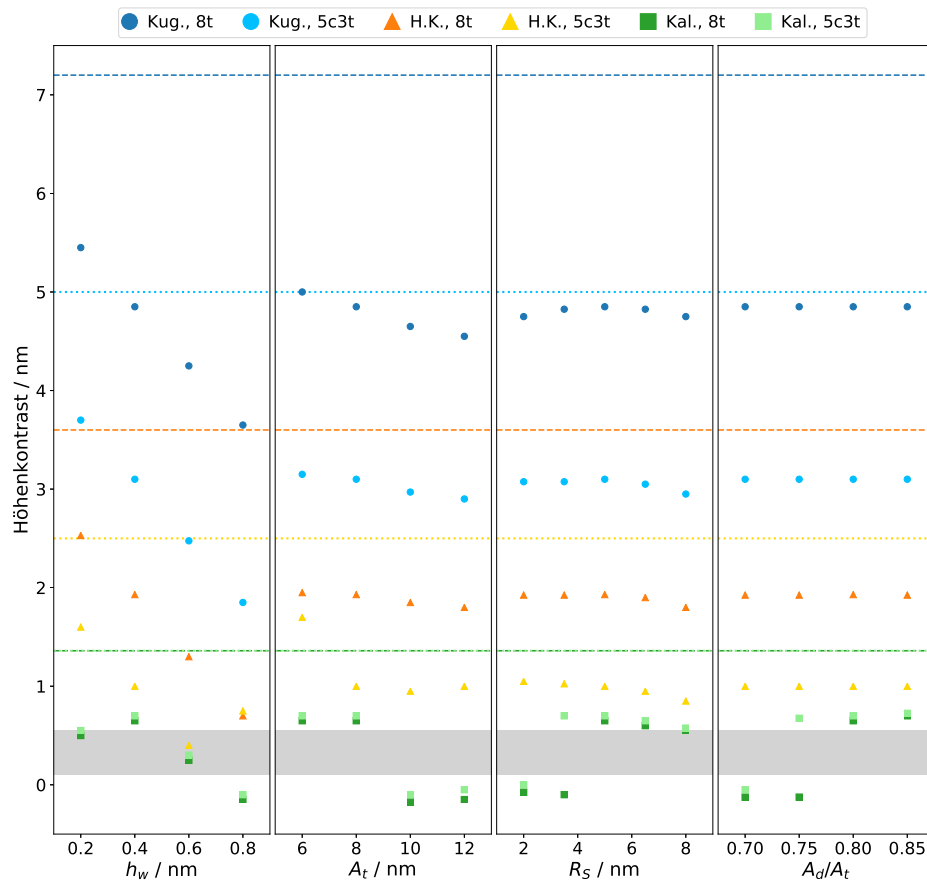


Abbildung 5.23: Ergebnisse der numerischen Kalkulation der zu erwartenden Höhenkontraste im Bereich der Messparameter für die drei hypothetischen Molekülmodelle in Abhängigkeit von der Dicke der Wasserfilme (ganz links), der Amplitude der freien Cantileverschwingung (Mitte links), des Radius' der Cantileverspitze (Mitte rechts) und des Sollwerts der gedämpften Cantileverschwingung (ganz rechts). Es wurde dabei immer von einem Standardfall ausgegangen ($h_w = 0,4 \text{ nm}$, $R_S = 5 \text{ nm}$, $A_t = 8 \text{ nm}$, $A_d/A_t = 0,8$), und einer der vier Parameter wurde über einen für die Messung typischen Bereich variiert, um Abhängigkeiten von diesem Parameter abzuschätzen. Die realen Höhen der Molekülmodelle sind als gestrichelte Linien in der jeweiligen Farbe eingezeichnet (Die realen Höhen der Molekülmodelle sind als gestrichelte Linien in der jeweiligen Farbe eingezeichnet (Die realen Höhen der Molekülmodelle sind als gestrichelte Linien in der jeweiligen Farbe eingezeichnet (Die realen Höhen der Molekülmodelle sind als gestrichelte Linien in der jeweiligen Farbe eingezeichnet). Der Bereich der in den Messungen erhaltenen Höhenwerte für die Moleküle ist grau unterlegt.

wirkung - durch Kapillarkraft und van-der-Waals-Kraft - dieser beiden Körper miteinander. Dadurch kommt es zu einer sehr effektiven Dämpfung schon kurz nach Berühren der beiden Wasserfilme.

Der Radius der Cantileverspitze R_S und die Amplitude der freien Schwingung A_t beeinflussen ebenfalls den erhaltenen Höhenkontrast, allerdings deutlich geringer als eine Variation der Dicke des Wasserfilms. Tendenziell verringert sich der Kontrast mit steigender Amplitude meist geringfügig, in wenigen Fällen aber auch sprunghaft, wie zum Beispiel zwischen $A_t = 8 \text{ nm}$ und $A_t = 10 \text{ nm}$ für beide Isomere des Molekülmodells der Kalotte. Bei dem

Radius des Apex' der Cantileverspitze R_S liefern sowohl die größeren, als auch die kleineren betrachteten Werte geringeren Höhenkontrast, als der Standardfall für diese Kalkulation von 5nm. Beim Kalottenmodell tritt ebenfalls eine sprunghafte Veränderung auf, wobei auch hier ein Unterschied zwischen den Isomeren zu erkennen ist. Ansonsten ist der Zusammenhang zwischen Höhenkontrast und Spitzenradius im betrachteten Intervall zwischen 2 und 8 nm allerdings klein. Der Sollwert hat bei dem Kugel- und bei dem Halbkugel-Modell des auf dem Substrat adsorbierten Moleküls in den betrachteten Fällen keine Auswirkung auf h_z . Beim Modell der Kalotte variiert der Höhenkontrast jedoch bei Veränderung des Sollwertes inklusive einer sprunghaften Änderung zwischen zwei der betrachteten Sollwerte. Bei beiden Isomeren kommt es zu so einer sprunghaften Veränderung, allerdings auch hier bei verschiedenen Werten.

Die Existenz von sprunghaften Veränderungen des zu erwartenden Höhenkontrastes bei Veränderung von einem der Parameter - vor allem beim Modell der Kalotte ist dies zu beobachten, aber auch in manchen Fällen beim Halbkugel-Modell - ist in erster Linie auf einen Wechsel zwischen verschiedenen möglichen Schwingungsmoden bei der Interaktion des Cantilevers mit dem adsorbierten Molekül zurückzuführen. Es handelt sich um einen Übergang von einer Oszillation mit kleinerer Amplitude zu einer mit größerer Amplitude oder umgekehrt (siehe dazu Kapitel 2.1.3.2). Welche resultierende Schwingungsmoden stabil ist, hängt von vielen Parametern der Schwingung und der physikalischen Eigenschaften von Cantilever und Probe ab. Ein Übergang zwischen zwei Schwingungsmoden tritt bei den hier durchgeführten Kalkulationen vor allem dann auf, wenn die oszillierende Bewegung des Cantilevers im rein attraktiven Wechselwirkungsregime nicht ausreichend gedämpft wird, um den Sollwert zu erreichen. Mit steigendem Einfluss der repulsiven Anteile der Wechselwirkungen steigt die Wahrscheinlichkeit für eine stabile Oszillation mit größerer Amplitude. Bei der Wechselwirkung des oszillierenden Cantilevers mit dem reinen Substrat kommen solche Wechsel zwischen verschiedenen stabilen Schwingungsmoden im Rahmen der hier durchgeführten Kalkulationen nicht vor, da die attraktiven Kräfte zwischen Cantilever und Substrat so groß sind (vergleiche dazu zum Beispiel Abbildung 5.22), dass es immer zu einer ausreichenden Dämpfung der Schwingung im attraktiven Regime der Wechselwirkung kommt. Bei einem Wechsel zu einer Schwingungsmoden mit größerer Amplitude muss die Ruheposition des Cantilevers weiter der Probe angenähert werden, um den gewünschten Sollwert zu erreichen. Da solch ein Wechsel bei der Interaktion des Cantilevers mit dem reinen Substrat aber ausbleibt, also nur bei der Interaktion mit einem auf dem Substrat adsorbierten Molekül auftritt, kommt es in solch einem Fall zu einer starken zusätzlichen Verringerung des Höhenkontrastes. In einigen Fällen wurden dadurch sogar negative Höhenkontraste berechnet. In Abbildung 5.24 ist der Sprung zwischen den Schwingungsmoden mit verschiedenen Amplituden bei der Annäherung des Cantilevers für das Beispiel des Kalottenmodells mit $R_S = 3,5$ nm aus Abbildung 5.23 dargestellt. Beim $8t$ -Isomer kommt es hier bei der Annäherung des Cantilevers zu einem Wechsel zu einer Oszillation mit einer größerer Amplitude, nicht jedoch beim $5c3t$ -Isomer. Dies ist vermutlich darauf zu-

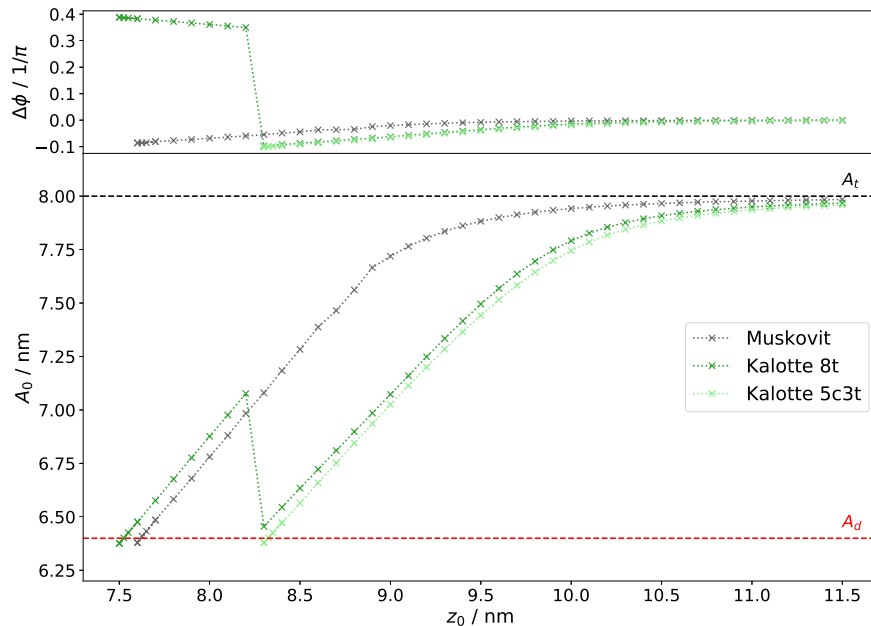


Abbildung 5.24: Beispiel für einen Sprung zwischen Schwingungsmoden. Betrachtet wird der Fall für das Modell Kalotte in bei einem Cantileverspitzenradius von $R_S = 3,5 \text{ nm}$ (siehe Abbildung 5.23). Bei dem $8t$ -Isomer kommt es bei den numerischen Berechnungen zu einem Sprung zwischen verschiedenen Schwingungsmoden, zu erkennen an der sprunghaften Änderung der Amplitude und der Phase bei weiterer Annäherung. Beim $5c3t$ -Isomer war dies nicht der Fall.

rückzuführen, dass die attraktiven van-der-Waals-Wechselwirkungen bei der verwendeten Modellierung beim $5c3t$ -Isomer größer sind, da dieses eine größere Hamaker-Konstante aufgrund höherer Atomdichte besitzt. Die Cantileverschwingung wird daher weitestgehend durch die attraktiven Kräfte gedämpft. Beim $8t$ -Isomer hingegen spielen repulsive Kräfte ab einer bestimmten Annäherung eine größere Rolle bei der Dämpfung und es kommt zu dem Wechsel in einen stabilen Schwingungsmodus mit anderer Amplitude (siehe Kapitel 2.1.3.2). Mit dem Amplitudenwechsel kommt es auch zu einem Phasensprung $\Delta\phi$. Durch die geringen attraktiven Wechselwirkungen beim Kugel-Modell kam es dort bei allen simulierten Annäherungen zu einem solchen Wechsel in einen Schwingungsmodus mit größerer Amplitude. Beim Halbkugel-Modell kam dies ebenso in den meisten, aber nicht allen, Fällen vor.

5.3.1.7 Vergleich mit den Ergebnissen aus den Rasterkraftmikroskopiemessungen

Es soll nun eine Abschätzung getroffen werden, welches der hypothetischen Modelle des auf dem Muskovit adsorbierten Dendrimers die beste Annäherung an die tatsächliche Struktur des Moleküls auf der Oberfläche darstellt. Dazu kann man die errechneten theoretischen Höhenkontraste der Molekülmodelle in der Variationsbreite der betrachteten Messparameter ($h_w, A_t, R_S, A_d/A_t$) mit den Höhenkontrasten, welche bei den Messungen typischerweise

beobachtet wurden (siehe Kapitel 5.2.3.3), vergleichen. In Abbildung 5.23 ist der ungefähre Bereich der erhaltenen Messwerte zur besseren Vergleichbarkeit grau unterlegt.

Es ist zu erkennen, dass die kalkulierten Werte für den Höhenkontrast beim hypothetischen Kalotte-Modell die beste Übereinstimmung mit den tatsächlichen gemessenen Höhenwerten der Dendrimere auf Muskovit aufweist. Die errechneten Werte befinden sich bei allen betrachteten Messparameterkombinationen im Bereich der gemessenen Höhenkontraste oder im Bereich vom maximal ca. 200 pm um diesen Bereich. Bei einigen wenigen Kombinationen von Messparametern liefert auch das Halbkugel-Modell Werte in der gleichen Größenordnung. Mit dem Modell Kugel hingegen, welches von den Eigenschaften des Dendrimers in Lösung abgeleitet war, können die kleinen gemessenen Höhenwerte nicht erklärt werden. Dies gilt auch, wenn man die geometrischen Effekte, den Einfluss der Wasserfilme, die unterschiedlichen Stoffeigenschaften von Molekül und Substrat und die Deformierung des Moleküls durch die Cantileverspitze berücksichtigt, welche alle zu einer Reduktion des Höhenkontrastes beitragen können. Das Kugelmodell ist folglich kein geeignetes Modell, um die räumliche Struktur des auf Muskovit adsorbierten Moleküls zu beschreiben. Dies wird auch dadurch unterstützt, dass es bei den Messungen nicht zu einem Sprung der Phase an der Position des Moleküls gekommen ist, wie es zu erwarten wäre, wenn der Cantilever an der Molekülposition in eine Schwingungsmode mit größerer Amplitude wechseln würde, wie er es in den Kalkulationen des Höhenkontrastes beim Modell Kugel stets getan hat.

Das Modell Kalotte zeigt zwar die größte Übereinstimmung mit den gemessenen Höhenwerten, jedoch kann dieses Modell nicht die Verringerung der Höhenkontrastes nach der Photoisomerisierung des Moleküls von der *8t*- zur *5c3t*-Variante erklären, welcher in bei den Messungen beobachtet wurde. Hierzu müsste einer der schaltbaren dendritischen Substituenten zumindest eine teilweise Ausrichtung in der *z*-Dimension haben. Für die Herleitung dieses Modells wurde jedoch davon ausgegangen, dass alle Substituenten stark mit der Muskovitoberfläche wechselwirken und deshalb so ausgerichtet sind, dass sie sich im Wesentlichen in der *x,y*-Ebene ausbreiten. Die Höhe der Kalotte war für beide Isomere durch den Durchmesser einer Generation der Polyphenyl-Rest gegeben. Strikt an dieser Modellierung orientiert wäre demnach keine signifikante Veränderung der Höhe des Moleküls auf der Oberfläche nach der Photoisomerisierung zu erwarten (oder nur solche welche durch geometrische Effekte zu erklären wären), sondern nur eine laterale Verkleinerung, welche ebenfalls beobachtet wurde.

Das Modell Halbkugel sagt eine Verringerung des Höhenkontrasts nach der Photoisomerisierung voraus, jedoch sind die Absolutwerte für den Großteil der Messparametervariationen weit von dem Regime der Messwerte entfernt. Die relative Größenänderung nach der Photoisomerisierung wird durch das Halbkugelmodell außerdem im Vergleich zu den Messwerten stark überschätzt. Dies ist vor allem auf den Versatz, welcher durch den Wasserfilm auf dem Muskovit entsteht zu erklären. Da die kalkulierten Werte des Halbkugelmodells in großen Teilen nicht so weit von den tatsächlichen Messwerten entfernt liegen wie bei dem

Kugelmodell, soll an dieser Stelle daraufhin gewiesen werden, dass zumindest ein Teil der Abweichung zwischen den Kalkulationen beim Halbkugelmodell und den Messwerten durch die Einschränkungen und Näherungen der verwendeten Modellierung der Wechselwirkung zwischen Cantilever und Probe erklärbar sein könnten. Es sei in Erinnerung gerufen, dass die Distanz der Ausbildung des Wassermeniskus $d_{on} = 3h_w$ nur eine willkürliche Festlegung war, welche in vergangenen Kalkulationen gute Übereinstimmungen mit Messwerten erzielt hatte [80, 144]. Es wurde außerdem vereinfachend die Annahme getroffen, dass die Wasserfilme auf Cantilever und Muskovit gleich dick seien, was aufgrund unterschiedlicher Hydrophilie der Materialien ebenfalls nur eine grobe Annäherung sein kann. Es kann vermutet werden, dass der Wasserfilm auf dem Muskovit etwas dicker ist als auf dem Siliziumcantilever. Zu dieser Vermutung kann man teilweise aufgrund der Materialeigenschaften [264], aber insbesondere aus geometrischen Überlegungen heraus - Wasser kondensiert leichter in Vertiefungen und Poren und als auf Erhebungen wie einer Spitze [122] - gelangen. Ein geringerer Wasserfilm auf der Cantileverspitze würde zu noch geringeren Höhenkontrasten bei den Kalkulationen führen. Die Werte des Halbkugelmodells würden damit noch näher an den Messwerten liegen. Außerdem wurden Kalotte und Halbkugel im Zuge der Modellierung der van-der-Waals-Wechselwirkung als Kugeln behandelt, da angenommen wurde, dass die Atome der Kontaktregion den Hauptteil der Wechselwirkung beitragen. Dennoch wird dies vermutlich zu einer (geringen) Überschätzung der wirkenden Kraft führen [197] und damit zu einer Erhöhung des erhaltenen Höhenkontrastes. Auch dies spricht demnach dafür, dass die tatsächlichen zu erwartenden Höhenkontraste noch niedriger sind als in den hier durchgeführten Kalkulationen. Wie in Kapitel 3.3.1 beschrieben, wird auf frisch gespaltenem Muskovit außerdem eine Schicht von Salzablagerungen (vor allem KHCO_3) erwartet, dessen Einfluss auf den Wasserfilm nicht bekannt ist und der in den Berechnungen deshalb auch keine Berücksichtigung fand. Es kann aber spekuliert werden, dass dieser zum Beispiel als eigene Ablagerungsschicht zu einem weiteren Versatz zwischen der vom Cantilever gemessenen Probenoberfläche und der Auflageebene des Moleküls führen könnte. Denkbar ist aber auch ein Effekt auf die Dicke und die Eigenschaften des Wasserfilms durch die Erhöhung der Hydrophilie der Oberfläche und die Ausbildung von Vertiefungen. Auch diese Effekte hätten die Tendenz, den Höhenkontrast noch weiter zu verringern. Weitere Einschränkungen der Modellierung der Wechselwirkung sind außerdem das Ignorieren geometrischer Effekte nach Kontakt der Wasserfilme (der Einfluss der Wasserfilme auf den Spitzenradius zum Beispiel) und die groben Näherungen, welche für die Materialeigenschaften des Moleküls getroffen werden mussten. Außerdem muss beachtet werden, dass die Eigenschaften des Moleküls, des Cantilevers und der Wasserfilme zum Zweck mathematischer Simplizität physikalisch so modelliert wurden, als handele es sich um makroskopische Körper (bei Cantileverspitze und Molekül) bzw. um ein Kontinuum (bei den Wasserfilmen). Auch hier kann es zu nicht unerheblichen Abweichungen zu den tatsächlichen physikalischen Eigenschaften kommen.

Unter Berücksichtigung der Näherungen und Einschränkungen der Modellierung der Wechselwirkung zwischen Cantilever und Probe können folgende Erkenntnisse aus den Kalkulationen gezogen werden: Die Ergebnisse legen nahe, dass adsorbierte Dendrimere in einer stark abgeflachten Form auf der Muskovitoberfläche vorliegen. Die beste Übereinstimmung mit den Absolutwerten für die maximale Höhe der Moleküle auf Muskovit liefert dabei das hypothetische Modell der Kalotte, jedoch kann dieses stark vereinfachte Modell nicht die Höhenwertabnahme nach der Photoisomerisierung erklären. Es wird daher angenommen, dass das auf Muskovit adsorbierte Dendrimer zwar durch die Wechselwirkung mit der reaktiven Oberfläche stark deformiert wird, jedoch noch immer zumindest eine teilweise Ausrichtung der Substituenten in z -Richtung existiert. Die tatsächliche Struktur des adsorbierten Moleküls kann daher vermutlich zwischen den beiden Modellen Kalotte und Halbkugel angesiedelt werden. Eine Struktur des adsorbierten Moleküls, welche jener in Lösung ähnelt, und welche hier durch das Modell Kugel angenähert wurde, kann jedoch nach den Erkenntnissen dieser Rechnungen ausgeschlossen werden.

5.3.2 Erklärung des Ausbleibens der Rückreaktion

Eine wesentliche Erkenntnis aus den Experimenten in Kapitel 5.2 ist, dass die Hinreaktion der Photoisomerisierung (*trans*-zu-*cis*) in der Regel induziert werden konnte, die Rückreaktion (*cis*-zu-*trans*) offensichtlich jedoch nicht stattfindet. Im Folgenden wird versucht, eine Erklärung für diese zunächst unerwartete Beobachtung zu finden.

Dass das Ausbleiben der Rückreaktion mit einer zu geringen Anregungsleistung bei 445nm zu begründen ist, kann als sehr unwahrscheinlich gelten. Die Anregungsleistung war in den meisten Fällen etwas höher als bei 375nm. Der Absorptionsquerschnitt des Moleküls bei 445nm ist zwar um ca. Faktor 5 geringer als bei 375nm, jedoch noch immer hoch und die Quantenausbeute ist mit $\Phi_{t-c} = 0,114$ und $\Phi_{c-t} = 0,794$ für beide Prozesse ebenfalls groß [79].

Eine wahrscheinlichere Erklärung für das Ausbleiben der *cis*-zu-*trans*-Photoisomerisierung ist ein Einfluss der Umgebung, in diesem Fall also insbesondere des Muskovitsubstrates und des Mediums Luft. Bei ähnlichen Experimenten in der Literatur wurden sterische Behinderungen, eine Verringerung der Lebenszeit des angeregten Zustandes, aus dem die Photoisomerisierung stattfindet oder eine Veränderung der Absorptionseigenschaften des Moleküls diskutiert [12, 277]. Beispielsweise wurde in Rastertunnelmikroskopie-Experimenten auf einer Goldoberfläche für Azobenzol eine Unterdrückung der Photoisomerisierung gefunden, welche auf eine Beeinflussung der elektronischen Zustände des Azobenzols zurückgeführt wurde (also entweder eine Löschung des angeregten Zustandes oder eine Veränderung der Absorption). Durch die Substitution des Azobenzols mit mehreren *tert*-Butyl-Gruppen als Abstandhalter zur Oberfläche konnte dies jedoch vermieden werden und die reversible Photoisomerisierung konnte beobachtet werden [12, 24, 25]. Bei den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Dendrimern sind die Substituenten an den Azobenzolgruppen

noch deutlich größer als *tert*-Butyl-Gruppen. Dies macht es unwahrscheinlicher, dass das vollständige Ausbleiben der Rückreaktion der Photoisomerisierung auf eine vergleichbare elektronische Ursache zurückzuführen ist wie bei dem unsubstituierten Azobenzol auf Gold, da die Substituenten hier mindestens so gute Abstandhalter sein sollten. Es ist allerdings zu beachten, dass das Substrat in diesem Fall Muskovit und nicht Gold war. Insbesondere die zu erwartenden Ladungsträger an der Grenzfläche eines gespaltenen Muskovit-Kristalls könnten die Reichweite der elektronischen Umgebungseffekte des Substrats erhöhen. So wurde zum Beispiel ein signifikanter Umgebungseffekt auf die photophysikalischen Eigenschaften des PDI-Kerns des Dendrimers beobachtet (siehe Kapitel 5.2.1.1). Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass ein elektronischer Effekt des Substrats eine Rolle bei der Unterdrückung der Rückreaktion der Photoisomerisierung spielt.

Eine andere Erklärungsmöglichkeit könnte sein, dass die *5c3t*-Konformation auf der Muskovitoberfläche derart stabilisiert wird, dass die Rückreaktion zur *8t*-Konformation sehr unwahrscheinlich wird. Die Ensemble-Charakterisierung des Schaltprozesses wurde in einem Lösemittel (Dichlormethan) durchgeführt [79]. Die Substituenten des Dendrimers waren also dabei sowohl in ihrer ausgebreiteten *trans*-Variante, als auch in der gefalteten *cis*-Variante von Solvent-Molekülen umgeben, mit welchen sie in eine stabilisierende Wechselwirkung treten konnten. Für die auf der Muskovitoberfläche adsorbierten Moleküle gilt dies jedoch nicht. Dort sind die Substituenten auf der einen Seite in Kontakt zu der Muskovitoberfläche und gegebenenfalls zu einer Adsorbatschicht aus Wassermolekülen und auf der Oberfläche abgeschiedenen Salzen, sowie zur Argon-reichen Atmosphäre der Probenkammer auf der anderen Seite. Von diesen Alternativen ist keine ein gutes Lösemittel für das Dendrimer (wie in Kapitel 5.3.1 beschrieben, wechselwirkt die reaktive Muskovitoberfläche durchaus mit dem Molekül, jedoch ist sie ein statischer Körper, kann also nicht in die Zwischenräume zwischen den Dendrimer-Substituenten eindringen, wie dies ein Lösemittel kann). Wenn das Molekül nach erfolgter Schaltung nun als *5c3t*-Isomer vorliegt, befinden sich die Substituenten nun in größerer Nähe zueinander, als es beim *8t*-Isomer der Fall ist. Dies bedeutet, dass sie somit auch stärker in Wechselwirkung treten können. Durch die hohe chemische Ähnlichkeit der Substituenten zueinander sollten die Substituenten also wie mit einem guten Lösemittel stabilisierende Wechselwirkungen zueinander eingehen, welche für den *cis*-zu-*trans*-Schaltvorgang aufgebrochen werden müssen. Beim Übergang des Moleküls zum *8t*-Isomer außerhalb eines Lösemittels würde sich also der Anteil des Moleküls vergrößern, welcher keine stabilisierenden Wechselwirkungen zu anderen Molekülteilen eingehen kann.

Um zu einer quantitativen Abschätzung des Ausmaßes dieses Effektes zu kommen, soll für ein Gedankenexperiment das Molekül als „Tropfen“ betrachtet werden, welcher aus seinen Substituenten bzw. Atomgruppen zusammengesetzt ist, welche miteinander wechselwirken. Dieser „Molekültropfen“ bildet zu dem äußeren Medium, mit dem seine Substituenten und Atomgruppen nicht mischbar sind, dann eine Quasi-Grenzfläche. Mit der Schaltung ändert sich das Volumen dieses Tropfens und damit auch die mittleren Abstände zwischen den

Atomgruppen, sowie die Oberfläche des Tropfens. Mit Hilfe einer Oberflächenspannung γ und Gleichung 2.9 (siehe dazu Kapitel 2.1.2.3) kann die Eigenschaft der Atomgruppen im Tropfen charakterisiert werden, energetisch günstigere Wechselwirkungen zu anderen Atomgruppen im Tropfen einzugehen, als zu dem Medium. Auf diese Weise kann nun die Energie abgeschätzt werden, welche nötig ist, um die Oberfläche dieses „Molekültropfens“ zu vergrößern. Befände das Molekül sich in einem Lösemittel, gäbe es diesen Energiebeitrag nicht, welcher aufgebracht werden muss, um das Molekül zu vergrößern, da $\gamma \leq 0$ gelten würde.

$$dW = \gamma * dA \quad (2.9)$$

Dieser Energiebetrag kann mit der Arbeit W_{az} verglichen werden, welche maximal von der Photoisomerisierung der Azobenzolgruppen geleistet werden kann. In Kraftspektroskopieexperimenten an Polypeptiden, welche Azobenzolgruppen enthalten [278], wurde als maximale Kraft, bei der die *trans*-zu-*cis*-Photoisomerisierung noch stattfindet $F_z = 400\text{pN}$ gemessen. Die Längenänderung des Polypeptids pro geschalteter Azobenzolgruppe entlang der Krafrichtung wurde als $\Delta z^* = 0,13 \text{ nm}$ abgeschätzt. Damit betrüge die maximale Arbeit, die durch die Schaltung einer Azobenzolgruppe geleistet werden kann $W_z = F_z * \Delta z^* = 5,2 \cdot 10^{-20} \text{ J}$. Es handelte sich dabei allerdings um die Hinreaktion der Photoisomerisierung (*trans*-zu-*cis*) und nicht wie in dem diesem Fall um die Rückreaktion. Es wird daher angenommen, dass sich die maximale verrichtbare Arbeit von Hin- und Rückreaktion der Azobenzolgruppe genug ähneln, dass dieser Wert W_z in guter Näherung die Größenordnung der Arbeit der Rückreaktion abbildet.

Für die Bestimmung der Oberflächenspannung γ ist zu berücksichtigen, dass sich der durchschnittliche Abstand zwischen den Atomen oder Atomgruppen durch den Photoisomerisierungsprozess signifikant ändert. Damit ändert sich auch die Stärke der abstandsabhängigen Wechselwirkungen, was einen Einfluss auf die Oberflächenspannung hat. Diese kann also für den Vorgang nicht als konstant angenommen werden, sondern ist ebenfalls eine Funktion der Dimensionen des Moleküls. Es existiert dabei ein Zusammenhang zur Hamaker-Konstante H_M und dem durchschnittlichen Abstand zwischen Atomen r_M für jedes Molekülmodell M [279]. Zur Kalkulation der Moleküleigenschaften wird wie in Kapitel 5.3.1 von den Stoffeigenschaften des Polystyrols ausgegangen.

$$\gamma_M = \frac{H_M}{24\pi r_M^2} \quad (5.27)$$

Die Hamaker-Konstante $H_M = H_{PS} \cdot (q_M/q_{PS})^2$ (siehe Gleichung 5.23) ist über die Raumdichte der Atome ebenfalls abhängig von den Dimensionen des Moleküls. Durch Einsetzen

des Zusammenhangs $q_M = (1/r_M^3) = (N_M/V)$ in Gleichung 2.9 kann ein Ausdruck für die Energieänderung in Abhängigkeit von den Moleküldimensionen erhalten werden. N_M ist hierbei die Anzahl der Atome des Moleküls und V das Volumen.

$$dW = \frac{H_{PS} \cdot N_M^{(8/3)}}{24\pi q_{PS}^2} \cdot \frac{1}{V^{(8/3)}} \cdot dA = C \cdot \frac{1}{V^{(8/3)}} \cdot dA \quad (5.28)$$

Volumen V und Oberfläche A ändern sich beim Photoisomerisierungsprozess. Für die drei Molekülmodelle Kugel, Halbkugel und Kalotte für das auf Muskovit adsorbierte Molekül aus Kapitel 5.3.1 können Ausdrücke für V und A eingesetzt werden und durch Integration zwischen den Abmessungen der $5c3t$ - und $8t$ -Variante des jeweiligen Molekülmodells die Energie berechnet werden, welche durch die Vergrößerung der Oberfläche zusätzlich benötigt wird. Die Herleitung dieser Gleichungen findet sich im Anhang (siehe Anhang A.9). Der Parameter, welcher sich durch die Photoisomerisierung von 2,5nm auf 3,6nm ändert, ist bei Kugel und Halbkugel der Radius R_M und bei der Kalotte der Radius der kreisförmigen Kontaktfläche a_{kal} (da hier angenommen wurde, dass sich die Substituenten durch die Wechselwirkung mit der Oberfläche hauptsächlich in der x, y -Ebene ausbreiten). Es ergeben sich für die drei Molekülmodelle die folgenden Zusammenhänge:

$$\Delta W_{Kugel} = \int_{R_{M,1}}^{R_{M,2}} dW = \left[- \left(\frac{4}{3} \right)^{-(5/3)} \pi^{-(5/3)} \cdot C \cdot R^{-6} \right]_{R_{M,1}}^{R_{M,2}} \quad (5.29)$$

$$\Delta W_{Halbkugel} = \int_{R_{M,1}}^{R_{M,2}} dW = \left[- \left(\frac{2}{3} \right)^{-(8/3)} \pi^{-(5/3)} \cdot C \cdot R^{-6} \right]_{R_{M,1}}^{R_{M,2}} \quad (5.30)$$

$$\Delta W_{Kalotte} = \int_{a_{kal,1}}^{a_{kal,2}} dW = \left[- \frac{2^{(11/3)} 3^{(8/3)}}{5} \pi^{-(5/3)} \cdot C \cdot h_{kal}^{-(8/3)} \cdot (3a_{kal}^2 + h_{kal}^2)^{-(5/3)} \right]_{a_{kal,1}}^{a_{kal,2}} \quad (5.31)$$

Es sollte beachtet werden, dass durch diese Modellierung nur die Außenfläche der Molekülmodelle als Grenzfläche zum äußeren Medium behandelt wird. Beim realen Molekül erscheint es nicht unwahrscheinlich, dass durch die Ausbreitung der Substituenten beim Übergang zum $8t$ -Isomer die Oberfläche noch stärker ansteigt, da sich Zwischenräume für das Medium im Molekül auftun. Durch die Rückreaktion der Photoisomerisierung geht das reale Molekül also eigentlich über zu einer Form mit größerem (und damit ungünstigerem) Oberfläche-zu-Volumen Verhältnis. In dieser Hinsicht ist die obige Modellierung eher als untere Abschätzung zu verstehen. Gleichzeitig ignoriert diese Modellierung bei den Modellen

Tabelle 5.5: ΔW_M der verschiedenen Molekülmodelle und Vergleich mit W_z

Modell	$\Delta W_M / 10^{-20} \text{J}$
Kugel	1,4
Halbkugel	6,7
Kalotte	57,8
Max. Arbeit d. Azobenzolgruppe	5,2

mit geringerem Volumen (Halbkugel und Kalotte) sterische Effekte durch die Verformung, welche unter Umständen das *5c3t*-Isomer stärker betreffen.

Die auf diese Weise erhaltenen Energiebeträge ΔW_M sind zusammen mit W_z in Tabelle 5.5 aufgelistet. Es ist zu erkennen, dass sich die maximale Arbeit, welche von einer Azobenzolgruppe geleistet werden kann und die Energiebeträge, die zum Vergrößern der Oberfläche der Molekülmodelle anfallen, in sehr ähnlichen Größenordnungen befinden. Die benötigte Energie zum Vergrößern der Oberfläche steigt von der Kugel über die Halbkugel zur Kalotte stark an. In der hier verwendeten Modellierung ist ΔW_{Kugel} nur ca. 0,3 mal so groß wie W_z , während $\Delta W_{Kalotte}$ über 11 mal größer ist. Dieser Unterschied ist darauf zurückzuführen, dass die Atome bei Halbkugel und Kalotte dichter zusammen sind als beim Modell Kugel und die van-der-Waals-Kräfte zwischen diesen bei kurzem Abständen stark ansteigen. Beim Übergang vom *5c3t*- zum *8t*-Isomer werden fünf Azobenzolgruppen geschaltet - W_z kann also fünf mal aufgebracht werden. Wie in Kapitel 5.3.1 ermittelt wurde, bietet das Modell Kalotte die beste Übereinstimmung mit den Messwerten für das Molekül auf der Muskovitoberfläche, wobei auch ein kleinerer Teil der Beobachtungen vom Halbkugelmodell besser erklärt wird.

Auch unter Berücksichtigung der Grobheit der Abschätzung wird daher angenommen, dass der Umgebungseffekt für die auf dem Muskovit adsorbierten Moleküle, welche sich nicht in einem geeigneten Lösemittel befinden und welche durch die Wechselwirkung mit der Oberfläche stark verformt werden, sehr wahrscheinlich groß genug ist, um das Ausbleiben der Rückreaktion in den Experimenten zu erklären. Ein auf der Muskovitoberfläche adsorbiertes Molekül ist durch die fehlenden Wechselwirkungen mit Lösemittelmolekülen in einem energetisch ungünstigeren Zustand als in Lösung. Durch die größere Oberfläche des *8t*-Isomers wirkt sich der Effekt auf dieses stärker aus als auf das *5c3t*-Isomer. Im Vergleich zur Lösung muss bei der Rückreaktion des Photoisomerisierungsprozesses also ein zusätzlicher Energiebetrag aufgebracht werden. Die Ergebnisse der hier durchgeführten Abschätzung legen dabei nahe, dass dieser Energiebetrag für die Moleküle in der deformierten und abgeflachten Struktur, wie sie auf Muskovit vorliegen, vermutlich größer ist, als die Energie, welche durch die *cis*-zu-*trans*-Isomerisierungen geleistet werden kann und diese somit effektiv unterdrückt werden.

5.4 Zusammenfassung der Ergebnisse und Diskussion

Bei den Experimenten dieser Arbeit an den Polyphenyl-PDI-Dendrimern konnte die Photoisomerisierung einzelner Moleküle, welche auf einer Muskovitoberfläche adsorbiert waren, durch die damit einhergehende Größenveränderung mit dem Rasterkraftmikroskop nachgewiesen werden. Ein auffälliger Befund war hierbei, dass die gemessenen Höhen der Moleküle sehr viel kleiner waren, als es durch die bekannten hydrodynamischen Radien in Lösung erwartet wurde. Thermisches Rauschen von Cantilever und Detektor der Auslenkung, sowie verbliebene, nicht-isolierte Oszillationen des Aufbaus waren deshalb nicht vernachlässigbar. Diese Störungen des Messsignals konnten signifikant reduziert werden durch Berechnung der Durchschnittstopografie aus einer Serie von Rasterkraftmikroskopie-Aufnahmen, die um ihre relative Verschiebung zueinander bereinigt wurden. Dies ermöglichte die Ermittlung von Höhe, lateraler Ausdehnung und Volumen der Moleküle auf der Oberfläche vor und nach den Bestrahlungen zum Auslösen der Photoreaktionen. Es wurde dabei die *trans*-zu-*cis*-Hinreaktion der Azobenzolgruppen zu einer Molekülstruktur mit kleinerem Volumen beobachtet. Für das Stattfinden der Rückreaktion zum Ausgangsvolumen wurden für die auf Muskovit adsorbierten Moleküle keine Hinweise gefunden.

Die relativen Abnahmen von Höhe, lateraler Ausdehnung und Volumen bei der *trans*-zu-*cis*-Isomerisierung stimmten dabei gut mit den zu erwartenden relativen Abnahmen überein, die auch in Lösung gefunden wurden. Die absoluten Werte der maximalen Höhe und als Folge davon auch des Volumens lagen ca. eine Größenordnung unterhalb der Erwartungswerte. Durch einen Positionsvergleich vor und nach der Photoisomerisierung, sowie durch polarisationsaufgelöste Zeitspuren konnten außerdem Anhaltspunkte für durch die Photoisomerisierung ausgelöste Bewegungen der Moleküle (Translation und Rotation) relativ zur Oberfläche gefunden werden.

Mit Hilfe einer numerischen Lösung der Bewegungsgleichung des Cantilevers konnten Abschätzungen des zu erwartenden Höhenkontrast der Moleküle auf Muskovit unter den Messbedingungen erhalten werden. Die Modellierung der Wechselwirkungen zwischen Cantileverspitze und Probe war dabei eng an die Arbeiten von Santos et. al angelehnt [80, 81, 148, 197, 265, 266], wobei für das Molekül verschiedene hypothetische Formen auf der Oberfläche angenommen wurden. Damit konnte gezeigt werden, dass die erhaltenen sehr geringen Höhenwerte für die Moleküle auf Muskovit sich nicht allein auf den zu erwartenden Höhenkontrastverlust durch geometrische Effekte, Wasserfilme auf dem Substrat und die chemischen Unterschiede von Substrat und Probenmolekülen zurückführen lassen. Stattdessen wurde die beste Übereinstimmung mit den Messergebnissen erzielt, indem eine sehr stark abgeflachte Form der adsorbierten Moleküle angenommen wurde. Das Ausbleiben der Rückreaktion der Photoisomerisierung bei den Dendrimern auf einer Muskovitoberfläche wurde zurückgeführt auf die Wechselwirkung der Substituenten miteinander in Abwesenheit eines geeigneten Lösemittels. In Konformationen mit hohem Anteil an *cis*-Azobenzolgruppen, welche also ein deutlich kleineres Volumen haben, sind die

Substituenten in größerer Nähe zueinander und wechselwirken daher stärker miteinander über van-der-Waals-Kräfte als in der *all-trans*-Form des Moleküls. Gegenüber der Situation in Lösung sind daher die Molekülkonfigurationen mit hohem *cis*-Anteil bei den Azobenzolgruppen energetisch begünstigt gegenüber jenen mit hauptsächlich *trans*-Gruppen. Dieser Effekt ist besonders stark ausgeprägt, wenn man ebenfalls von abgeflachten Molekülen auf der Muskovitoberfläche ausgeht, da dort der mittlere Abstand der Substituenten des Dendrimers geringer ist und die Wechselwirkung damit stärker.

In der Literatur wurden für Polyphenyl-Dendrimere mit tertiärem Kohlenstoffatom als Zentrum auf Muskovit keine systematischen Verformungen zur Oberfläche hin gefunden [280]. Bei den dort untersuchten Dendrimern ist jedoch aufgrund des tertiären Kohlenstoffatoms und der größeren Atomdichte um dieses Zentrum eine größere Steifigkeit zu erwarten, als es bei den in *bay*-Position substituierten PDI-Dendrimern dieser Arbeit der Fall ist. Es sollte außerdem erwähnt werden, dass bei den Untersuchungen in der Literatur keine spektrale Untersuchung als zusätzlicher Identifikationskanal für die Moleküle zur Verfügung stand. Die Identifikation einzelner Erhebungen als das gesuchte Molekül kann mit Hilfe des kombinierten Setups weitaus sicherer erfolgen. Eine Diskussion der Reduktion des zu erwartenden Höhenkontrastes aufgrund zum Beispiel der Wasserfilme auf Muskovit fand hier ebenfalls nicht statt.

Die beiden unerwarteten Beobachtungen bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Experimenten - der geringe Höhenkontrast und das Ausbleiben der Rückreaktion - weisen also daraufhin, dass die Moleküle aufgrund der Wechselwirkung mit der Muskovitoberfläche und mit Luft als Medium stark verformt vorliegen. Eine solche Deformierung aufgrund der Wechselwirkung mit einer Oberfläche wurde vorher sogar für wesentlich steifere Kohlenstoff- und Silizium-Nanoröhren gezeigt [262, 263]. Die Wechselwirkungen mit der Oberfläche biegen im Fall des hier vorliegenden Dendrimers vermutlich dessen Substituenten deutlich zur Oberfläche hin, so dass sich eine wesentlich flachere Struktur als in Lösung ergibt.

6 | Zeitabhängige Abnahme der Fluoreszenz von Polymerbürsten aus konjugierten Blockcopolymeren

Im Folgenden werden die Experimente an den in Kapitel 3.2.2 beschriebenen Polymerbürsten beschrieben. Die Polymerbürsten bestehen aus Blockcopolymeren (PNB-*b*-MeO-PPV), welche durch ein gezieltes photochemisches Verfahren (LI-CDSA) zu einer Faser-artigen Struktur aggregiert wurden [83]. Das Rückgrat der Polymerbürsten bilden dabei die durchkonjugierten MeO-PPV-Komponenten der Blockcopolymeren, welche auch Chromophore sind. Bei den Experimenten dieser Arbeit wurde die zeitliche Veränderung der Fluoreszenzintensität und der spektralen Lage der Emission einzelner Polymerbürsten auf einer Oberfläche unter verschiedenen Messbedingungen untersucht. Gleichzeitig wurde mit Hilfe eines Rasterkraftmikroskops untersucht, ob es auch eine zeitliche Änderung der räumlichen Struktur gibt.

6.1 Aggregation der Blockcopolymeren und Verdünnung der Stammlösung

Die Polymerbürsten, welche mit einer Kombination aus konfokaler Fluoreszenzmikroskopie und Rasterkraftmikroskopie untersucht werden sollten, wurden auf die im Folgenden beschriebene Weise hergestellt. Zunächst wurde eine Lösung des Blockcopolymeren PNB-*b*-MeO-PPV mit einer Konzentration von 0,1 g/L in Chloroform hergestellt. Diese Lösung wurde dann anschließend für 4h mit UV-Licht bestrahlt, um die Aggregation zu Polymerbürsten zu bewerkstelligen (Die Extinktions- und Emissionsspektren dieser Lösung vor und nach der Aggregation können in Teil B in Abbildung 3.10 in Kapitel 3.2.2 gefunden werden). Wie in Kapitel 3.2.2 beschrieben, werden durch die Absorption von UV-Licht *cis*-zu-*trans*-Photoisomerisierungen im konjugierten MeO-PPV-Teil der Blockcopolymeren induziert, wodurch deren Löslichkeit soweit herabgesetzt wird, dass sie zu Polymerbürsten aggregieren. Nach der Aufbringung dieser Lösung auf einem Muskovitsubstrat (siehe Kapitel 3.3.2) konnten die entstandenen Polymerbürsten mit dem Rasterkraftmikroskop abgebildet werden. Die Messungen mit dem Rasterkraftmikroskop in dieser Versuchsreihe

wurden im repulsiven Regime des intermittierenden Kontaktmodus durchgeführt (Cantilever AC240TS von Olympus, Amplitude ca. 80 – 100nm). Beim Konfokalmikroskop fand das Luftspaltobjektiv (EC-Plan-Neofluar, siehe Kapitel 3.1.2.2) Verwendung.

In den erhaltenen Topografiebildern (z. B. Abbildung 6.1 links) sind die Polymerbürsten als Faser-artige Strukturen mit verschiedenen Längen zu sehen, welche häufig in inselartigen Ansammlungen auf der Muskovitoberfläche adsorbiert sind (siehe weitere Beispiele im Anhang A.10). Es war außerdem zu erkennen, dass neben der Aggregation der Blockcopolymeren zu einzelnen Polymerbürsten, sich auch Aggregate von Polymerbürsten gebildet haben. Darüber hinaus folgte die Verteilung der Polymerbürsten auf der Oberfläche einem Muster. So gab es Zonen mit auffällig erhöhter Belegungsdichte, so dass inselartige Ansammlungen von Polymerbürsten zu beobachten waren. Diese waren getrennt von Oberflächenbereichen, in denen so gut wie keine Polymerbürste in der Topografie zu erkennen war. Diese inselartige Belegung des Substrats und die gehäufte ungeordnete Aggregation mehrerer Polymerbürsten wurde bei früheren Rasterkraftmikroskopie-Aufnahmen eng strukturverwandter Polymerbürsten in der Literatur nicht beschrieben [83]. Im Vergleich zu den Messungen aus der Literatur [83] war die Länge der Polymerbürsten auf dem Substrat außerdem heterogener verteilt und einzelne adsorbierte Polymerbürsten zeigten eine größere Tendenz zu multiplen Biegungen entlang des Rückgrates. Für die Höhe einzelner Polymerbürsten wurden Werte zwischen 3,5nm und 4,0nm aus den Topografiebildern abgelesen. Die gemessene Höhe einzelner Polymerbürsten ist damit etwas kleiner und breiter verteilt, aber in einer sehr ähnlicher Größenordnung, wie die in der Literatur gemessenen Höhenwerte (4,5nm [83]). Die gemessene Höhe weist darauf hin, dass mehrere Schichten der Blockcopolymeren entlang des Rückgrates zu den Polymerbürsten aggregiert sind¹.

Um die photophysikalischen Eigenschaften einzelner Polymerbürsten mit dem konfokalen Fluoreszenzmikroskop zu untersuchen, muss die Belegungsdichte der Probe soweit reduziert werden, dass der typische Abstand zwischen den einzelnen Aggregaten größer ist als das Auflösungslimit des Mikroskops. Dazu wurde die erhaltene Stammlösung der Polymerbürsten in zwei Verdünnungsschritten jeweils um den Faktor 10 mit dem Lösungsmittel Chloroform verdünnt. Die erhaltenen Lösungen werden hiernach als Vd1 und Vd2 bezeichnet, während die Stammlösung mit nVd gekennzeichnet wird.

Da die Aggregation der Blockcopolymeren auf einer Herabsetzung der Löslichkeit nach erfolgter *cis*-zu-*trans*-Photoisomerisierung der konjugierten OMe-PPV-Teile beruht, ist es denkbar, dass eine Herabsetzung der Konzentration durch Zugabe von Lösungsmittel dazu führt, dass das Gleichgewicht der Aggregationsreaktion zu Gunsten von mehr freien Blockcopolymeren verschoben wird. Für diese These spricht, dass die Emissionsspektren der verdünnten Lösungen Vd1 und Vd2 dem Emissionsspektrum der nicht-aggregierten Lösung stärker ähneln als der Stammlösung von Polymerbürsten nVd (siehe Abbildung 6.1 rechts).

¹aus der Strukturformel (siehe Abbildung 3.10 Teil A) kann über die Bindungslängen [260] die maximale erwartete Höhe des PPV-Teils des Blockcopolymeren auf ca. 0,7nm abgeschätzt werden (Phenylring und zwei Methoxygruppen).

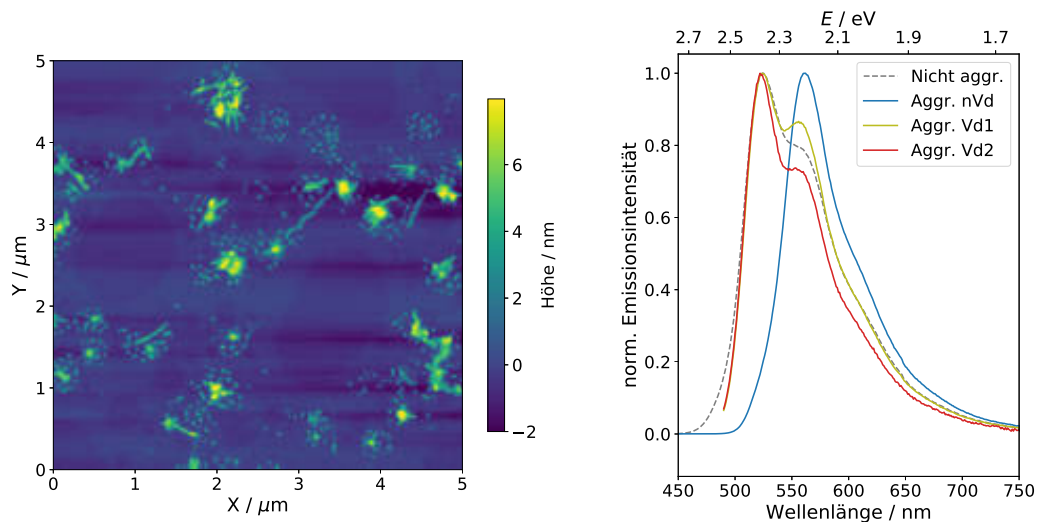


Abbildung 6.1: Links: Topografiebild einer Probe der Polymerbürsten, welche durch Aufbringung der unverdünnten Lösung (nVd) auf Muskovit hergestellt wurde. Die Fasern sind in inselartigen Ansammlungen auf dem Substrat adsorbiert. Rechts: Ensemble-Emissionsspektren von nicht aggregierten Blockcopolymeren, der unverdünnten Stammlösung nach der Aggregation (nVd) bei $\lambda_{ag} = 380\text{nm}$ und der sukzessive um jeweils Faktor 10 verdünnten Lösungen (Vd1 und Vd2) bei $\lambda_{ag} = 480\text{nm}$.

Insbesondere ist das Emissionsmaximum bei 524nm wieder zu erkennen, welches bei nVd vollständig verschwunden war. In AFM-Aufnahmen von Proben, welche durch Auftragung der verdünnten Lösungen Vd1 und Vd2 auf Muskovit erhalten wurden, konnten noch immer die faserartigen Polymerbürsten beobachtet werden (siehe hierzu Anhang A.10 und Abbildung 6.2 links). Das Gleichgewicht zwischen Aggregation und Auflösung der Polymerbürsten wurde durch die Verdünnungsschritte also zumindest nicht vollständig in Richtung freier Blockcopolymer verschoben. Es kann aber nicht ausgeschlossen werden, dass dennoch der Anteil an freien Blockcopolymeren oder auch an kleineren Aggregaten gestiegen ist. Die Belegungsdichte auf dem Muskovit bei der Aufbringung der Lösung Vd2 war geeignet, um separate Fluoreszenzflecken für einzelne Polymerbürsten zu erhalten.

6.2 Zeitlicher Verlauf der Emission bei einzelnen Polymerbürsten

Die folgenden Experimente an Polymerbürsten wurden stets mit Proben durchgeführt, welche durch Aufbringung der Lösung Vd2 auf ein Substrat (i.d.R. Muskovit) erzeugt wurden. Soweit nicht anders angegeben, wurde bei 445nm mit ca. $370\text{W}/\text{cm}^2$ angeregt und der Probenraum wurde mit einem konstanten Argon-Strom von 20ml/min geflutet. Nach erfolgter Temperaturstabilisierung, wurden die optische Achse des Konfokalmikroskops und die Spitze des Cantilevers zueinander ausgerichtet (siehe Beschreibung der Verfahren in Kapitel 3.1.3.4 und 3.1.3.3). Da die Polymerbürsten auf dem Muskovit im Topografiebild stets zuverlässig zu identifizieren waren, gelang der Musterabgleich mit den Fluoreszenzflecken sehr leicht (siehe Beispiele in Abbildung 6.2 und im Anhang A.10).

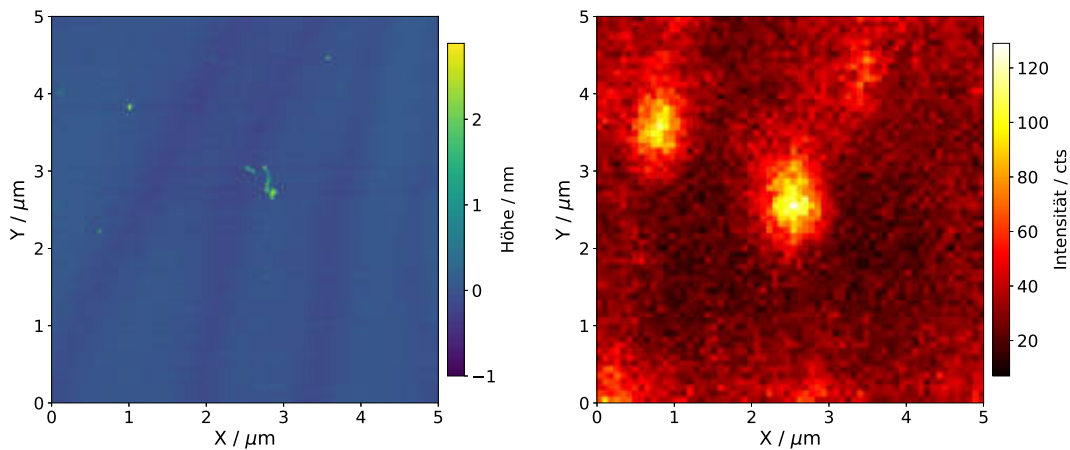


Abbildung 6.2: Beispiel für eine erfolgreiche gegenseitige Ausrichtung von Rasterkraftmikroskop und Konfokalmikroskop durch Musterabgleich (Abtastrate 0,5 Hz für beide Bilder). Für die größeren Erhebungen im Topografiebild (links) gibt es einen entsprechenden Fluoreszenzfleck im Konfokalmikroskop (rechts, $\lambda_{An} = 445\text{nm}$, $P \approx 370\text{W/cm}^2$, mit Argonatmosphäre). Die betrachtete Probe ist durch Aufbringung der Lösung Vd2 auf Muskovit entstanden.

Grundsätzlich ist zu beobachten, dass größere Polymere eine höhere Fluoreszenzintensität zeigen. Allerdings gab es Hinweise, dass die Intensität der Fluoreszenzflecken schon während der Aufnahme in aufeinanderfolgenden Bildzeilen abnahm, was auf ein schnelles Photobleichverhalten der Fluorophore hindeutet. Um die Exposition der Fluorophore mit Anregungslicht klein zu halten und dennoch hohe Auflösungen mit dem Rasterkraftmikroskop zu erhalten, wurden Topografiebilder und Fluoreszenzbilder typischerweise nicht simultan sondern direkt nacheinander über den gleichen Bildausschnitt (meist $5 \times 5\ \mu\text{m}$) und mit gleicher Abtastrate (0,5 Hz) aufgenommen - allerdings mit unterschiedlicher Auflösung (512×512 bzw. 64×64 Pixel). Durch die vorher erfolgte Temperaturstabilisierung kann die temperaturbedingte Drift der Probe zwischen diesen Aufnahmen als sehr klein gegenüber der Auflösung des Konfokalmikroskops angesehen werden. Die Zeit, in welcher die Polymerbürsten tatsächlich angeregt wurden, wurde jedoch signifikant reduziert. Der Untergrund der Fluoreszenzbilder war jedoch auch nicht gleichmäßig, sondern hatte eine Struktur. Dies könnte ein Hinweis auf einzelne Fluorophore sein, die mit dem Rasterkraftmikroskop nicht aufgelöst wurden.

6.2.1 Untersuchung der zeitabhängigen Veränderung der Emission einzelner Polymerbürsten

Um die zeitliche Veränderung der Fluoreszenz quantitativ zu untersuchen, wurden Zeitspuren der Emissionsintensität einzelner Polymerbürsten aufgenommen (siehe Kapitel 3.4.1, $\Delta t_i = 10\text{ms}$, $\lambda_{An} = 445\text{nm}$, $P \approx 370\text{W/cm}^2$, mit Argonatmosphäre) bis sich die gemessene Intensität über einen Zeitraum von mehreren Sekunden nicht mehr signifikant änderte. Gleichzeitig wurden konsekutive Emissionsspektren (Integrationszeit $\Delta t_s = 1\text{s}$ pro

Spektrum) aufgenommen. Damit konnte sichergestellt werden, dass es sich bei der gemessenen Fluoreszenz tatsächlich um Emission der Polymerbürsten handelt und außerdem spektrale Veränderungen während des Bleichprozesses dokumentiert werden. Um verschiedene Einflussfaktoren auf den Prozess des Photobleichens zu identifizieren, wurden diese Messungen fünf mal mit jeweils variierten Messbedingungen durchgeführt. Im Vergleich zu den Ausgangsbedingungen wurde in der zweiten Messreihe Raumluft an Stelle der Argonatmosphäre benutzt, um den Einfluss von Sauerstoff auf den Intensitätsabfall zu untersuchen. In den weiteren Experimenten wurde nacheinander außerdem die Anregungsleistung verdoppelt ($P \approx 730\text{W/cm}$), Glas anstatt Muskovit als Substrat verwendet, sowie eine andere Anregungswellenlänge eingesetzt ($\lambda_{An} = 488\text{nm}$, $P = 610\text{W/cm}^2$). Beim Einsatz der modifizierten Anregungswellenlänge musste auch eine größere Anregungsleistung eingesetzt werden, um die Fluoreszenzflecken kleiner Polymerbürsten vom Untergrund unterscheiden zu können. Dies war angesichts des Extinktionsspektrums der aggregierten Blockcopolymere (siehe Abbildung 3.10 in Kapitel 3.2.2) unerwartet, da das Extinktionsmaximum ungefähr bei dieser Wellenlänge war. Dies könnte aber durch den erhöhten Anteil an unterdrücktem Emissionslicht durch den Einsatz eines Langpassfilters mit einer Transmissionsgrenze bei größeren Wellenlängen verursacht sein, der bei dieser Messreihe notwendig war.

Es wurden außerdem bei einer kleinen Teilmenge der gemessenen Zeitspuren detaillierte Rasterkraftmikroskopie-Aufnahmen der Polymerbürste vor und nach dem Photobleichprozess aufgenommen, um eventuelle Änderungen an der Topografie der Polymerbürsten durch den Photobleichprozess zu untersuchen.

6.2.2 Quantitative Beschreibung der Emissionsintensitätszeitspuren einzelner Polymerbürsten

In allen Versuchsreihen zeigte die Emissionsintensität einzelner Polymerbürsten einen kontinuierlichen quasi-stufenlosen Abfall zum Untergrundwert (siehe Beispiele in der oberen Zeile in Abbildung 6.3). Das Abfallen der Emissionszeitspuren scheint bei flüchtiger Beurteilung ungefähr dem Verlauf eines Exponentialzerfalls zu folgen. Durch genauere Betrachtung lässt sich aber zeigen, dass eine einfache Exponentialfunktion keine hinreichende phänomenologische Beschreibung des Verlaufs der Emissionszeitspuren liefert. Darüber hinaus sind in einigen Fällen zum Teil deutliche Modulationen im Verlauf des Intensitätsabfalls zu erkennen. Die Intensität stagniert also manchmal für kurze Zeitintervalle oder steigt sogar an, um dann anschließend noch stärker abzufallen (siehe Beispiele in Abbildung 6.3 oben links und mittig). Photoblinken hingegen wurde in keiner der aufgenommenen Zeitspuren beobachtet.

Bei den Emissionsspektren konnte während des Bleichvorgangs eine Verschiebung der Emission zu kleineren Wellenlängen, also zu größeren Energien, beobachtet werden. Insbesondere bei Emittlern, welche zu Beginn der Messung eine besonders hohe Intensität

6 Zeitabhängige Abnahme der Fluoreszenz von Polymerbürsten aus konjugierten Blockcopolymeren

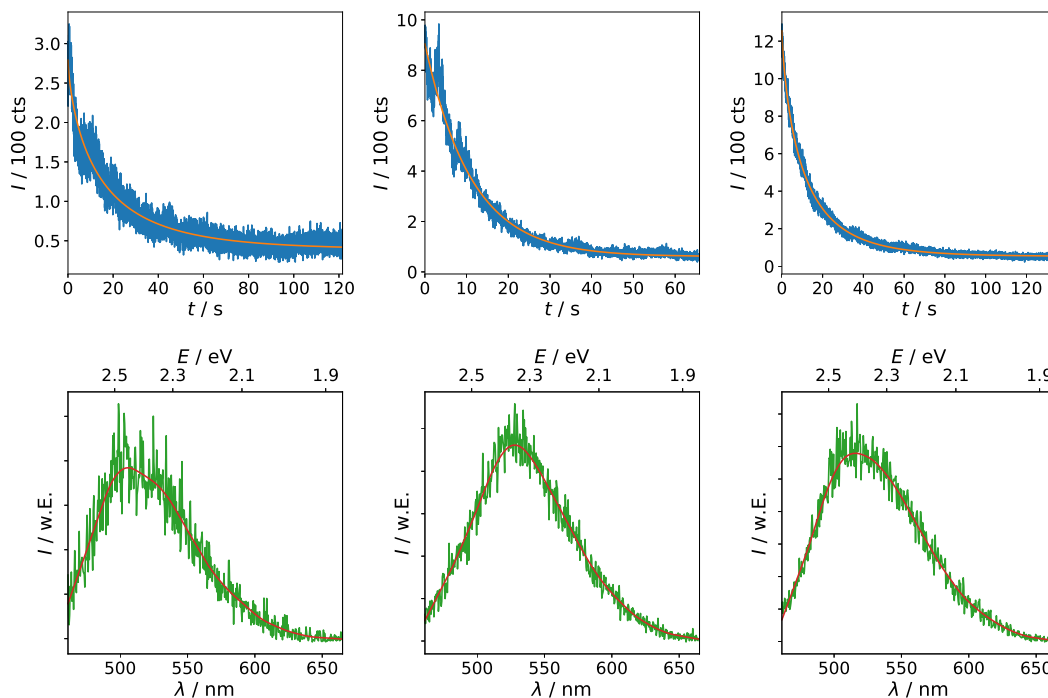


Abbildung 6.3: Obere Zeile: Beispiele für Zeitspuren ($\Delta t_i = 10 \text{ ms}$, $\lambda_{An} = 445 \text{ nm}$, $P \approx 370 \text{ W/cm}^2$, mit Argonatmosphäre) der Emissionsintensität einzelner Polymerbürsten (blau). Alle Zeitspuren zeigen einen kontinuierlichen Abfall zu einem Untergrundwert und kein Photoblinken. Mit Hilfe von Ausgleichsrechnungen können die Zerfälle mit einer gestreckten Exponentialfunktion (orange) beschrieben werden. Untere Zeile: Einzelne Emissionsspektren (grün) vom Beginn der obigen Zeitspuren (ca. maximale Intensität) aus den parallel aufgezeichneten Spektrenserien (Integrationszeit $\Delta t_s = 1 \text{ s}$ pro Spektrum) mit den per Glättungsalgorithmus erhaltenen Spektren (rot) als Vergleich.

hatten, war dieser Effekt ausgeprägt zu beobachten. Bei den Emissionsspektren einzelner Polymerbürsten konnte keine vibronische Struktur erkannt werden, wie es bei dem Ensemble-Emissionsspektrum der verwendeten Lösung (Vd2) der Fall war (siehe Abbildung 6.1 rechts).

Zur quantitativen Beschreibung des Intensitätsabfalls beim Photobleichen der Polymerbürsten wurde eine gestreckte Exponentialfunktion (Gleichung 6.1) mit Streckfaktor β und Zerfallszeit τ^* verwendet, welche eine adäquate phänomenologische Beschreibung des Intensitätsverlaufes $I(t)$ aller aufgenommenen Zeitspuren liefert (siehe Beispiele in Abbildung 6.3 oben), allerdings ohne die nur manchmal auftretenden Modulationen zu berücksichtigen. Dabei gilt für den Streckfaktor stets die Bedingung $0 < \beta \leq 1$. Die Intensität fällt von einem Ausgangswert I_0 zu einem konstanten Untergrundwert I_{UG} ab. In der Natur wurden bereits viele Phänomene beschrieben, welche ein solches Verhalten an

den Tag legen [281–283]. Die gestreckten Exponentialfunktionen wurden mittels einer Ausgleichsrechnung an die Messdaten jeder Intensitätszeitspur angepasst.

$$I(t) = I_0 \cdot \exp\left(-\left(\frac{t}{\tau^*}\right)^\beta\right) + I_{UG} \quad (6.1)$$

Gestreckte Exponentialzerfälle können als Summe aus Exponentialzerfällen betrachtet werden, welche statt einer konstanten Lebenszeit τ eine Wahrscheinlichkeitsdichte-Verteilung von τ aufweist [282, 284]. Die Zerfallszeit τ^* des gestreckten Exponentialzerfalls ist dabei charakteristisch für die zugrundeliegende Verteilung von τ , kann jedoch nicht als der Mittelwert von dieser betrachtet werden, sondern hat die größte Übereinstimmung mit dem Median der asymmetrischen Verteilung. Aus dem Parameter β können Hinweise auf die relative Breite der Verteilung von τ gewonnen werden [284, 285]. Der Mittelwert $\langle\tau\rangle$ der zugrundeliegenden Verteilung kann aus den Parametern β und τ^* wie folgt berechnet werden [281]:

$$\langle\tau\rangle = \frac{\tau^*}{\beta} \cdot \Gamma\left(\frac{1}{\beta}\right) \quad (6.2)$$

$\Gamma\left(\frac{1}{\beta}\right)$ steht für den Wert der Gamma-Funktion bei reziprokem β . Bei $\beta = 1$, was dem einfachen Exponentialzerfall entspricht, gilt $\langle\tau\rangle = \tau^*$. Es existiert in diesem Fall also keine Verteilung von τ , sondern alle Zerfälle haben die Lebenszeit $\tau = \tau^*$.

Der Untergrund der Emissionsspektren wurde aus den letzten Spektren jeder Serie ermittelt, da dort die Intensität bis auf den Untergrund abgefallen war. Dazu wurde das Rauschen dieser Spektren durch Anwendung eines Glättungsalgorithmus² quasi vollständig entfernt. Die auf diese Weise erhaltenen geglätteten Spektren wurden als wellenlängenabhängiger Untergrund von allen Spektren der Serie abgezogen. Die Emissionsspektren einzelner Polymerbürsten wurden dann mit Hilfe der bekannten Detektionseffizienz des Spektrographen und mit den wellenlängenabhängigen Transmissionseigenschaften der im Detektionsstrahlengang verwendeten optischen Bauteile spektral korrigiert. Anschließend wurde der gleiche Glättungsalgorithmus auf alle Spektren der Serie angewendet (siehe untere Zeile in Abbildung 6.3) und die spektrale Lage des Maximums der Emission für jedes Spektrum ausgelesen, womit der zeitliche Verlauf der spektralen Lage quantifiziert werden konnte.

²LOWESS - *Locally Weighted Scatterplot Smoothing* [259], durchgeführt durch Anwendung des in der Python-Bibliothek *statsmodels* implementierten Algorithmus'

6 Zeitabhängige Abnahme der Fluoreszenz von Polymerbürsten aus konjugierten Blockcopolymeren

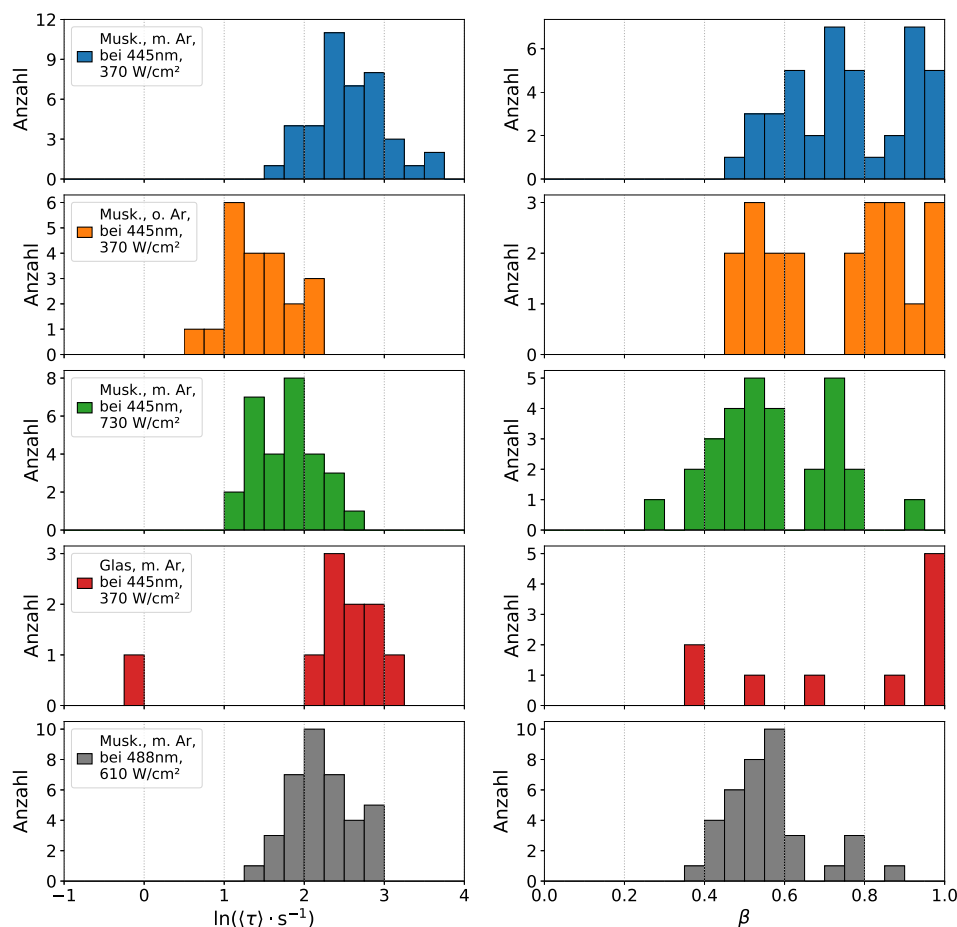


Abbildung 6.4: Verteilungen des natürlichen Logarithmus' des Mittelwertes der Zerfallszeiten $\ln \langle \tau \rangle$ und des Streckfaktors β , erhalten durch Anpassen einer gestreckten Exponentialfunktion an die Intensitätszeitspuren einzelner Polymerbürsten, für die fünf durchgeführten Messreihen (Messparameter der einzelnen Messreihen: siehe Unterkapitel 6.2.1).

6.2.3 Vergleich des Emissionsintensitätsabfalls unter verschiedenen Messbedingungen

In Abbildung 6.4 sind Histogramme der Verteilungen des Parameters β und des natürlichen Logarithmus von $\langle \tau \rangle$ für die fünf durchgeführten Messreihen aufgetragen. Die Durchschnittswerte für beide Größen finden sich in Tabelle 6.1. Bei dem Mittelwert $\langle \tau \rangle$ der Zerfallszeitenverteilung wurde eine logarithmische Auftragung gewählt, um den Wertebereich der Messergebnisse besser zu veranschaulichen.

Wenn die Polymerbürsten während der Messungen Raumluft (also auch Sauerstoff) anstatt einer Inertgasatmosphäre ausgesetzt sind, führt dies zu einer signifikanten Verschiebung der Verteilung von $\langle \tau \rangle$ zu kleineren Werten. Der kontinuierliche Intensitätsabfall findet also beschleunigt statt, was den Erwartungen entspricht, da es zu licht-induzierten Reaktionen der Fluorophore mit reaktivem Sauerstoff kommen kann. Es sollten somit vermehrt

Photobleichvorgänge mit Sauerstoffbeteiligung auftreten. Der Parameter β verändert sich gegenüber der Messung mit Argon als Inertgasatmosphäre allerdings nicht signifikant. Die relative Breite der Verteilung von τ ändert sich durch die Anwesenheit von Sauerstoff also nicht wesentlich.

Bei der Verwendung von der ca. verdoppelten Anregungsleistung für die Aufnahme der Zeitspuren, werden die Prozesse, die zum Intensitätsabfall der Polymerbürsten führen, ebenfalls beschleunigt. Die Verteilung von $\langle\tau\rangle$ wird also ebenfalls zu kleineren Werten verschoben. Dies entspricht den Erwartungen, da die mittlere Zeit, in der die Fluorophore sich im angeregten Zustand befinden, durch die erhöhte Zahl von Anregungsprozessen vergrößert wird. Reaktionen des angeregten Zustandes sind also wahrscheinlicher. Hier wird jedoch auch der Parameter β signifikant beeinflusst und ebenfalls zu kleineren Werten verschoben, das heißt die höhere Anregungsleistung wirkt sich auch auf die Form und die Lage des Maximums der Verteilung von τ aus.

Die Verwendung von Glas als Substrat beeinflusste die Verteilung der Parameter $\langle\tau\rangle$ und β nicht erheblich im Vergleich zum Einsatz von Muskovit mit ansonsten gleichen Messbedingungen. Es konnte also kein Indiz gefunden werden, dass das verwendete Substrat einen Einfluss auf den beobachteten Intensitätsabfall hat.

Bei der Messreihe mit Anregung bei 488nm anstelle von 445nm zeigen die Verteilungen von $\langle\tau\rangle$ und β näherungsweise Übereinstimmung mit der Messreihe bei 445nm mit der größeren Anregungsleistung. Da die Anregungsleistungen dieser beiden Messreihen ungefähr vergleichbar groß war und auch die sonstigen Messbedingungen gleich waren (Argonatmosphäre und Muskovitsubstrat), kann geschlussfolgert werden, dass die Anregungswellenlänge keinen signifikanten Einfluss auf die Verteilung der Parameter hat. Dies entspricht den Erwartungen, da nach der Anregung stets eine sehr schnelle Relaxation zum Schwingungsgrundzustand des angeregten elektronischen Zustandes stattfinden sollte.

Der kontinuierliche Intensitätsabfall der Polymerbürsten geht einher mit einer spektralen Verschiebung der Emission. Die spektrale Verschiebung findet dabei stets von größeren Wellenlängen zu kleineren - bzw. von kleinerer Energie zu größerer Energie - statt. Der Zusammenhang zwischen den Messgrößen Intensität und spektrale Lage (in Energieeinheiten) kann durch Pearson-Korrelationskoeffizienten $p_{I,E(\lambda_{max})}$ quantifiziert werden. Hohe negative Werte für $p_{I,E(\lambda_{max})}$ signalisieren dabei eine hohe Korrelation für das Verschieben der spektralen Lage zu höheren Energien bei gleichzeitiger Verringerung der Intensität. Dazu sind Wertepaare von spektraler Lage und Intensität notwendig. Die Zeitaufösungen der Intensitätszeitspur und der Spektrenserie sind jedoch unterschiedlich. Durch Integration der geglätteten Spektren kann der synchrone Intensitätsverlauf $I(t)$ in der gleichen Zeitaufösung wie die Zeitspur der spektralen Lage $\lambda_{max}(t)$ erhalten werden. Bei Datenpunktpaaren mit sehr geringen Intensitätswerten unterliegt die Bestimmung der spektralen Lage der Emission aufgrund des ungünstigeren Signal-zu-Rauschen-Verhältnis großen statistischen Schwankungen. Durch die große Zahl dieser Wertepaare würden diese bei

6 Zeitabhängige Abnahme der Fluoreszenz von Polymerbürsten aus konjugierten Blockcopolymeren

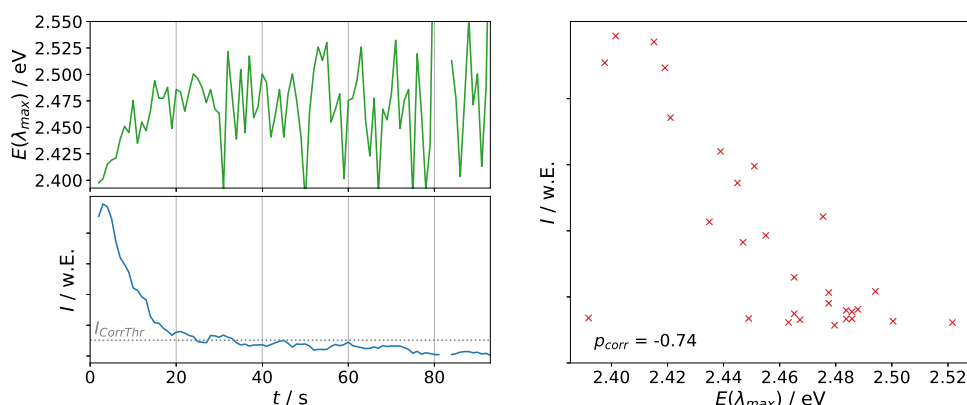


Abbildung 6.5: Beispiel für die Korrelation von Intensitätsabfall und spektraler Verschiebung (Integrationszeit $\Delta t_s = 1$ s pro Spektrum, $\lambda_{An} = 445$ nm, $P \approx 370$ W/cm², mit Argonatmosphäre) der Emission einzelner Polymerbürsten. Links: zeitlicher Verlauf von Intensität (erhalten durch Integration der Spektren) und spektraler Lage. Rechts: Korrelationsplot der einzelnen Datenpunkte oberhalb des definierten Korrelationsschwellenwert $I_{CorrThr}$. Der Schwellenwert ist so definiert, dass 90% des Datenbereichs (Abstand zwischen maximalen und minimalen Messwert) der gemessenen Intensitätszeitspur oberhalb davon liegen.

Tabelle 6.1: Mittelwerte von τ^* , β und $p_{I,E(\lambda_{max})}$ der Messreihen

Messreihe	$\langle \tau \rangle / s$	β	$p_{I,E(\lambda_{max})}$	Anzahl
Musk., m. Ar, bei 445nm, 370W/cm ²	14,5	0,76	-0,52	41
Musk., o. Ar, bei 445nm, 370W/cm ²	4,6	0,74	-0,54	21
Musk., m. Ar, bei 445nm, 730W/cm ²	6,3	0,57	-0,55	29
Glas, m. Ar, bei 445nm, 370W/cm ²	12,7	0,78	-0,49	10
Musk., m. Ar, bei 488nm, 610W/cm ²	10,05	0,56	-0,31	37

der Berechnung der Korrelationskoeffizienten mit hohem statistischen Gewicht einfließen und diese unnötig verzerren. Aus diesem Grund wurden zur Berechnung des Pearson-Koeffizienten jene Datenpunktpaare aus $I(t_i)$ und $\lambda_{max}(t_i)$ verwendet, für die die Bedingung $I(t_i) \geq I_{max} - 0,9(I_{max} - I_{min})$ gilt (siehe Beispiele in Abbildung 6.5 und im Anhang A.11). Durch diese Einschränkung wurden Datenpunkte aus dem unteren Zehntel des Wertebereichs von $I(t)$ jeder Zeitspur nicht für die Berechnung berücksichtigt. Die hohen negativen durchschnittlichen Pearson-Koeffizienten (siehe Tabelle 6.1) legen nahe, dass die Verschiebung der spektralen Lage direkt mit dem Prozess des Intensitätsabfalls zusammenhängt und eine Begleiterscheinung des gleichen physikalischen Vorgangs ist.

Bei der Anregung mit 488nm waren die Emissionsspektren bei ca. $\lambda < 495$ nm abgeschnitten. Dies war bedingt durch die spektrale Lage des Abfalls der Transmission des in diesem Experiment verwendeten Langpassfilters. Die Bestimmung des Maximums der Emission war deshalb mit größerer Unsicherheit behaftet. Dies erklärt den vergleichsweise kleinen Wert für $p_{I,E(\lambda_{max})}$ bei dieser Messreihe.

Eine weitere, nicht-erwartete Beobachtung war, dass es nach einiger Zeit zu einer weitgehenden Regeneration der Intensität von Fluorophoren kommt. Abbildung 6.6 zeigt den

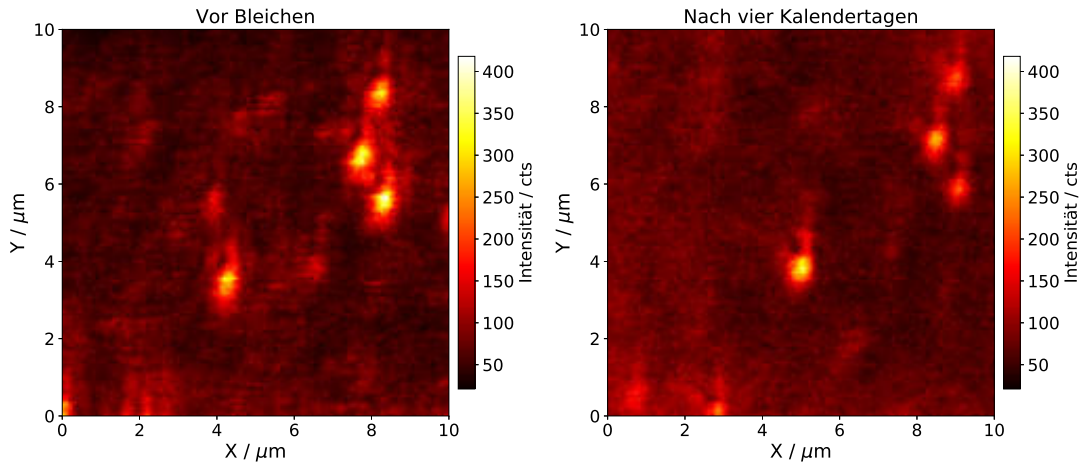


Abbildung 6.6: Beide Konfokalbilder ($\lambda_{An} = 445\text{nm}$, $P \approx 370\text{W/cm}^2$, mit Argonatmosphäre) zeigen den gleichen Bildausschnitt. Bei allen Fluoreszenzflecken im linken Bild wurden Zeitspuren bis zum vollständigen Verschwinden der Emissionsintensität aufgenommen. Nach mehreren Kalendertagen war das Vermögen zur Emission der meisten Fluorophore wieder zu großen Teilen hergestellt.

gleichen Bildausschnitt, aufgenommen im Abstand von ca. vier Kalendertagen. An der Position der Fluoreszenzflecken wurden nach der Aufnahme des chronologisch ersten Bildes Zeitspuren aufgenommen bis vollständigen Abfall auf den Untergrund. Nach dem Verstreichen von mehreren Kalendertagen waren die meisten Fluoreszenzflecken in einer erneuten Bildaufnahme bei gleichen Messbedingungen wieder sichtbar mit einer Emissionsintensität, welche signifikant oberhalb des Untergrundes ist (ein weiteres Beispiel findet sich im Anhang A.12). Die beobachteten Emissionseigenschaften der Polymerbürsten waren analog zu den Beobachtungen vor dem ersten Bleichen: die Emission fiel über Zeit ohne Fluoreszenzblinker auf den Untergrund ab und die spektrale Lage des Emissionsmaximums erfuhr simultan dazu eine hypsochrome Verschiebung. Die Probe lagerte in der Zwischenzeit unter Lichtabschluss noch im Probenhalter des Mikroskops. Diese Beobachtung ist besonders bemerkenswert, da erwartet wurde, dass der kontinuierliche Intensitätsabfall während der Anregung durch permanente Photobleichprozesse verursacht wird. Hier scheinen jedoch für die Reduktion der Emission bei kontinuierlicher Anregung mindestens zum Teil reversible Prozesse verantwortlich zu sein.

6.2.4 Auswirkung des Intensitätsabfalls auf die Topografie einzelner Polymerbürsten

Von insgesamt sechs Polymerbürsten wurden hochaufgelöste Topografiebilder vor und nach der Aufnahme einer Intensitätszeitspur bis zum vollständigen Abfall auf den Untergrund aufgenommen, um Hinweise auf eventuell auftretende strukturelle Veränderungen im Polymeraggregat zu finden. Ein Beispiel für eine solche strukturelle Veränderung könnte die *trans*-zu-*cis*-Isomerisierung von Stilbengruppen im konjugierten OMe-PPV-Teil des Blockcopolymers sein, wodurch die π - π -Wechselwirkung zwischen den konjugierten Poly-

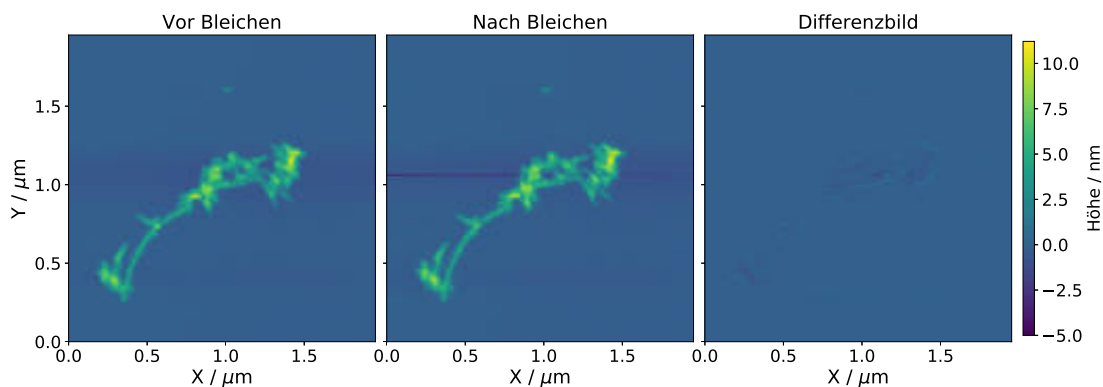


Abbildung 6.7: Aggregat von Polymerbürsten vor (links) und nach (mittig) dem vollständigen Abfall der Emissionsintensität auf den Untergrund. Das Differenzbild (rechts) offenbart keine signifikanten strukturellen Unterschiede.

meren im Rückgrat der Bürste geschwächt würde und es in der Folge zum Aufbrechen von Polymerbürsten kommen könnte. Solche oder andere strukturelle Veränderungen könnten durch Unterschiede in der Topografie der Polymerbürsten detektierbar sein.

Qualitativ waren jedoch keine Unterschiede zwischen den Topografiebildern vor und nach dem Abfall der Emissionsintensität auf den Untergrund zu beobachten. Um auszuschließen, dass feinere Unterschiede unter Umständen nicht erkannt wurden, wenn diese nicht sofort beim oberflächlichen Vergleich der Bilder auffallen, wurde ein Differenzbild gebildet. Dazu musste die laterale Verschiebung der Polymerbürsten-Position durch thermische Drift zwischen den Aufnahmen ermittelt werden. Dies wurde durch Bildung einer Korrelationsmatrix (analog dem Vorgehen in Kapitel 5.2.3.2 mit Gleichung 5.4) erreicht. Anhand der Position des Korrelationsmaximum kann die relative Verschiebung der Bilder ermittelt werden. Insbesondere an den Kanten der Polymerbürsten können die aufgenommenen Bilder aufgrund der Pixel-Auflösung der Bilder nur unzureichend zur Deckung gebracht werden. Dieser Effekt kann verringert werden durch Interpolation der Bilder zwischen den Pixelpositionen. Die Korrelationsmatrix wurde daher nicht mit den Bildern in ihrer realen Auflösung errechnet, sondern mit zweidimensionalen kubischen Interpolationen der Bilder. Die Pixelabstände wurden für die Interpolation um den Faktor 10 in beiden lateralen Dimensionen verringert. Das Differenzbild wurde dann durch einen Positions-korrigierten Ausschnitt aus dem interpolierten Bild vor und nach dem Photobleichen gebildet. In Abbildung 6.7 ist ein Beispiel für Topografiebilder vor und nach dem Photobleichen und das aus den Interpolationen erhaltene Differenzbild zu finden (ein weiteres Beispiel findet sich im Anhang A.13).

Auch in den Differenzbildern konnten keine Anhaltspunkte für strukturelle Veränderungen der Polymerbürsten nach dem Bleichvorgang gefunden werden. Nur sehr kleine und insignifikante Unterschiede zwischen den Bildern waren im Differenzbild zu finden. Die größten Ausschläge im Differenzbild waren an den Kanten der Bürsten zu finden und waren

außerdem gleichförmig über die gesamte Kantenregion. Diese Differenzen sind daher durch auch nach der Interpolation und Korrelation verbliebene Positionsabweichungen der Bilder zu erklären, oder auch durch Auflösungsveränderungen des Rasterkraftmikroskops durch Veränderungen an der Cantileverspitze. Eine Verbreiterung der Cantileverspitze aufgrund von Abstumpfung, Abrieb oder der Adsorption von Molekülen zwischen den Bildaufnahmen würde beispielsweise die laterale Auflösung des Mikroskops in einer Weise verändern, dass die gleiche Polymerbürste ein leicht breiteres laterales Profil zeigt. Dies zeigt sich in einer systematischen Abweichung an den Kanten im Differenzbild, ähnlich wie sie in den untersuchten Beispielen gefunden wurden.

6.3 Rückschlüsse auf den Mechanismus der zeitabhängigen Intensitätsabnahme

Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Polymerbürsten sind Systeme mit einer Vielzahl von Chromophoren - den OMe-PPV-Teilen der Blockcopolymer-Bausteine. In der Folge wird zur Interpretation der Ergebnisse der Untersuchungen ein Vergleich zu dem, in der Literatur bereits an vielen Stellen diskutierten, konjugierten Polymer MEH-PPV³ gezogen. MEH-PPV ist strukturverwandt zu dem OMe-PPV-Teil des in dieser Arbeit untersuchten Blockcopolymers. Es besteht aus multiplen, unterschiedlich langen konjugierten Segmenten, welche als individuelle PPV-Chromophore angesehen werden können [286, 287] und ist deshalb ebenso wie die Polymerbürsten ein multichromophores System. In früheren Experimenten wurde gefunden, dass MEH-PPV ein von der vermuteten Struktur des Makromoleküls abhängiges Photobleichverhalten zeigt [288, 289]. Wenn das konjugierte Polymer in dicht gefalteten Bündeln mit hoher Ordnung vorliegt, ist effektiver Energietransfer zu den energetisch niedrigsten Chromophoren möglich [288, 290, 291]. Auch bei einem MEH-PPV-Makromolekül, welches aus hunderten von Segmenten besteht, die als Chromophore fungieren, findet Emission stets nur von einer sehr kleinen Untergruppe (oder gar nur einer) statt. Dies führt zu der Beobachtung von Photoblinken [289, 292], zu stufenartigem Photobleichen und einer hypsochromen Verschiebung der Emissionsenergie während des Bleichvorganges [288]. Als Grund für die Blauverschiebung der Emission wurde angenommen, dass das energetisch niedrigste Chromophor stets jenes ist, welches bleicht, da aufgrund des schnellen Energietransfers sich nur dieses Chromophor eine relevante Zeit im angeregten elektronischen Zustand befindet. Nach dem Bleichen des energetisch niedrigsten Chromophors ist der Energietransfer zu diesem nicht mehr möglich und stattdessen findet Energietransfer zum energetisch nächst höheren Chromophor statt. Bei Polymerketten, welche in einer ausgebreiteteren Struktur mit geringer Ordnung vorliegen, kann dagegen ein näherungsweise exponentieller Abfall der Photolumineszenz zum Untergrund gefunden werden [288, 291]. Spektrale Verschiebungen der Emission bleiben hier aus [288]. Dieses Verhalten kann dadurch erklärt werden, dass in der ausgebreiteten Struktur

³Poly(2-methoxy-5-(2'-ethylhexyloxy)-p-phenylvinyl)

die Chromophore als Ensemble von weitestgehend unabhängigen Emittlern agieren. Die Struktur der Makromoleküle kann durch das Lösemittel beeinflusst werden [293].

Die in dieser Arbeit untersuchten Polymerbürsten bestehen aus Blockcopolymeren (PNB-*b*-MeO-PPV), deren konjugierte MeO-PPV-Teile durch dichte Stapelung das Rückgrat der Polymerbürste bilden. Die Chromophore befinden sich in diesem Aggregat also räumlich nahe beieinander und bilden eine Struktur mit hoher Ordnung. Die ungefähr parallele Orientierung und die räumliche Nähe der Chromophore in diesem Rückgrat legen nahe, dass effektiver Energietransfer entlang des Rückgrats zu energetisch niedrigen Chromophoren möglich sein sollte. Aus diesem Grund könnte ein ähnliches Verhalten wie bei den MEH-PPV-Polymeren aus der Literatur (siehe oben) in geordneter, dichter Struktur zu erwarten sein. Allerdings wurde in den Experimenten an den Polymerbürsten weder Photoblinken, noch stufenförmiges Bleichen beobachtet, so wie es bei den MEH-PPV-Polymeren mit hoher Ordnung der Fall war. Stattdessen hat der beobachtete Verlauf der Intensitätszeitspuren Ähnlichkeiten mit einem Exponentialzerfall und fällt zunächst sehr rasch ab und nähert sich dann asymptotisch einem konstanten Untergrund an. Damit gleicht das beobachtete Verhalten der Polymerbürsten in diesem Aspekt entgegen der Erwartungen eher jenem, welches für ungeordnete, weniger dicht gepackte multichromophore Systeme beobachtet wurde [288, 291] (und nicht dem Verhalten, welches für multichromophore Systeme mit hoher Ordnung in der Literatur beschrieben wurde [288, 290, 291]). Es konnte jedoch - ähnlich wie bei den MEH-PPV-Makromolekülen mit dichter Stapelung und hoher Ordnung der Chromophore - während des Abfalls der Emissionsintensität, eine mit dem Intensitätsabfall korrelierte, hypsochrome Verschiebung beobachtet werden.

Es wurden also bei den Experimenten mit den PNB-*b*-MeO-PPV-Polymerbürsten sowohl Merkmale ungeordneter, multichromophorer MEH-PPV-Systeme beobachtet (der quasi-exponentielle Abfall, kein Blinken, kein stufenartiges Bleichen), als auch Merkmale der multichromophoren Systeme mit hoher Ordnung (die hypsochrome Verschiebung, während des Abfalls der Emission). Eine mögliche Erklärung für diese unerwartete Beobachtung ergibt sich, indem man die quasi-eindimensionale Anordnung der PPV-Chromophore im Rückgrat berücksichtigt. Man kann davon ausgehen, dass entlang des Polymerbürsten-Rückgrates die Übergangsenergien der Chromophore zufällig statistisch verteilt sind. Entlang der quasi-eindimensionalen Ausdehnung des Rückgrates ergäben sich durch energetisch niedrige Chromophore eine Reihe von zufällig verteilten lokalen Energie-Minima. Wenn diese Minima weit genug voneinander entfernt sind, ist weiterer Energietransfer von diesen Positionen weg sehr unwahrscheinlich und die strahlende Relaxation findet bei diesen Energietransfer-Akzeptoren statt. Es würde also weiterhin eine große Zahl⁴ von Emittlern existieren und

⁴Abschätzung der Anzahl an Emittlern im Anregungsfokus: 2078 pro Chromophorschicht für eine Polymerbürste, deren Rückgrat dem Durchmesser des Anregungsfokus entspricht. Aufgrund der Höhe der Bürsten im Topografiebild werden fünf oder mehr Schichten erwartet, siehe Anhang A.14 für Details. Auch wenn aufgrund von Energietransfer zu lokalen Energieminima die Emission nur von einer Untermenge der Chromophore stattfindet, ist also noch immer eine Vielzahl von Emittlern im Fokus des Mikroskops vorstellbar.

nicht, wie bei dem Modell des dicht gepackten MEH-PPV [288, 291], nur einige wenige. Gerade die quasi-eindimensionale Anordnung der Chromophore und die damit geringe Zahl direkter Nachbar-Chromophore macht dies wahrscheinlich, da ein Chromophor, welches energetisch niedriger liegt, als die wenigen direkten Nachbar-Chromophore, als lokaler Energietransfer-Akzeptor fungieren kann. In diesem Modell würde das Rückgrat also aus einem Quasi-Ensemble von kleineren Gruppen aus Chromophoren bestehen, bei denen jeweils effektiver Energietransfer zum energetisch niedrigsten Chromophor stattfindet. Wenn bei diesem Photobleichen auftritt oder es auf andere Weise in einen nicht-emittierenden Zustand übergeht, findet dann stattdessen Energietransfer zum energetisch nächsthöheren in dieser Gruppe von Chromophoren statt. Dies erklärt die beobachtete allmähliche hypsochrome Verschiebung. Da dennoch stets eine Vielzahl von Emittlern gleichzeitig angeregt wird, kann kein Photoblinken beobachtet werden und der Intensitätsabfall zum Untergrund findet nicht in einzelnen ausgeprägten Stufen statt, sondern kontinuierlich (wie im Fall der ausgebreiteten Struktur des MEH-PPV mit einem Ensemble von weitestgehend unabhängigen Emittlern [288, 291]).

Bei exakt gleicher Umgebung und gleicher Anregungsrate der Emitter in der Polymerbürste, hätten alle Emitter zu jedem Zeitpunkt der Messung ungefähr die gleiche Wahrscheinlichkeit einen Photobleichprozess einzugehen oder in einen nicht-emittierenden Zustand überzugehen. In solch einem Fall könnte das Verhalten mit einem Poisson-Prozess beschrieben werden und für den Verlauf der Intensitätszeitspur würde bei einer großen Anzahl an Emittlern ein exponentieller Intensitätsabfall zum Untergrund mit einer festen mittleren Zerfallszeit τ erwartet. Die Wahrscheinlichkeit für Photoreaktionen und Übergänge in nicht-emittierende Zustände ist jedoch mit großer Sicherheit abhängig von Umgebungsfaktoren, welche nicht für alle Emitter gleich sind. Als Beispiele können hier die Position des Emitters innerhalb des Rückgrates und ortsabhängige Einflüsse des Substrates genannt werden. Da innerhalb des oben beschriebenen Modells bei verschiedenen Emittlern auch die Anzahl an Energietransfer-Donoren variieren kann, kann auch die Anregungsrate der Emitter nicht als gleich angenommen werden. Außerdem sollte beachtet werden, dass viele der untersuchten Polymerbürsten auch Längen von mehreren Hundert Nanometer haben können und damit in der gleichen Größenordnung sind wie der Anregungsfokus. Daher kann in solchen Fällen auch die Anregungsleistungsdichte entlang der Polymerbürste nicht als konstant angesehen werden. Diese Faktoren bewirken also, dass die Emitter keine einheitliche Wahrscheinlichkeit haben, in einen nicht-emittierenden Zustand überzugehen, sondern dass stattdessen eine Verteilung vorliegt. Damit könnte der zeitliche Verlauf des Intensitätsabfalls, der bei den Messungen beobachtet wurde, erklärt werden. Dieser lässt sich am besten durch eine gestreckte Exponentialfunktion beschreiben, was auf eine Verteilung von Zerfallszeiten τ innerhalb der Chromophore einer Polymerbürste hindeutet [282, 284].

Mit diesen Betrachtungen können auch die Unterschiede im Verlauf des zeitlichen Intensitätsabfalls bei variierten Messbedingungen erklärt werden, welche bei den Messreihen in Kapitel 6.2.3 gefunden wurden. Die Gegenwart von Sauerstoff bei der Messung erhöht - z.B.

durch die Möglichkeit von Photoreaktionen mit Sauerstoff - die Wahrscheinlichkeit für das Photobleichen der Emitter, was sich in der Reduktion von $\langle\tau\rangle$ zeigt. Alle Emitter sind davon allerdings gleichmäßig betroffen, wodurch β als Maß für die relative Breite der Verteilung von τ weitgehend unverändert bleibt. Durch Erhöhung der Anregungsleistungsdichte sind die Emitter häufiger - und damit im Schnitt längere Zeit - im angeregten elektronischen Zustand. Dadurch steigt die Wahrscheinlichkeit für z.B. Photoreaktionen. Dies begründet die beobachtete Reduktion von $\langle\tau\rangle$ bei Vergrößerung der Anregungsleistung. Zusätzlich verringert sich auch β , was auf eine Veränderung der Breite der Verteilung von τ hindeutet. Dies könnte erklärt werden, wenn nicht-lineare Prozesse bei der Anregung eine Rolle spielen. Die Veränderung der Anregungsleistungsdichte würde sich dann nicht auf alle Emitter gleich auswirken. Dadurch würde die Breite der Wahrscheinlichkeitsverteilung für das Photobleichen der Emitter verändert, was sich in der Verkleinerung von β zeigt. Bei einem linearen Zusammenhang hingegen würde sich nur $\langle\tau\rangle$ ändern.

Der Einfluss des Substrats scheint nicht signifikant zu sein, das heißt die Wechselwirkungen der Polymerbürste mit dem Substrat beeinflussen die Wahrscheinlichkeit für Photoreaktionen nur unwesentlich (ganz im Gegensatz z.B. zu den PDI-Dendrimeren, siehe Kapitel 5.2.1.1). Auch die Wahl der Anregungswellenlänge hatte keinen Einfluss auf das Photobleichen, was innerhalb des diskutierten Modells auch nicht zu erwarten ist.

Die unerwartete Beobachtung, dass die Polymerbürsten trotz vollständigem Intensitätsabfall auf den Untergrund nach einer Wartezeit wieder Lumineszenz zeigten, deutet darauf hin, dass einige der Ursachen für die beobachtete zeitliche Abnahme der Fluoreszenzintensität reversibel sein müssen. Das bedeutet, dass die Übergänge der Chromophore in nicht-emittierende Zustände nicht ausschließlich auf Photobleich-Prozesse zurückzuführen sind, welche in der Regel permanent sind. Eine durch die Anregung verursachte temporäre Ladungstrennung bei den konjugierten Polymeren könnte eine Ursache für die nur zwischenzeitliche Abnahme der Fluoreszenzintensität sein. Nach der Rekombination der Ladungsträger wäre die Lumineszenz wieder hergestellt. In zukünftigen weiteren Experimenten könnte aufgeklärt werden, welche physikalischen Prozesse an der zeitlichen Abnahme der Fluoreszenzintensität beteiligt sind und durch welche Faktoren diese beeinflusst werden.

Es wurde auch die Möglichkeit in Betracht gezogen, dass es durch die Anregung während des Photobleichens auch zu *trans*-zu-*cis*-Photoisomerisierungen in den konjugierten Polymeren kommen könnte. Dies könnte mit hoher Wahrscheinlichkeit zum Aufbrechen des Polymerbürsten-Rückgrates führen, da die *trans*-Konformationen der konjugierten Polymere durch die effektive π - π -Wechselwirkung entscheidend war für die Ausbildung des Rückgrates. Es konnten jedoch keine Hinweise auf strukturelle Veränderungen der Polymerbürsten nach dem Abfall der Emissionsintensität auf den Untergrund gefunden werden (siehe Kapitel 6.2.4).

7 | Zusammenfassung

Funktionelle Gruppen, welche durch Absorption elektromagnetischer Strahlung Photoreaktionen eingehen, wie z.B. reversible *trans*-zu-*cis*-Isomerisierungen, können als Photoschalter eingesetzt werden, um die Eigenschaften eines Moleküls, wie zum Beispiel Form und Volumen oder auch das Aggregationsverhalten, gezielt zu verändern. Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Kombination aus Rasterkraftmikroskopie und konfokaler Fluoreszenzmikroskopie eingesetzt, um Veränderungen solcher Eigenschaften an einzelnen Molekülen oder Molekülaggregaten zu untersuchen. Diese waren zu diesem Zweck in niedriger Konzentration und in Abständen größer als das Auflösungslimit des konfokalen Mikroskops auf einer flachen Substratoberfläche adsorbiert. Die Messungen wurden in Luft durchgeführt, welche zum Zweck höherer Photostabilität mit Argon angereichert werden konnte. Durch eine Reihe experimenteller Justage-Routinen konnte sichergestellt werden, dass mit beiden Mikroskopen dieselbe Position der Probe untersucht wird. Das konfokale Mikroskop wurde bei diesen Messungen zur photophysikalischen Untersuchung individueller Fluorophore eingesetzt, darüber hinaus aber auch zur gezielten Auslösung der Photoschaltung bei einzelnen Emittlern. Das hohe laterale und axiale räumliche Auflösungsvermögen des Rasterkraftmikroskops diente zur Lokalisation einzelner Moleküle und Molekülaggregate auf der Substratoberfläche, sowie zur Detektion und Charakterisierung von Formveränderungen durch ausgelöste Photoreaktionen.

In einer Reihe von Experimenten wurden mit dieser Kombination aus Rasterkraft- und Fluoreszenzmikroskop einzelne Moleküle eines dendritischen PDI-Derivats mit acht photoschaltbaren Azobenzolgruppen in einem Gerüst aus starren Polyphenyl-Substituenten in *bay*-Position untersucht. In vorausgegangenen Experimenten in Lösung zeigten diese Moleküle durch die *trans*-zu-*cis*-Photoisomerisierung der Azobenzolgruppen drastische reversible Volumenveränderungen [79].

Der in dieser Arbeit gemessene Höhenkontrast der auf einem Muskovitsubstrat adsorbierten Dendrimere war ca. eine Größenordnung geringer als es von dem hydrodynamischen Radius der Moleküle erwartet wurde und damit nur sehr geringfügig über dem Rauschen des Rasterkraftmikroskops. Für eine reproduzierbare Lokalisation der Moleküle war es deshalb nötig, Störungen des Mikroskop-Aufbaus so gering wie möglich zu halten. Eine der wichtigsten Störquellen bei Rasterkraftmikroskopiemessungen des kombinierten Aufbaus sind Oszillationen der Probe, die vom Rasterkraftmikroskop detektiert werden, wenn bei

dem Konfokalmikroskop ein Ölimmersionsobjektiv benutzt wird. Durch eine systematische Untersuchung der Frequenz, Stärke und möglichen Einflussfaktoren auf diese Störung konnte als Ursache eine Resonanz des Objektiv-Objektivhalterung-Systems identifiziert werden. Für die Rasterkraftmikroskopie-Experimente an den photoschaltbaren Dendrimeren musste daher auf ein Luftspaltobjektiv zurückgegriffen werden, bei dem die mechanische Kopplung der Probe mit dem Objektiv vernachlässigbar ist. Es wurden zudem Ansatzpunkte gefunden, wie diese Störung für zukünftige Experimente mit Ölimmersionsobjektiven reduziert werden kann.

Die Betriebsparameter des Rasterkraftmikroskops wurden so gewählt, dass die Messungen im attraktiven Regime des intermittierenden Kontaktmodus durchgeführt wurden. Dies geschah, da es bei Messungen im repulsiven Regime Anzeichen für Beschädigungen der Moleküle durch die Wechselwirkung mit dem Cantilever gab. Durch Messungen an einem schon bekannten System (CdSe-Nanokristalle) konnte verifiziert werden, dass durch die gewählten Betriebsparameter tatsächlich eine geringere mechanische Beeinflussung der Probe gegeben war, als bei Messungen im repulsiven Regime. Unter anderem war bei Messungen im attraktiven Regime eine Untergrundstruktur auf dem Muskovit erkennbar. Vermutlich wird sie durch adsorbiertes Wasser und Salze, welche nach der Spaltung des Muskovits durch Reaktion mit Atmosphären-Luft entstanden sind, verursacht.

Trotz allen durchgeführten Optimierungen war die räumliche Auflösung einzelner Dendrimere unzureichend. Erst durch die Überlagerung mehrerer Einzelbilder konnten einzelne Dendrimere zufriedenstellend aufgelöst werden, so dass ihre räumliche Ausdehnung zugänglich wurde. Bei der Überlagerung der Einzelbilder musste deren lateraler Versatz durch thermische Drift berücksichtigt werden. Als Anhaltspunkt für die Ermittlung des lateralen Versatzes diente dabei die nun aufgelöste Untergrundstruktur des Muskovits. Durch diese weitere Reduktion des verbliebenen Rauschens waren nun Höhe und laterale Ausdehnung der Moleküle auf Muskovit ermittelbar. Im Gegensatz zur gemessenen Höhe der Moleküle gab es eine gute Übereinstimmung der lateralen Ausdehnung mit den Erwartungen aufgrund der Größe des hydrodynamischen Radius. Es wurden interessanterweise keine kreisförmigen Objekte beobachtet, sondern Objekte länglicher lateraler Ausdehnung mit einem systematischen Aspektverhältnis von 0,8 gefunden.

Beim Vergleich der räumlichen Ausdehnung einzelner Moleküle vor und nach Anregung der Azobenzolgruppen zur *trans*-zu-*cis*-Isomerisierung wurde eine signifikante Verringerung der Größe in allen Dimensionen beobachtet. Die daraus berechnete Abnahme der Größe ist in guter Übereinstimmung mit der relativen Größenabnahme des hydrodynamischen Radius in Lösung. Neben der Größenänderung wurde in einigen Fällen auch eine laterale Bewegung der Moleküle gefunden, die offensichtlich auch durch die Photoreaktion ausgelöst wurde. Auch Anzeichen für induzierte Rotationsbewegungen konnten mit Hilfe von polarisationsaufgelösten Emissionsintensitätszeitspuren beobachtet werden. Diese induzierten Bewegungen wurden auf die erhebliche Bewegung der Substituenten durch

die *trans*-zu-*cis*-Isomerisierung und deren Wechselwirkung mit dem Substrat zurückgeführt. Es wurden bei den durchgeführten Messungen allerdings wider Erwarten keine Anzeichen für das Stattfinden der Rückreaktion der Photoisomerisierung (*cis*-zu-*trans*-Photoisomerisierung) gefunden, sondern die Moleküle blieben nach der entsprechenden Anregung der Azobenzolgruppen unverändert.

Bei den auf Muskovit adsorbierten Dendrimeren wurde eine sehr geringe Photostabilität des PDI-Kerns beobachtet. Es wird vermutet, dass ein Zusammenhang mit den auf der Oberfläche des frisch gespaltenen Muskovits vorhandenen Ladungszentren besteht. Aus diesem Grund war nur bei einem geringen Teil der untersuchten Moleküle ein Vergleich des Emissionsspektrum vor und nach der Photoisomerisierung möglich. Hier konnten jedoch dennoch nach der *trans*-zu-*cis*-Isomerisierung signifikante Unterschiede, allerdings ohne systematischen Trend, in Lage und Intensität gefunden werden, welche vermutlich auf die Umgebungsänderungen durch die Bewegung der Moleküle bei der Photoschaltung zurückzuführen sind. Keine Unterschiede in den Emissionsspektren wurden nach dem Versuch der Auslösung der Rückreaktion gefunden, was ebenfalls daraufhin weist, dass diese bei den auf Muskovit adsorbierten Dendrimeren nicht stattfindet.

Mit Hilfe numerischer Kalkulationen wurden Werte für die zu erwartende Höhe im Topografiebild mit verschiedenen hypothetischen Modellen der adsorbierten Moleküle errechnet. Die Modellierung des Cantilever-Probe-Systems in atmosphärisches Umgebung erfolgte dabei in enger Anlehnung an die Arbeiten von Santos et. al. [80, 81, 148, 197, 265, 266]. Es konnte dadurch gezeigt werden, dass das intrinsische axiale Auflösungslimit des Rasterkraftmikroskops aufgrund geometrischer Effekte der Cantileverspitze, sowie der Einfluss des Wasserfilms auf Cantilever und Substrat und des materialspezifischen Unterschieds zwischen Molekül und Substrat auf den Höhenkontrast nicht ausreicht, um die sehr geringe gemessene Höhe der adsorbierten Moleküle zu erklären. Stattdessen kann aus den Rechnungen geschlussfolgert werden, dass die Moleküle auf dem Muskovit eine anisotrope Krafteinwirkung erfahren, welche dazu führt, dass sie in einer stark abgeflachten Struktur vorliegen. Diese gerichtete Krafteinwirkung kommt durch die anisotrope Wechselwirkung mit dem Substrat zu Stande. In der Literatur konnten Verformungen aufgrund der Wechselwirkung mit der Oberfläche bereits für deutlich steifere Kohlenstoff- und Silizium-Nanoröhren nachgewiesen werden [262, 263].

Ein weiterer auffälliger Befund bei den Experimenten an den Dendrimeren ist das Ausbleiben der Rückreaktion der Photoisomerisierung der Azobenzolgruppen. Durch eine Modellrechnung konnte gezeigt werden, dass die dafür notwendige Volumenänderung und damit die Vergrößerung der Oberfläche des Moleküls in Abwesenheit eines stabilisierenden Lösemittels eine Erklärung hierfür liefern könnte. Aufgrund der ausgedehnteren räumlichen Struktur kann die *8-trans*-Form des Dendrimers in Lösung mehr stabilisierende Wechselwirkungen mit Lösemittelmolekülen eingehen als es bei den kompakteren Varianten mit hohem *cis*-Anteil der Fall ist. Bei diesen haben die dendritischen Substituenten durch

die kleinere räumliche Ausdehnung des Dendrimers einen geringeren Abstand zueinander, weshalb größere van-der-Waals-Wechselwirkungen zwischen diesen zu erwarten sind. Um eine Volumen- bzw. Oberflächenvergrößerung zu erreichen, wie es bei der Rückreaktion der Photoisomerisierung der Fall wäre, muss der Abstand zwischen den Substituenten vergrößert werden. In diesem Fall wirken die attraktiven van-der-Waals-Wechselwirkungen der Substituenten miteinander also entgegen der Bewegung der Substituenten voneinander weg. Dadurch muss ein zusätzlicher Energiebetrag aufgebracht werden, welcher außerhalb eines Lösemittels nicht durch die Bindungsenergie der Wechselwirkung mit Lösemittelmolekülen aufgebracht werden kann. Stattdessen müsste diese Arbeit durch die Photoisomerisierung selber geleistet werden, welche aus früheren Experimenten abgeschätzt werden kann [278]. Die zusätzliche Energie, die aufgebracht werden muss ist laut der durchgeführten Modellrechnung besonders hoch, wenn man von abgeflachten Strukturen des Moleküls auf der Substratoberfläche ausgeht, wie es die Ergebnisse der Messungen nahelegen. Diese lag hier ein Vielfaches über der Arbeit, welche durch die Photoisomerisierung aufgebracht werden kann.

Die hier durchgeführten Untersuchungen an den einzelnen photoschaltbaren Dendrimern weisen deutlich darauf hin, dass die Abwesenheit eines Lösemittels und die anisotrope Wechselwirkung mit einer Substratoberfläche sich auf das Vermögen zur reversiblen Photoschaltung auswirken. Die räumliche Struktur der Moleküle kann stark von der in Lösung festgestellten Form abweichen. Bei physikalischen Prozessen, welche die Form der untersuchten Moleküle ändern, muss der Einfluss auf die Stabilität der verschiedenen Zustände des molekularen Schalters berücksichtigt werden. Zur Vertiefung dieser Erkenntnisse könnte es interessant sein, in zukünftigen Experimenten die Photoisomerisierung dieser Dendrimere oder anderer Moleküle, welche ihr Volumen durch einen Schaltprozess ändern, in einer Reihe von Lösemitteln zu untersuchen, in welchen diese eine unterschiedliche Löslichkeit aufweisen.

In einer weiteren Messreihe dieser Arbeit wurden mit der Kombination aus Rasterkraftmikroskopie und konfokaler Fluoreszenzmikroskopie einzelne Polymerbürsten untersucht, welche durch die Aggregation von PNB-*b*-MeO-PPV-Blockcopolymeren entstanden sind. Die Aggregation erfolgte nach der gezielten Auslösung von *cis*-zu-*trans*-Photoisomerisierungen, welche die Löslichkeit im verwendeten Lösemittel herabsetzte [83]. Die PPVOMe-Teile der Blockcopolymeren bilden dabei durch parallele Anordnung das Rückgrat der Bürste.

Die Polymerbürsten waren in den Topografiebildern des Rasterkraftmikroskops als faserartige Strukturen erkennbar, ähnlich wie es bereits in früheren Experimenten beobachtet wurde [83]. Die gemessene Höhe der Polymerbürsten war allerdings etwas geringer und heterogener verteilt als bei den Topografiebildern in der Literatur. Außerdem wurden mehr Biegungen entlang des Rückgrats festgestellt. Durch die zeitabhängige Messung der Fluoreszenzemission einzelner Polymerbürsten konnte beobachtet werden, dass diese ein ungewöhnliches zeitabhängiges Verhalten der PPVOMe-Emission zeigen. Es fand ein konti-

nuierlicher, stufenloser Abfall zum Untergrund statt, welcher sich phänomenologisch gut durch eine gestreckte Exponentialfunktion beschreiben lässt. Die Parameter der gestreckten Exponentialfunktion zeigten dabei eine Abhängigkeit von der Anregungsleistung und der Anwesenheit von Argon im atmosphärischen Medium der Probenkammer, nicht jedoch von verschiedenen Substraten oder von der Anregungswellenlänge. Es konnte dabei kein Photoblinken beobachtet werden. Interessanterweise gab es Anzeichen für eine teilweise Reversibilität des Prozesses nach mehreren Stunden. Dies weist deutlich daraufhin, dass die Abnahme der Emissionsintensität nicht nur auf Photobleichprozesse zurückzuführen ist, sondern dass reversible Prozesse, wie z.B. Ladungstrennungen, eine Rolle spielen müssen. Der Prozess der Emissionsintensitätsabnahme ging außerdem einher mit einer hypsochromen Verschiebung der Emission. Eine zeitgleiche Auswirkung auf die Topografie der Polymerbürsten konnte nicht beobachtet werden.

Es erscheint aufgrund der räumlichen Nähe und parallelen Anordnung der PPVOMe-Chromophore wahrscheinlich, dass Energietransfer zwischen diesen Chromophoren eine große Rolle spielt. Zur Interpretation der Ergebnisse wurden diese deshalb mit früheren Erkenntnissen beim strukturverwandten MEH-PPV¹ verglichen. Bei diesem wurde einerseits eine kontinuierliche Abnahme der Emissionsintensität ohne gleichzeitige spektrale Verschiebung beobachtet, wenn nur eine geringe Ordnung der Chromophore vorlag und diese damit relativ unabhängig voneinander waren, also Energietransfer zwischen den Chromophoren nur eine untergeordnete Rolle spielt. Andererseits kam es zu stufenhafter Reduktion der Intensität mit gleichzeitiger hypsochromer Verschiebung der Emission, wenn eine hohe Ordnung der Chromophore vermutet wurde, wie zum Beispiel durch parallele Anlagerung der Chromophore in einem ungeeignetem Lösemittel. Diese Beobachtungen wurden auf effektiven, dreidimensionalen Energietransfer zu nur einer sehr kleinen Anzahl an Akzeptoren zurückgeführt, welcher bei einer hohen Ordnung der Chromophore möglich ist [288–292]. Das bei den Polymerbürsten beobachtete Verhalten - kontinuierliche Abnahme der gemessenen Intensität *mit* gleichzeitiger hypsochromer Verschiebung der Emission - erscheint damit als eine Kombination dieser beiden beim MEH-PPV beobachteten Muster. Es wird zur Erklärung dieser Beobachtung deshalb vermutet, dass es entlang des Rückgrates aus PPVOMe-Einheiten der Polymerbürsten eine größere Anzahl von energetisch niedrigeren Chromophoren gibt, welche als Energietransfer-Akzeptoren fungieren und von denen die Emission stattfindet. Energietransfer findet zu diesen - aufgrund der quasi-eindimensionalen Anordnung der PPVOMe-Einheiten entlang des Rückgrates - lediglich von einer kleinen Reihe an benachbarten Chromophoren statt. Durch den allmählichen Übergang der initialen Energietransfer-Akzeptoren in nicht-emittierende Zustände (durch Photobleichen oder andere z. T. reversible Prozesse) werden nun energetisch etwas höher liegende Chromophore zu den neuen Energietransfer-Akzeptoren. Dies erklärt die hypsochrome Verschiebung der Emission. Die Abwesenheit von Photoblinken und der stufenlose Abfall zum Untergrund

¹MEH-PPV ist ebenfalls ein multichromophores System, welches aus PPV-Einheiten besteht [286, 287]

7 Zusammenfassung

kann durch die - trotz effektivem Energietransfer - große Anzahl an Emittlern aufgrund lokaler Energieminima entlang des eindimensionalen Rückgrates begründet werden.

Literaturverzeichnis

- [1] Ronald Wennersten, Jan Fidler und Anna Spitsyna: "Nanotechnology: A New Technological Revolution in the 21st Century". In: Krishna B. Misra (Hrsg.): *Handbook of Performability Engineering*. London: Springer-Verlag London Limited, 2008, S. 943–952.
- [2] NobelPrize.org. Nobel Media AB 2019: Press release: The Nobel Prize in Chemistry 2016: "for the design and synthesis of molecular machines", 05.10.2016.
- [3] C.O Dietrich-Buchecker, J.P Sauvage und J.P Kintzinger: "Une nouvelle famille de molecules : les metallo-catenanes". *Tetrahedron Letters* **24** (1983), 5095–5098.
- [4] Pier Lucio Anelli, Neil Spencer und J. Fraser Stoddart: "A molecular shuttle". *Journal of the American Chemical Society* **113** (1991), 5131–5133.
- [5] Nagatoshi Koumura, Robert W. J. Zijlstra, Richard A. van Delden, Nobuyuki Harada und Ben L. Feringa: "Light-driven monodirectional molecular rotor". *Nature* **401** (1999), 152–155.
- [6] Jia Lin Zhang, Jian Qiang Zhong, Jia Dan Lin, Wen Ping Hu, Kai Wu, Guo Qin Xu, Andrew T. S. Wee und Wei Chen: "Towards single molecule switches". *Chemical Society reviews* **44** (2015), 2998–3022.
- [7] D. Dulić, T. Kudernac, A. Pużys, B. L. Feringa und B. J. van Wees: "Temperature Gating of the Ring-Opening Process in Diarylethene Molecular Switches". *Advanced Materials* **19** (2007), 2898–2902.
- [8] Yasuhiro Shiraishi, Yasufumi Tokitoh, Go Nishimura und Takayuki Hirai: "A molecular switch with pH-controlled absolutely switchable dual-mode fluorescence". *Organic letters* **7** (2005), 2611–2614.
- [9] Sung Im Jun, Jae Wook Lee, Shigeru Sakamoto, Kentaro Yamaguchi und Kimoon Kim: "Rotaxane-based molecular switch with fluorescence signaling". *Tetrahedron Letters* **41** (2000), 471–475.
- [10] David Bléger und Stefan Hecht: "Visible-Light-Activated Molecular Switches". *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **54** (2015), 11338–11349.
- [11] Maria-Melanie Russew und Stefan Hecht: "Photoswitches: from molecules to materials". *Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.)* **22** (2010), 3348–3360.
- [12] Matthew J. Comstock, Niv Levy, Armen Kirakosian, Jongweon Cho, Frank Lauterwasser, Jessica H. Harvey, David A. Strubbe, Jean M. J. Fréchet, Dirk Trauner, Steven G. Louie und Michael F. Crommie: "Reversible photomechanical switching of individual

- engineered molecules at a metallic surface". *Physical Review Letters* **99** (2007), 038301.
- [13] Peter C. Knipe, Sam Thompson und Andrew D. Hamilton: "Ion-mediated conformational switches". *Chemical science* **6** (2015), 1630–1639.
- [14] Vincenzo Balzani, Marcos Gómez-López und J. Fraser Stoddart: "Molecular Machines". *Accounts of Chemical Research* **31** (1998), 405–414.
- [15] Jonas Bresien, Thomas Kröger-Badge, Stefan Lochbrunner, Dirk Michalik, Henrik Müller, Axel Schulz und Edgar Zander: "A chemical reaction controlled by light-activated molecular switches based on hetero-cyclopentenediyls". *Chemical science* **10** (2019), 3486–3493.
- [16] Christopher J. Barrett, Jun-ichi Mamiya, Kevin G. Yager und Tomiki Ikeda: "Photo-mechanical effects in azobenzene-containing soft materials". *Soft Matter* **3** (2007), 1249.
- [17] Ben L. Feringa (Hrsg.): *Molecular switches*. Weinheim: Wiley-VCH-Verl., 2., completely rev. and enl. ed. Auflage, 2011.
- [18] Maurice Goeldner und Richard Givens: *Dynamic studies in biology: Phototriggers, photoswitches and caged biomolecules*. Weinheim: Wiley-VCH, 2005.
- [19] Ben L. Feringa: "The Art of Building Small: From Molecular Switches to Molecular Motors". *The Journal of Organic Chemistry* **72** (2007), 6635–6652.
- [20] Jörg Henzl, Thomas Bredow und Karina Morgenstern: "Irreversible isomerization of the azobenzene derivate Methyl Orange on Au(111)". *Chemical Physics Letters* **435** (2007), 278–282.
- [21] Jörg Henzl, Peter Puschnig, Claudia Ambrosch-Draxl, Andreas Schaate, Boris Ufer, Peter Behrens und Karina Morgenstern: "Photoisomerization for a molecular switch in contact with a surface". *Physical Review B* **85** (2012).
- [22] J. Henzl, M. Mehlhorn, H. Gawronski, K. H. Rieder und K. Morgenstern: "Reversible cis-trans isomerization of a single azobenzene molecule". *Angewandte Chemie-International Edition* **45** (2006), 603–606.
- [23] Reinhard J. Maurer und Karsten Reuter: "Bistability Loss as a Key Feature in Azobenzene (Non-)Switching on Metal Surfaces". *Angewandte Chemie International Edition* **51** (2012), 12009–12011.
- [24] Erik R. McNellis, Giuseppe Mercurio, Sebastian Hagen, Felix Leyssner, Jörg Meyer, Serguei Soubatch, Martin Wolf, Karsten Reuter, Petra Tegeder und F. Stefan Tautz: "Bulky spacer groups – A valid strategy to control the coupling of functional molecules to surfaces?". *Chemical Physics Letters* **499** (2010), 247–249.
- [25] Sebastian Hagen, Felix Leyssner, Dhananjay Nandi, Martin Wolf und Petra Tegeder: "Reversible switching of tetra-tert-butyl-azobenzene on a Au(111) surface induced by light and thermal activation". *Chemical Physics Letters* **444** (2007), 85–90.
- [26] Katharina Scheil, Thiruvancheril G. Gopakumar, Julia Bahrenburg, Friedrich Temps, Reinhard Johann Maurer, Karsten Reuter und Richard Berndt: "Switching of an Azobenzene-Tripod Molecule on Ag(111)". *Journal of Physical Chemistry Letters* **7** (2016), 2080–2084.

- [27] G. Binnig, H. Rohrer, Ch Gerber und E. Weibel: "Surface Studies by Scanning Tunneling Microscopy". *Physical Review Letters* **49** (1982), 57–61.
- [28] NobelPrize.org. Nobel Media AB 2019.: Press release: The Nobel Prize in Physics, 15.10.1986.
- [29] G. Binnig, C. F. Quate und C. Gerber: "Atomic Force Microscope". *Physical Review Letters* **56** (1986), 930–933.
- [30] Alice Pyne, Ruth Thompson, Carl Leung, Debdulal Roy und Bart W. Hoogenboom: "Single-Molecule Reconstruction of Oligonucleotide Secondary Structure by Atomic Force Microscopy". *Small* **10** (2014), 3257–3261.
- [31] Daniel J. Müller, Harald Janovjak, Tiina Lehto, Lars Kuerschner und Kurt Anderson: "Observing structure, function and assembly of single proteins by AFM". *Progress in Biophysics and Molecular Biology* **79** (2002), 1–43.
- [32] Jiro Kumaki und Takeji Hashimoto: "Conformational Change in an Isolated Single Synthetic Polymer Chain on a Mica Surface Observed by Atomic Force Microscopy". *Journal of the American Chemical Society* **125** (2003), 4907–4917.
- [33] Sarah E. Cross, Yu-Sheng Jin, Julianne Tondre, Roger Wong, JianYu Rao und James K. Gimzewski: "AFM-based analysis of human metastatic cancer cells". *Nanotechnology* **19** (2008), 384003.
- [34] F. M. Ohnesorge, J. K. Hörber, W. Häberle, C. P. Czerny, D. P. Smith und G. Binnig: "AFM review study on pox viruses and living cells". *Biophysical Journal* **73** (1997), 2183–2194.
- [35] Małgorzata Lekka: "Discrimination Between Normal and Cancerous Cells Using AFM". *BioNanoScience* **6** (2016), 65–80.
- [36] A. Pfau, W. Schrepp und D. Horn: "Detection of a Single Molecule Adsorption Structure of Poly(ethylenimine) Macromolecules by AFM †". *Langmuir* **15** (1999), 3219–3225.
- [37] Marat O. Gallyamov, Bernd Tartsch, Alexei R. Khokhlov, Sergei S. Sheiko, Hans G. Börner, Krzysztof Matyjaszewski und Martin Möller: "Real-Time Scanning Force Microscopy of Macromolecular Conformational Transitions". *Macromolecular Rapid Communications* **25** (2004), 1703–1707.
- [38] Sergei S. Sheiko und Martin Möller: "Visualization of Macromolecules A First Step to Manipulation and Controlled Response". *Chemical Reviews* **101** (2001), 4099–4124.
- [39] A. L. Weisenhorn, P. K. Hansma, T. R. Albrecht und C. F. Quate: "Forces in atomic force microscopy in air and water". *Applied Physics Letters* **54** (1989), 2651–2653.
- [40] Franz J. Giessibl: "Advances in atomic force microscopy". *Reviews of Modern Physics* **75** (2003), 949–983.
- [41] P. K. Hansma, J. P. Cleveland, M. Radmacher, D. A. Walters, P. E. Hillner, M. Bezanilla, M. Fritz, D. Vie, H. G. Hansma, C. B. Prater, J. Massie, L. Fukunaga, J. Gurley und V. Elings: "Tapping mode atomic force microscopy in liquids". *Applied Physics Letters* **64** (1994), 1738–1740.

- [42] Hans-Jürgen Butt: “Measuring electrostatic, van der Waals, and hydration forces in electrolyte solutions with an atomic force microscope”. *Biophysical Journal* **60** (1991), 1438–1444.
- [43] Noriaki Oyabu, Oscar Custance, Insook Yi, Yasuhiro Sugawara und Seizo Morita: “Mechanical vertical manipulation of selected single atoms by soft nanoindentation using near contact atomic force microscopy”. *Physical review letters* **90** (2003), 176102.
- [44] S. Stottinger, G. Hinze, G. Diezemann, I. Oesterling, K. Mullen und T. Basche: “Impact of local compressive stress on the optical transitions of single organic dye molecules”. *Nature Nanotechnology* **9** (2014), 182–186.
- [45] Suenne Kim, Farbod Shafiei, Daniel Ratchford und Xiaoqin Li: “Controlled AFM manipulation of small nanoparticles and assembly of hybrid nanostructures”. *Nanotechnology* **22** (2011), 115301.
- [46] Dimitrios Fotiadis, Simon Scheuring, Shirley A. Müller, Andreas Engel und Daniel J. Müller: “Imaging and manipulation of biological structures with the AFM”. *Micron* **33** (2002), 385–397.
- [47] A.A.G. Requicha, S. Meltzer, F.P.T. Arce, J. H. Makaliwe, H. Siken, S. Hsieh, D. Lewis, B. E. Koel und M. E. Thompson: “Manipulation of nanoscale components with the AFM: principles and applications”. In: *Proceedings of the 2001 1st IEEE Conference on Nanotechnology*, S. 81–86, Piscataway, NJ, 2001. IEEE.
- [48] F. J. Giessibl, S. Hembacher, H. Bielefeldt und J. Mannhart: “Subatomic features on the silicon (111)-(7x7) surface observed by atomic force microscopy”. *Science* **289** (2000), 422–425.
- [49] L. Gross, F. Mohn, N. Moll, P. Liljeroth und G. Meyer: “The Chemical Structure of a Molecule Resolved by Atomic Force Microscopy”. *Science* **325** (2009), 1110–1114.
- [50] L. Gross, F. Mohn, N. Moll, B. Schuler, A. Criado, E. Guitian, D. Pena, A. Gourdon und G. Meyer: “Bond-Order Discrimination by Atomic Force Microscopy”. *Science* **337** (2012), 1326–1329.
- [51] R. Kassies: *Atomic force fluorescence microscopy: Combining the best of two worlds*. Dissertation, Universität Twente, Enschede, 01.01.2005.
- [52] R. Kassies, Van der Werf, K. O., A. Lenferink, C. N. Hunter, J. D. Olsen, V. Subramaniam und C. Otto: “Combined AFM and confocal fluorescence microscope for applications in bio-nanotechnology”. *Journal of Microscopy-Oxford* **217** (2005), 109–116.
- [53] W. E. Moerner und David P. Fromm: “Methods of single-molecule fluorescence spectroscopy and microscopy”. *Chemical Physics* **74** (2003), 3597–3619.
- [54] Moerner und Kador: “Optical detection and spectroscopy of single molecules in a solid”. *Physical review letters* **62** (1989), 2535–2538.
- [55] E. Brooks Shera, Newton K. Seitzinger, Lloyd M. Davis, Richard A. Keller und Steven A. Soper: “Detection of single fluorescent molecules”. *Chemical Physics Letters* **174** (1990), 553–557.

- [56] J. K. Trautman und J. J. Macklin: "Time-resolved spectroscopy of single molecules using near-field and far-field optics". *Chemical Physics* **205** (1996), 221–229.
- [57] J. J. Macklin, J. K. Trautman, T. D. Harris und L. E. Brus: "Imaging and time-resolved spectroscopy of single molecules at an interface". *Science* **272** (1996), 255–258.
- [58] S. M. Nie, D. T. Chiu und R. N. Zare: "Probing Individual Molecules with Confocal Fluorescence Microscopy". *Science* **266** (1994), 1018–1021.
- [59] E. Betzig und R. J. Chichester: "Single molecules observed by near-field scanning optical microscopy". *Science* **262** (1993), 1422–1425.
- [60] Th. Basché, S. Kummer und C. Bräuchle: "Direct spectroscopic observation of quantum jumps of a single molecule". *Nature* **373** (1995), 132–134.
- [61] Basché, Moerner, Orrit und Talon: "Photon antibunching in the fluorescence of a single dye molecule trapped in a solid". *Physical review letters* **69** (1992), 1516–1519.
- [62] A. Mews, F. Koberling, T. Basche, G. Philipp, G. S. Duesberg, S. Roth und M. Burgard: "Raman imaging of single carbon nanotubes". *Advanced Materials* **12** (2000), 1210–1214.
- [63] X. X. Xu, S. Stottinger, G. Battagliarin, G. Hinze, E. Mugnaioli, C. Li, K. Mullen und T. Basche: "Assembly and Separation of Semiconductor Quantum Dot Dimers and Trimers". *Journal of the American Chemical Society* **133** (2011), 18062–18065.
- [64] D. J. Frankel, J. R. Pfeiffer, Z. Surviladze, A. E. Johnson, J. M. Oliver, B. S. Wilson und A. R. Burns: "Revealing the Topography of Cellular Membrane Domains by Combined Atomic Force Microscopy/Fluorescence Imaging". *Biophysical Journal* **90** (2006), 2404–2413.
- [65] Nicole Hain, Daniel Wesner, Sergey I. Druzhinin und Holger Schönherr: "Surface Nanobubbles Studied by Time-Resolved Fluorescence Microscopy Methods Combined with AFM: The Impact of Surface Treatment on Nanobubble Nucleation". *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids* **32** (2016), 11155–11163.
- [66] R. Eckel, V. Walhorn, C. Pelargus, J. Martini, J. Enderlein, T. Nann, D. Anselmetti und R. Ros: "Fluorescence-emission control of single CdSe nanocrystals using gold-modified AFM tips". *Small* **3** (2007), 44–49.
- [67] O. Schulz, F. Koberling, D. Walters, M. Koenig, J. Viani und R. Ros: "Simultaneous single molecule atomic force and fluorescence lifetime imaging". *Proc SPIE* **7571** (2010), 757109.
- [68] Olaf Schulz, Zhao Zhao, Alex Ward, Marcelle Koenig, Felix Koberling, Yan Liu, Jorg Enderlein, Hao Yan und Robert Ros: "Tip induced fluorescence quenching for nanometer optical and topographical resolution". *Optical Nanoscopy* **2** (2013), 1.
- [69] T. J. Yang, Guillaume A. Lessard und Stephen R. Quake: "An apertureless near-field microscope for fluorescence imaging". *Applied Physics Letters* **76** (2000), 378–380.
- [70] Y. Ebenstein, E. Yuskovitz, R. Costi, A. Aharoni und U. Banin: "Interaction of scanning probes with semiconductor nanocrystals; physical mechanism and basis for near-field optical imaging". *Journal of Physical Chemistry A* **110** (2006), 8297–8303.

- [71] E. Shafran, B. D. Mangum und J. M. Gerton: "Using the Near-Field Coupling of a Sharp Tip to Tune Fluorescence-Emission Fluctuations during Quantum-Dot Blinking". *Physical Review Letters* **107** (2011).
- [72] Alpan Bek, Reiner Jansen, Moritz Ringler, Sergiy Mayilo, Thomas A. Klar und Jochen Feldmann: "Fluorescence enhancement in hot spots of AFM-designed gold nanoparticle sandwiches". *Nano Letters* **8** (2008), 485–490.
- [73] Y. Ebenstein, T. Mokari und U. Banin: "Quantum-dot-functionalized scanning probes for fluorescence-energy-transfer-based microscopy". *Journal of Physical Chemistry B* **108** (2004), 93–99.
- [74] Yufan He, Maolin Lu, Jin Cao und H. Peter Lu: "Manipulating Protein Conformations by Single-Molecule AFM-FRET Nanoscopy". *ACS Nano* **6** (2012), 1221–1229.
- [75] S. A. Vickery und R. C. Dunn: "Combining AFM and FRET for high resolution fluorescence microscopy". *Journal of Microscopy-Oxford* **202** (2001), 408–412.
- [76] Paulo A. L. Fernandes, Mihaela Delcea, Andre G. Skirtach, Helmuth Möhwald und Andreas Fery: "Quantification of release from microcapsules upon mechanical deformation with AFM". *Soft Matter* **6** (2010), 1879.
- [77] Tobias Fischer, Sven Stottinger, Gerald Hinze, Anne Bottin, Nan Hu und Thomas Basche: "Single Semiconductor Nanocrystals under Compressive Stress: Reversible Tuning of the Emission Energy". *Nano letters* **17** (2017), 1559–1563.
- [78] Mihaela Delcea, Stephan Schmidt, Raghavendra Palankar, Paulo A. L. Fernandes, Andreas Fery, Helmuth Möhwald und André G. Skirtach: "Mechanobiology: correlation between mechanical stability of microcapsules studied by AFM and impact of cell-induced stresses". *Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* **6** (2010), 2858–2862.
- [79] T. T. T. Nguyen, D. Turp, D. P. Wang, B. Nolscher, F. Laquai und K. Mullen: "A Fluorescent, Shape-Persistent Dendritic Host with Photoswitchable Guest Encapsulation and Intramolecular Energy Transfer". *Journal of the American Chemical Society* **133** (2011), 11194–11204.
- [80] S. Santos, A. Verdaguer und M. Chiesa: "The effects of adsorbed water layers on the apparent height of nanostructures in ambient amplitude modulation atomic force microscopy". *Journal of Chemical Physics* **137** (2012).
- [81] S. Santos, V. Barcons, H. K. Christenson, J. Font und N. H. Thomson: "The Intrinsic Resolution Limit in the Atomic Force Microscope: Implications for Heights of Nano-Scale Features". *Plos One* **6** (2011).
- [82] C. Y. Lai, S. Santos und M. Chiesa: "General interpretation and theory of apparent height in dynamic atomic force microscopy". *Rsc Advances* **5** (2015), 80069–80075.
- [83] Suyong Shin, Florian Menk, Youngjin Kim, Jeewoo Lim, Kookheon Char, Rudolf Zentel und Tae-Lim Choi: "Living Light-Induced Crystallization-Driven Self-Assembly for Rapid Preparation of Semiconducting Nanofibers". *Journal of the American Chemical Society* **140** (2018), 6088–6094.
- [84] Paul D. Ashby, Liwei Chen und Charles M. Lieber: "Probing Intermolecular Forces and Potentials with Magnetic Feedback Chemical Force Microscopy". *Journal of the American Chemical Society* **122** (2000), 9467–9472.

- [85] H. J. Butt, B. Cappella und M. Kappl: "Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications". *Surface Science Reports* **59** (2005), 1–152.
- [86] B. Cappella und G. Dietler: "Force-distance curves by atomic force microscopy". *Surface Science Reports* **34** (1999), 1–+.
- [87] Robert B. Best, David J. Brockwell, José L. Toca-Herrera, Anthony W. Blake, D. Alastair Smith, Sheena E. Radford und Jane Clarke: "Force mode atomic force microscopy as a tool for protein folding studies". *Analytica Chimica Acta* **479** (2003), 87–105.
- [88] M. Rief: "Single Molecule Force Spectroscopy on Polysaccharides by Atomic Force Microscopy". *Science* **275** (1997), 1295–1297.
- [89] Matthias Rief, Mathias Gautel, Alexander Schemmel und Hermann E. Gaub: "The Mechanical Stability of Immunoglobulin and Fibronectin III Domains in the Muscle Protein Titin Measured by Atomic Force Microscopy". *Biophysical Journal* **75** (1998), 3008–3014.
- [90] Thorsten Hugel und Markus Seitz: "The Study of Molecular Interactions by AFM Force Spectroscopy". *Macromolecular Rapid Communications* **22** (2001), 989–1016.
- [91] W. F. Heinz und J. H. Hoh: "Spatially resolved force spectroscopy of biological surfaces using the atomic force microscope". *Trends in biotechnology* **17** (1999), 143–150.
- [92] Hennady Shulha, Xiaowen Zhai und Vladimir V. Tsukruk: "Molecular Stiffness of Individual Hyperbranched Macromolecules at Solid Surfaces". *Macromolecules* **36** (2003), 2825–2831.
- [93] M. Radmacher, R. W. Tillmann, M. Fritz und H. E. Gaub: "From Molecules to Cells - Imaging Soft Samples with the Atomic Force Microscope". *Science* **257** (1992), 1900–1905.
- [94] Roland Resch, Christof Baur, Alejandro Bugacov, Bruce E. Koel, Pierre M. Echternach, Anupam Madhukar, Nicolas Montoya, Aristides A. G. Requicha und Peter Will: "Linking and Manipulation of Gold Multinanoparticle Structures Using Dithiols and Scanning Force Microscopy". *The Journal of Physical Chemistry B* **103** (1999), 3647–3650.
- [95] T. Junno, K. Deppert, L. Montelius und L. Samuelson: "Controlled manipulation of nanoparticles with an atomic force microscope". *Applied Physics Letters* **66** (1995), 3627–3629.
- [96] Niko Pavlicek, Anish Mistry, Zsolt Majzik, Nikolaj Moll, Gerhard Meyer, David J. Fox und Leo Gross: "Synthesis and characterization of triangulene". *Nature nanotechnology* **12** (2017), 308–311.
- [97] Gerhard Meyer und Nabil M. Amer: "Novel optical approach to atomic force microscopy". *Applied Physics Letters* **53** (1988), 1045–1047.
- [98] D. Meschede: *Gerthsen Physik*. Berlin and Heidelberg: Springer, 2006.
- [99] Q. Zhong, D. Inniss, K. Kjoller und V. B. Elings: "Fractured Polymer Silica Fiber Surface Studied by Tapping Mode Atomic-Force Microscopy". *Surface Science* **290** (1993), L688–L692.

- [100] T. R. Albrecht, P. Grütter, D. Horne und D. Rugar: "Frequency modulation detection using high- Q cantilevers for enhanced force microscope sensitivity". *Journal of Applied Physics* **69** (1991), 668–673.
- [101] F. J. Giessibl: "Atomic-Resolution of the Silicon (111)-(7x7) Surface by Atomic-Force Microscopy". *Science* **267** (1995), 68–71.
- [102] Jia-Yush Yen, Kuo-Jung Lan und John A. Kramar: "Active vibration isolation of a large stroke scanning probe microscope by using discrete sliding mode control". *Sensors and Actuators A: Physical* **121** (2005), 243–250.
- [103] J. E. Jones: "On the Determination of Molecular Fields. II. From the Equation of State of a Gas". *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* **106** (1924), 463–477.
- [104] N. Sasaki, M. Tsukada, R. Tamura, K. Abe und N. Sato: "Dynamics of the cantilever in noncontact atomic force microscopy". *Applied Physics A: Materials Science & Processing* **66** (1998), S287–S291.
- [105] S. Rutzel, S. I. Lee und A. Raman: "Nonlinear dynamics of atomic-force-microscope probes driven in Lennard-Jones potentials". *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* **459** (2003), 1925–1948.
- [106] S. A. C. Gould, K. Burke und P. K. Hansma: "Simple theory for the atomic-force microscope with a comparison of theoretical and experimental images of graphite". *Physical Review B* **40** (1989), 5363–5366.
- [107] H. Hölscher, W. Allers, U. D. Schwarz, A. Schwarz und R. Wiesendanger: "Interpretation of "true atomic resolution" images of graphite (0001) in noncontact atomic force microscopy". *Physical Review B* **62** (2000), 6967–6970.
- [108] Naruo Sasaki und Masaru Tsukada: "Theory for the effect of the tip–surface interaction potential on atomic resolution in forced vibration system of noncontact AFM". *Applied Surface Science* **140** (1999), 339–343.
- [109] Masaru Tsukada, Naruo Sasaki, Ryo Yamura, Norio Sato und Kazuo Abe: "Features of cantilever motion in dynamic-mode AFM". *Surface Science* **401** (1998), 355–363.
- [110] Claudio Amovilli und Benedetta Mennucci: "Self-Consistent-Field Calculation of Pauli Repulsion and Dispersion Contributions to the Solvation Free Energy in the Polarizable Continuum Model". *The Journal of Physical Chemistry B* **101** (1997), 1051–1057.
- [111] T. Stifter, O. Marti und B. Bhushan: "Theoretical investigation of the distance dependence of capillary and van der Waals forces in scanning force microscopy". *Physical Review B* **62** (2000), 13667–13673.
- [112] R. H. S. Winterton: "Van der Waals forces". *Contemporary Physics* **11** (1970), 559–574.
- [113] F. London: "The general theory of molecular forces". *Transactions of the Faraday Society* **33** (1937), 8b.
- [114] Miloslav Nič, Jiří Jirát, Bedřich Košata, Aubrey Jenkins und Alan McNaught (Hrsg.): *IUPAC Compendium of Chemical Terminology*. Research Triangle Park, NC: IUPAC, 2009.

- [115] F. London: “Zur Theorie und Systematik der Molekularkräfte”. *Z. Physik (Zeitschrift für Physik)* **63** (1930), 245–279.
- [116] Roger H. French: “Origins and Applications of London Dispersion Forces and Hamaker Constants in Ceramics”. *Journal of the American Ceramic Society* **83** (2000), 2117–2146.
- [117] F. L. Leite, C. C. Bueno, A. L. Da Roz, E. C. Ziemath und O. N. Oliveira: “Theoretical Models for Surface Forces and Adhesion and Their Measurement Using Atomic Force Microscopy”. *International Journal of Molecular Sciences* **13** (2012), 12773–12856.
- [118] H. B. G. Casimir und D. Polder: “The Influence of Retardation on the London-van der Waals Forces”. *Physical Review* **73** (1948), 360–372.
- [119] Michael A. Bevan und Dennis C. Prieve: “Direct Measurement of Retarded van der Waals Attraction”. *Langmuir* **15** (1999), 7925–7936.
- [120] H. C. Hamaker: “The London—van der Waals attraction between spherical particles”. *Physica* **4** (1937), 1058–1072.
- [121] R. S. Bradley: “LXXIX. The cohesive force between solid surfaces and the surface energy of solids”. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science* **13** (1932), 853–862.
- [122] Jacob N. Israelachvili: *Intermolecular and surface forces*. Burlington, MA: Academic Press, 3. ed. Auflage, 2011.
- [123] I. E. Dzyaloshinskii, E. M. Lifshitz und Lev P. Pitaevskii: “GENERAL THEORY OF VAN DER WAALS’ FORCES”. *Soviet Physics Uspekhi* **4** (1961), 153–176.
- [124] E. M. Lifshitz: “The Theory of Molecular Attractive Forces between Solids”. *Soviet Physics* (1956), 73–83.
- [125] B. W. Ninham und V. A. Parsegian: “van der Waals Forces across Triple-Layer Films”. *The Journal of Chemical Physics* **52** (1970), 4578–4587.
- [126] J. C. Fröberg, O. J. Rojas und P. M. Claesson: “Surface forces and measuring techniques”. *International Journal of Mineral Processing* **56** (1999), 1–30.
- [127] N. A. Burnham, R. J. Colton und H. M. Pollock: “Interpretation of force curves in force microscopy”. *Nanotechnology* **4** (1993), 64.
- [128] Wolfgang Demtröder: *Experimentalphysik 2 [Elektronische Ressource]: Elektrizität und Optik*. Springer-Lehrbuch, Berlin, Heidelberg: Imprint: Springer, 6., überarb. u. akt. Aufl. 2013 Auflage, Heidelberg : Imprint: Springer, 2013.
- [129] A. S. Foster, A. L. Rohl und A. L. Shluger: “Imaging problems on insulators: What can be learnt from NC-AFM modelling on CaF₂?”. *Applied Physics A* **72** (2001), S31–S34.
- [130] J. B. Engelhardt, H. Dabringhaus und K. Wandelt: “Atomic force microscopy study of the CaF₂(111) surface: From cleavage via island to evaporation topographies”. *Surface Science* **448** (2000), 187–200.
- [131] Elmar Bonaccorso, Friedhelm Schönfeld und Hans-Jürgen Butt: “Electrostatic forces acting on tip and cantilever in atomic force microscopy”. *Physical Review B* **74** (2006), 278.

- [132] M. Guggisberg, M. Bammerlin, Ch. Loppacher, O. Pfeiffer, A. Abdurixit, Barwich, R. Bennewitz, A. Baratoff, E. Meyer und H.-J. Güntherodt: “Separation of interactions by noncontact force microscopy”. *Physical Review B* **61** (2000), 11151–11155.
- [133] Jie Yang und Zhifeng Shao: “Effect of probe force on the resolution of atomic force microscopy of DNA”. *Ultramicroscopy* **50** (1993), 157–170.
- [134] U. Hartmann: “MAGNETIC FORCE MICROSCOPY”. *Annual Review of Materials Science* **29** (1999), 53–87.
- [135] Seizo Morita: *Roadmap of Scanning Probe Microscopy [Elektronische Ressource]*. NanoScience and Technology, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2007.
- [136] Paul Girard: “Electrostatic force microscopy: principles and some applications to semiconductors”. *Nanotechnology* **12** (2001), 485–490.
- [137] M. Nonnenmacher, M. P. O’Boyle und H. K. Wickramasinghe: “Kelvin probe force microscopy”. *Applied Physics Letters* **58** (1991), 2921–2923.
- [138] O. H. Pakarinen, A. S. Foster, M. Paajanen, T. Kalinainen, J. Katainen, I. Makkonen, J. Lahtinen und R. M. Nieminen: “Towards an accurate description of the capillary force in nanoparticle-surface interactions”. *Modelling and Simulation in Materials Science and Engineering* **13** (2005), 1175–1186.
- [139] Benny Lautrup: *Physics of continuous matter: Exotic and everyday phenomena in the macroscopic world*. Copenhagen: The Niels Bohr Institute, Revision 7.7 Auflage, 2004.
- [140] Hailong Liu und Guoxin Cao: “Effectiveness of the Young-Laplace equation at nanoscale”. *Scientific reports* **6** (2016), 23936.
- [141] E. Sahagún, P. García-Mochales, G. M. Sacha und J. J. Sáenz: “Energy Dissipation due to Capillary Interactions: Hydrophobicity Maps in Force Microscopy”. *Physical Review Letters* **98** (2007), 3009.
- [142] P. J. van Zwol, G. Palasantzas und J. Th M. de Hosson: “Influence of roughness on capillary forces between hydrophilic surfaces”. *Physical review. E, Statistical, nonlinear, and soft matter physics* **78** (2008), 031606.
- [143] Joonkyung Jang, George C. Schatz und Mark A. Ratner: “Capillary force in atomic force microscopy”. *Journal of Chemical Physics* **120** (2004), 1157–1160.
- [144] Victor Barcons, Albert Verdaguer, Josep Font, Matteo Chiesa und Sergio Santos: “Nanoscale Capillary Interactions in Dynamic Atomic Force Microscopy”. *The Journal of Physical Chemistry C* (2012), 7757–7766.
- [145] Yakov I. Rabinovich, Madhavan S. Esayanur und Brij M. Moudgil: “Capillary forces between two spheres with a fixed volume liquid bridge: Theory and experiment”. *Langmuir* **21** (2005), 10992–10997.
- [146] Christopher D. Willett, Michael J. Adams, Simon A. Johnson und Jonathan P. K. Seville: “Capillary Bridges between Two Spherical Bodies”. *Langmuir* **16** (2000), 9396–9405.
- [147] L. Zitzler, S. Herminghaus und F. Mugele: “Capillary forces in tapping mode atomic force microscopy”. *Physical Review B* **66** (2002).

- [148] Sergio Santos, Victor Barcons, Albert Verdaguer und Matteo Chiesa: “Subharmonic excitation in amplitude modulation atomic force microscopy in the presence of adsorbed water layers”. *Journal of Applied Physics* **110** (2011), 114902.
- [149] V. V. Yaminsky: “The hydrophobic force: The constant volume capillary approximation”. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **159** (1999), 181–195.
- [150] Restagno, Bocquet und Biben: “Metastability and nucleation in capillary condensation”. *Physical Review Letters* **84** (2000), 2433–2436.
- [151] Robert Szoszkiewicz und Elisa Riedo: “Nucleation time of nanoscale water bridges”. *Physical Review Letters* **95** (2005), 135502.
- [152] Joonkyung Jang, George C. Schatz und Mark A. Ratner: “How narrow can a meniscus be?”. *Physical Review Letters* **92** (2004), 085504.
- [153] H. Hertz: *J. reine angew. Math.* **92**, 156. Reprinted in an English translation in *Hertz’s Miscellaneous Papers*, 1881.
- [154] Xinghua Shi und Ya-Pu Zhao: “Comparison of various adhesion contact theories and the influence of dimensionless load parameter”. *Journal of Adhesion Science and Technology* **18** (2004), 55–68.
- [155] K. L. Johnson, K. Kendall und A. D. Roberts: “Surface Energy and the Contact of Elastic Solids”. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* **324** (1971), 301–313.
- [156] B. V. Derjaguin, V. M. Muller und Yu P. Toporov: “Effect of contact deformations on the adhesion of particles”. *Journal of Colloid and Interface Science* **53** (1975), 314–326.
- [157] R. Garcia und A. San Paulo: “Attractive and repulsive tip-sample interaction regimes in tapping-mode atomic force microscopy”. *Physical Review B* **60** (1999), 4961–4967.
- [158] Ricardo Garcia und Rubén Pérez: “Dynamic atomic force microscopy methods”. *Surface Science Reports* **47** (2002), 197–301.
- [159] Yoichi Tatara: “Extensive Theory of Force-Approach Relations of Elastic Spheres in Compression and in Impact”. *Journal of Engineering Materials and Technology* **111** (1989), 163.
- [160] Atsushi Ikai (Hrsg.): *The world of nano-biomechanics*. Amsterdam and Boston and Heidelberg: Elsevier, Second edition Auflage, 2017.
- [161] Atsushi Ikai, Rehana Afrin und Hiroshi Sekiguchi: “Pulling and Pushing Protein Molecules by AFM”. *Current Nanoscience* **3** (2007), 17–29.
- [162] Rubén Pérez, Michael C. Payne, Ivan Štich und Kiyoyuki Terakura: “Role of Covalent Tip-Surface Interactions in Noncontact Atomic Force Microscopy on Reactive Surfaces”. *Physical Review Letters* **78** (1997), 678–681.
- [163] T. Uchihashi, Y. Sugawara, T. Tsukamoto, M. Ohta, S. Morita und M. Suzuki: “Role of a covalent bonding interaction in noncontact-mode atomic-force microscopy on Si(111)7×7”. *Physical Review B* **56** (1997), 9834–9840.

- [164] Hjalti Skulason und C. Daniel Frisbie: "Detection of Discrete Interactions upon Rupture of Au Microcontacts to Self-Assembled Monolayers Terminated with $-S(CO)CH_3$ or $-SH$ ". *Journal of the American Chemical Society* **122** (2000), 9750–9760.
- [165] John M. Williams, Taejoon Han und Thomas P. Beebe: "Determination of Single-Bond Forces from Contact Force Variances in Atomic Force Microscopy". *Langmuir* **12** (1996), 1291–1295.
- [166] Eric W. van der Vegte und Georges Hadziioannou: "Scanning Force Microscopy with Chemical Specificity: An Extensive Study of Chemically Specific Tip–Surface Interactions and the Chemical Imaging of Surface Functional Groups". *Langmuir* **13** (1997), 4357–4368.
- [167] Y. Sugimoto, P. Pou, M. Abe, P. Jelinek, R. Perez, S. Morita und O. Custance: "Chemical identification of individual surface atoms by atomic force microscopy". *Nature* **446** (2007), 64–67.
- [168] M. A. Lantz, H. J. Hug, R. Hoffmann, P. J. van Schendel, P. Kappenberger, S. Martin, A. Baratoff und H. J. Güntherodt: "Quantitative measurement of short-range chemical bonding forces". *Science* **291** (2001), 2580–2583.
- [169] T. Boland und B. D. Ratner: "Direct measurement of hydrogen bonding in DNA nucleotide bases by atomic force microscopy". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **92** (1995), 5297–5301.
- [170] V. B. Eblings und J. A. Gurley: Tapping atomic force microscope: US Grant.
- [171] S. N. Magonov, V. Elings und M.-H. Whangbo: "Phase imaging and stiffness in tapping-mode atomic force microscopy". *Surface Science* **375** (1997), L385–L391.
- [172] Bharat Bhushan: *Springer Handbook of Nanotechnology*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010.
- [173] J. P. Cleveland, B. Anczykowski, A. E. Schmid und V. B. Elings: "Energy dissipation in tapping-mode atomic force microscopy". *Applied Physics Letters* **72** (1998), 2613–2615.
- [174] Javier Tamayo und Ricardo Garcia: "Relationship between phase shift and energy dissipation in tapping-mode scanning force microscopy". *Applied Physics Letters* **73** (1998), 2926–2928.
- [175] A. San Paulo und R. Garcia: "Unifying theory of tapping-mode atomic-force microscopy". *Physical Review B* **66** (2002).
- [176] J. Tamayo und R. García: "Deformation, Contact Time, and Phase Contrast in Tapping Mode Scanning Force Microscopy". *Langmuir* **12** (1996), 4430–4435.
- [177] A. San Paulo und R. Garcia: "Tip-surface forces, amplitude, and energy dissipation in amplitude-modulation (tapping mode) force microscopy". *Physical Review B* **64** (2001), art. no.–193411.
- [178] A. San Paulo und R. Garcia: "Amplitude, deformation and phase shift in amplitude modulation atomic force microscopy: a numerical study for compliant materials". *Surface Science* **471** (2001), 71–79.

- [179] J. Chen, R. K. Workman, D. Sarid und R. Hoper: "Numerical simulations of a scanning force microscope with a large-amplitude vibrating cantilever". *Nanotechnology* **5** (1994), 199.
- [180] Asylum Research: "MFP-3D Installation and Operation Manual: Version 04_08". 2008.
- [181] A. N. Round und M. J. Miles: "Exploring the consequences of attractive and repulsive interaction regimes in tapping mode atomic force microscopy of DNA". *Nanotechnology* **15** (2004), S176–S183.
- [182] A. Knoll, R. Magerle und G. Krausch: "Tapping Mode Atomic Force Microscopy on Polymers: Where Is the True Sample Surface?". *Macromolecules* **34** (2001), 4159–4165.
- [183] R. W. Stark, G. Schitter und A. Stemmer: "Tuning the interaction forces in tapping mode atomic force microscopy". *Physical Review B* **68** (2003).
- [184] A. San Paulo und R. Garcia: "High-resolution imaging of antibodies by tapping-mode atomic force microscopy: Attractive and repulsive tip-sample interaction regimes". *Biophysical Journal* **78** (2000), 1599–1605.
- [185] N. H. Thomson: "Imaging the substructure of antibodies with tapping-mode AFM in air: the importance of a water layer on mica". *Journal of Microscopy-Oxford* **217** (2005), 193–199.
- [186] S. J. Fang, S. Haplepete, W. Chen, C. R. Helms und Hal Edwards: "Analyzing atomic force microscopy images using spectral methods". *Journal of Applied Physics* **82** (1997), 5891–5898.
- [187] Y. Gan: "Atomic and subnanometer resolution in ambient conditions by atomic force microscopy". *Surface Science Reports* **64** (2009), 99–121.
- [188] Carlos Bustamante, Claudio Rivetti und David J. Keller: "Scanning force microscopy under aqueous solutions". *Current Opinion in Structural Biology* **7** (1997), 709–716.
- [189] S. Stöttinger: *Simultane Rasterkraft- und konfokale Fluoreszenzmikroskopie von einzelnen Nanoteilchen*. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz, 2017.
- [190] Carlos Bustamante und David Keller: "Scanning Force Microscopy in Biology". *Physics Today* **48** (1995), 32–38.
- [191] K. Kato, G. Bar und H.-J. Cantow: "The interplay between surface micro-topography and -mechanics of type I collagen fibrils in air and aqueous media: An atomic force microscopy study". *The European Physical Journal E* **6** (2001), 7–14.
- [192] H-J Butt und M. Jaschke: "Calculation of thermal noise in atomic force microscopy". *Nanotechnology* **6** (1995), 1–7.
- [193] F. Moreno-Herrero, J. Colchero und A. M. Baró: "DNA height in scanning force microscopy". *Ultramicroscopy* **96** (2003), 167–174.
- [194] G. Bar, Y. Thomann, R. Brandsch, H.-J. Cantow und M.-H. Whangbo: "Factors Affecting the Height and Phase Images in Tapping Mode Atomic Force Microscopy. Study of Phase-Separated Polymer Blends of Poly(ethene- co -styrene) and Poly(2,6-dimethyl-1,4-phenylene oxide)". *Langmuir* **13** (1997), 3807–3812.

- [195] Chih-Wen Yang, Ing-Shouh Hwang, Yen Fu Chen, Chia Seng Chang und Din Ping Tsai: "Imaging of soft matter with tapping-mode atomic force microscopy and non-contact-mode atomic force microscopy". *Nanotechnology* **18** (2007), 084009.
- [196] A. L. Weisenhorn, M. Khorsandi, S. Kasas, V. Gotzos und H-J Butt: "Deformation and height anomaly of soft surfaces studied with an AFM". *Nanotechnology* **4** (1993), 106–113.
- [197] S. Santos, M. Stefancich, H. Hernandez, M. Chiesa und N. H. Thomson: "Hydrophilicity of a Single DNA Molecule". *Journal of Physical Chemistry C* **116** (2012), 2807–2818.
- [198] E. Palacios-Lidón, C. Munuera, C. Ocal und J. Colchero: "Contrast inversion in non-contact Dynamic Scanning Force Microscopy: what is high and what is low?". *Ultramicroscopy* **110** (2010), 789–800.
- [199] Joseph R. Lakowicz: *Principles of fluorescence spectroscopy*. New York, NY: Springer, Third edition, corrected at 4. printing Auflage, 2010.
- [200] Ph Tamarat, A. Maali, B. Lounis und M. Orrit: "Ten Years of Single-Molecule Spectroscopy". *The Journal of Physical Chemistry A* **104** (1999), 1–16.
- [201] Robert H. Webb: "Confocal optical microscopy". *Reports on Progress in Physics* **59** (1996), 427–471.
- [202] Lukáš Novotný und Bert Hecht: *Principles of nano-optics*. Cambridge: Cambridge Univ. Press, First paperback edition Auflage, 2011.
- [203] Tony Wilson (Hrsg.): *Confocal microscopy*. London: Acad. Press, 1990.
- [204] Timothy R. Corle und Gordon S. Kino: *Confocal scanning optical microscopy and related imaging systems*. San Diego: Acad. Press, 1996.
- [205] Max Born, Emil Wolf und Avadh Behari Bhatia: *Principles of optics: Electromagnetic theory of propagation, interference and diffraction of light*. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 7th ed., 11th reprinting Auflage, 2016.
- [206] Guy Cox und Colin J. R. Sheppard: "Practical limits of resolution in confocal and non-linear microscopy". *Microscopy research and technique* **63** (2004), 18–22.
- [207] Colin J. R. Sheppard und David M. Shotton: *Confocal laser scanning microscopy*, Band 38 der Reihe *Microscopy handbooks*. Oxford: BIOS Scientif. Publ, 1997.
- [208] W. E. Moerner, M. Orrit, U. P. Wild, Basché und Thomas: *Single-Molecule Optical Detection, Imaging and Spectroscopy*. Hoboken: Wiley-VCH, 2008.
- [209] M. Haase: *Einzelmolekülspektroskopie an einer homologen Reihe von Rylendiimiden und an einem bichromophoren Modellsystem für elektronischen Energietransfer*. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz, 2010.
- [210] S. Mais, J. Tittel, Th. Basché, C. Bräuchle, W. Göhde, H. Fuchs, G. Müller und K. Müllen: "Terrylenediimide: A Novel Fluorophore for Single-Molecule Spectroscopy and Microscopy from 1.4 K to Room Temperature". *Journal of Physical Chemistry A* **101** (1997), 8435–8440.

- [211] Peter Deuffhard und Folkmar Bornemann: *Numerische Mathematik 2: Gewöhnliche Differentialgleichungen*. De Gruyter Studium, Berlin: de Gruyter, 4. Aufl. [durchges. und erg.] Auflage, 2013.
- [212] Autar Kaw: *Numerical Methods with Applications: Abridged*. 2010.
- [213] Gilberto E. Urroz: The 4th -order Runge-Kutta method for a 2nd order ODE: <https://en.smath.com/wiki/GetFile.aspx?File=Examples/RK4-2ndOrderODE.pdf>, 2010.
- [214] <http://www.asylumresearch.com/Products/Mfp3DSA/Mfp3DSAProduct.shtml>.
- [215] MFP 3D - User Guide: Version 13, Revision A1715, 2013.
- [216] S. Stöttinger: *Simultane Rasterkraft- und konfokale Fluoreszenzmikroskopie von einzelnen Nanoteilchen*. Diplomarbeit, Mainz, Johannes-Gutenberg-Universität, 01.01.2009.
- [217] Olympus: Internetseite von Olympus, Produktspezifikationen AC240TS Cantilever: http://probe.olympus-global.com/en/product/omcl_ac240ts_r3/, 2017.
- [218] Nanosensors: Nanosensors Internetseite, Produktinformationen SSS-FMR Cantilever: <http://www.nanosensors.com/SuperSharpSilicon-Force-Modulation-Mode-Reflex-Coating-afm-tip-SSS-FMR>, 2017.
- [219] Accurion: Halcyonics i4 specifications sheet: <https://www.accurion.com/active-vibration-isolation/products/14series/accurion-halcyonics-i4-active-vibration-isolation.pdf>, 2017.
- [220] A. Gaiduk: *Steps towards simultaneous atomic-force and fluorescence spectroscopy of single DNA*. Dissertation, Heinrich-Heine-University, Düsseldorf, 2006.
- [221] A. Gaiduk, R. Kuhnemuth, M. Antonik und C. A. M. Seidel: "Optical characteristics of atomic force microscopy tips for single-molecule fluorescence applications". *ChemPhysChem* **6** (2005), 976–983.
- [222] Taekjip Ha und Philip Tinnefeld: "Photophysics of fluorescent probes for single-molecule biophysics and super-resolution imaging". *Annual review of physical chemistry* **63** (2012), 595–617.
- [223] Marcia Levitus und Suman Ranjit: "Cyanine dyes in biophysical research: the photophysics of polymethine fluorescent dyes in biomolecular environments". *Quarterly reviews of biophysics* **44** (2011), 123–151.
- [224] Qinsi Zheng, Steffen Jockusch, Zhou Zhou und Scott C. Blanchard: "The contribution of reactive oxygen species to the photobleaching of organic fluorophores". *Photochemistry and photobiology* **90** (2014), 448–454.
- [225] Heinz Langhals, Oswald Krotz, Kurt Polborn und Peter Mayer: "A novel fluorescent dye with strong, anisotropic solid-state fluorescence, small stokes shift, and high photostability". *Angewandte Chemie-International Edition* **44** (2005), 2427–2428.
- [226] Anca Margineanu, Johan Hofkens, Mircea Cotlet, Satoshi Habuchi, Alina Stefan, Jianqiang Qu, Christopher Kohl, Klaus Müllen, Jo Vercammen, Yves Engelborghs, Thomas Gensch und Frans C. de Schryver: "Photophysics of a Water–Soluble Rylene Dye: Comparison with Other Fluorescent Molecules for Biological Applications". *Journal of Physical Chemistry B* **108** (2004), 12242–12251.

- [227] Christopher Kohl, Tanja Weil, Jianqiang Qu und Klaus Müllen: "Towards highly fluorescent and water-soluble perylene dyes". *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* **10** (2004), 5297–5310.
- [228] Robert M. Christie: "Pigments, dyes and fluorescent brightening agents for plastics: An overview". *Polymer International* **34** (1994), 351–361.
- [229] Andreas Rademacher, Suse Märkle und Heinz Langhals: "Lösliche Perylen-Fluoreszenzfarbstoffe mit hoher Photostabilität". *Chemische Berichte* **115** (1982), 2927–2934.
- [230] T. Schultz, S. Ullrich, J. Quenneville, T. J. Martinez, M. Z. Zgierski und A. Stolow: "Azobenzene photoisomerization: Two states and two relaxation pathways explain the violation of Kasha's rule". In: *Femtochemistry and Femtobiology*. Elsevier, 2004, S. 45–48.
- [231] G. S. Hartley: "The Cis-form of Azobenzene". *Nature* **140** (1937), 281.
- [232] G. Sudesh Kumar und D. C. Neckers: "Photochemistry of azobenzene-containing polymers". *Chemical Reviews* **89** (1989), 1915–1925.
- [233] Almeria Natansohn und Paul Rochon: "Photoinduced Motions in Azo-Containing Polymers". *Chemical Reviews* **102** (2002), 4139–4176.
- [234] Ben L. Feringa, Richard A. van Delden, Nagatoshi Koumura und Edzard M. Geertsema: "Chiroptical Molecular Switches". *Chemical Reviews* **100** (2000), 1789–1816.
- [235] T. Hugel, N. B. Holland, A. Cattani, L. Moroder, M. Seitz und H. E. Gaub: "Single-molecule optomechanical cycle". *Science* **296** (2002), 1103–1106.
- [236] Kevin G. Yager und Christopher J. Barrett: "Chapter 17. Azobenzene Polymers as Photomechanical and Multifunctional Smart Materials". In: Mohsen Shahinpoor und Hans-Jörg Schneider (Hrsg.): *Intelligent materials*. Cambridge: RSC Publ, 2008, S. 424–446.
- [237] L. X. Liao, F. Stellacci und D. V. McGrath: "Photoswitchable flexible and shape-persistent dendrimers: Comparison of the interplay between a photochromic azobenzene core and dendrimer structure". *Journal of the American Chemical Society* **126** (2004), 2181–2185.
- [238] Dörthe Grebel-Koehler, Daojun Liu, Steven de Feyter, Volker Enkelmann, Tanja Weil, Christiaan Engels, Celeste Samyn, Klaus Müllen und Frans C. de Schryver: "Synthesis and Photomodulation of Rigid Polyphenylene Dendrimers with an Azobenzene Core". *Macromolecules* **36** (2003), 578–590.
- [239] Peter Osswald und Frank Würthner: "Effects of bay substituents on the racemization barriers of perylene bisimides: resolution of atropo-enantiomers". *Journal of the American Chemical Society* **129** (2007), 14319–14326.
- [240] J. Hofkens, T. Vosch, M. Maus, F. Köhn, M. Cotlet, T. Weil, A. Herrmann, K. Müllen und F.C de Schryver: "Conformational rearrangements in and twisting of a single molecule". *Chemical Physics Letters* **333** (2001), 255–263.
- [241] R. H. Friend, R. W. Gymer, A. B. Holmes, J. H. Burroughes, R. N. Marks, C. Taliani, D. D. C. Bradley, D. A. Dos Santos, J. L. Brédas, M. Lögdlund und W. R. Salaneck: "Electroluminescence in conjugated polymers". *Nature* **397** (1999), 121–128.

- [242] Andrew C. Grimsdale, Khai Leok Chan, Rainer E. Martin, Pawel G. Jokisz und Andrew B. Holmes: "Synthesis of light-emitting conjugated polymers for applications in electroluminescent devices". *Chemical reviews* **109** (2009), 897–1091.
- [243] Hugo K. Christenson und Neil H. Thomson: "The nature of the air-cleaved mica surface". *Surface Science Reports* **71** (2016), 367–390.
- [244] F. Ostendorf, C. Schmitz, S. Hirth, A. Kuhnle, J. J. Kolodziej und M. Reichling: "How flat is an air-cleaved mica surface?". *Nanotechnology* **19** (2008), 305705.
- [245] Peter Eaton und Paul West (Hrsg.): *Atomic Force Microscopy*. Oxford University Press, 2010.
- [246] E. Riedel: *Anorganische Chemie*. Berlin: de Gruyter, 2004.
- [247] Asylum MFP-3D Bio AFM Procedures and Manuals: Troubleshooting and Maintenance Chapter.
- [248] Eduard Fron, Gerd Schweitzer, Peter Osswald, Frank Würthner, Philippe Marsal, David Beljonne, Klaus Müllen, Frans C. de Schryver und Mark van der Auweraer: "Photophysical study of bay substituted perylenediimides". *Photochemical & Photobiological Sciences* **7** (2008), 1509.
- [249] Clotilde Lethiec, Julien Laverdant, Henri Vallon, Clémentine Javaux, Benoît Dubertret, Jean-Marc Frigerio, Catherine Schwob, Laurent Coolen und Agnès Maître: "Measurement of Three-Dimensional Dipole Orientation of a Single Fluorescent Nanoemitter by Emission Polarization Analysis". *Physical Review X* **4** (2014).
- [250] T. Ha, J. Glass, T. Enderle, D. S. Chemla und S. Weiss: "Hindered rotational diffusion and rotational jumps of single molecules". *Physical Review Letters* **80** (1998), 2093–2096.
- [251] S. Weiss: "Fluorescence Spectroscopy of Single Biomolecules". *Science* **283** (1999), 1676–1683.
- [252] Marius Bauer, Chen Li, Klaus Müllen, Thomas Basché und Gerald Hinze: "State transition identification in multivariate time series (STIMTS) applied to rotational jump trajectories from single molecules". *The Journal of Chemical Physics* **149** (2018), 164104.
- [253] Erwen Mei, Jianyong Tang, Jane M. Vanderkooi und Robin M. Hochstrasser: "Motions of single molecules and proteins in trehalose glass". *Journal of the American Chemical Society* **125** (2003), 2730–2735.
- [254] G. S. Harms, M. Sonnleitner, G. J. Schütz, H. J. Gruber und Th. Schmidt: "Single-Molecule Anisotropy Imaging". *Biophysical Journal* **77** (1999), 2864–2870.
- [255] T. Ha, T. A. Laurence, D. S. Chemla und S. Weiss: "Polarization spectroscopy of single fluorescent molecules". *Journal of Physical Chemistry B* **103** (1999), 6839–6850.
- [256] Bo Shuang, David Cooper, J. Nick Taylor, Lydia Kisley, Jixin Chen, Wenxiao Wang, Chun Biu Li, Tamiki Komatsuzaki und Christy F. Landes: "Fast Step Transition and State Identification (STaSI) for Discrete Single-Molecule Data Analysis". *The Journal of Physical Chemistry Letters* **5** (2014), 3157–3161.

- [257] H. Satzger, C. Root und M. Braun: "Excited-State Dynamics of trans - and cis - Azobenzene after UV Excitation in the $\pi\pi^*$ Band". *Journal of Physical Chemistry A* **108** (2004), 6265–6271.
- [258] Ulrich Krengel: "Der Poisson-Prozess". In: Ulrich Krengel (Hrsg.): *Einführung in die Wahrscheinlichkeitstheorie und Statistik*. vieweg studium Aufbaukurs Mathematik, Wiesbaden and s.l.: Vieweg+Teubner Verlag, 2000, S. 227–233.
- [259] William S. Cleveland: "Robust Locally Weighted Regression and Smoothing Scatterplots". *Journal of the American Statistical Association* **74** (1979), 829.
- [260] Marye Anne Fox und James K. Whitesell: *Organische Chemie: Grundlagen, Mechanismen, bioorganische Anwendungen*. Spektrum-Lehrbuch, Heidelberg and Berlin and Oxford: Spektrum Akad. Verl., 1995.
- [261] J. A. Nelder und R. Mead: "A Simplex Method for Function Minimization". *The Computer Journal* **7** (1965), 308–313.
- [262] Tobias Hertel, Robert E. Walkup und Phaedon Avouris: "Deformation of carbon nanotubes by surface van der Waals forces". *Physical Review B* **58** (1998), 13870–13873.
- [263] M. de Crescenzi, P. Castrucci, M. Scarselli, M. Diociaiuti, Prajakta S. Chaudhari, C. Balasubramanian, Tejashree M. Bhave und S. V. Bhoraskar: "Experimental imaging of silicon nanotubes". *Applied Physics Letters* **86** (2005), 231901.
- [264] D. Beaglehole und H. K. Christenson: "Vapor adsorption on mica and silicon: entropy effects, layering, and surface forces". *Journal of Physical Chemistry* **96** (1992), 3395–3403.
- [265] S. Santos: *Dynamic Atomic Force Microscopy and applications in biomolecular imaging*. Dissertation, The University of Leeds, Leeds, 2011.
- [266] Sergio Santos, Albert Verdaguer, Tewfic Souier, Neil H. Thomson und Matteo Chiesa: "Measuring the true height of water films on surfaces". *Nanotechnology* **22** (2011), 465705.
- [267] G. Zhang, Z. Wei und R. Ferrell: "Elastic modulus and hardness of muscovite and rectorite determined by nanoindentation". *Applied Clay Science* **43** (2009), 271–281.
- [268] Gary Mavko, Jack Dvorkin und Tapan Mukerji: *The rock physics handbook: Tools for seismic analysis of porous media*. Cambridge: Cambridge University Press, Second edition Auflage, 2009.
- [269] N. R. Pallas und Y. Harrison: "An automated drop shape apparatus and the surface tension of pure water". *Colloids and Surfaces* **43** (1990), 169–194.
- [270] Johannes Brandrup (Hrsg.): *Polymer handbook*. A Wiley-Interscience publication, New York, NY: Wiley, 4. ed. Auflage, 1999.
- [271] James E. Mark (Hrsg.): *Polymer data handbook*. New York, NY: Oxford University Press, 1999.
- [272] Dan Guo, Jingnan Li, Guoxin Xie, Yuanyuan Wang und Jianbin Luo: "Elastic properties of polystyrene nanospheres evaluated with atomic force microscopy: size effect and error analysis". *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids* **30** (2014), 7206–7212.

- [273] Beth M. Anderhub und William D. O'Brien: "Excerpt from Ultrasonic Physics and Instrumentation for Sonographers". *Journal of Diagnostic Medical Sonography* **3** (1987), 281–284.
- [274] A. P. Roberts und E. J. Garboczi: "Elastic properties of model random three-dimensional open-cell solids". *Journal of the Mechanics and Physics of Solids* **50** (2002), 33–55.
- [275] Eckhard Worch: *Hydrochemistry: Basic concepts and exercises*. De Gruyter Graduate, Berlin: de Gruyter, [Elektronische Ressource] Auflage, 2015.
- [276] Gong-du Zhou: *Fundamentals of structural chemistry*. Singapore: World Scientific, 1993.
- [277] Chang-Qin Wu, Jian-Xin Li und Dung-Hai Lee: *Photoisomerization in a Dissipative Environment*, 2006.
- [278] N. B. Holland, T. Hugel, G. Neuert, A. Cattani-Scholz, C. Renner, D. Oesterhelt, L. Moroder, M. Seitz und H. E. Gaub: "Single molecule force spectroscopy of azobenzene polymers: Switching elasticity of single photochromic macromolecules". *Macromolecules* **36** (2003), 2015–2023.
- [279] J. F. Padday und N. d. Uffindell: "The calculation of cohesive and adhesive energies from intermolecular forces at a surface". *Journal of Physical Chemistry* **72** (1968), 1407–1414.
- [280] Hua Zhang, P. C. M. Grim, P. Foubert, T. Vosch, P. Vanoppen, U.-M. Wiesler, A. J. Berresheim, K. Müllen und F. C. de Schryver: "Properties of Single Dendrimer Molecules Studied by Atomic Force Microscopy †". *Langmuir* **16** (2000), 9009–9014.
- [281] J. Laherrère und Sornette: "Stretched exponential distributions in nature and economy: "fat tails" with characteristic scales". *The European Physical Journal B* **2** (1998), 525–539.
- [282] K. C. B. Lee, J. Siegel, S. E. D. Webb, S. Leveque-Fort, M. J. Cole, R. Jones, K. Dowling, M. J. Lever und P. M. W. French: "Application of the stretched exponential function to fluorescence lifetime imaging". *Biophysical Journal* **81** (2001), 1265–1274.
- [283] J. C. Phillips: "Stretched exponential relaxation in molecular and electronic glasses". *Reports on Progress in Physics* **59** (1996), 1133–1207.
- [284] D. C. Johnston: "Stretched exponential relaxation arising from a continuous sum of exponential decays". *Physical Review B* **74** (2006), 529.
- [285] Mário N. Berberan-Santos: "A luminescence decay function encompassing the stretched exponential and the compressed hyperbola". *Chemical Physics Letters* **460** (2008), 146–150.
- [286] David A. Vanden Bout, Wai-Tak Yip, Dehong Hu, Dian-Kui Fu, Timothy M. Swager und Paul F. Barbara: "Discrete Intensity Jumps and Intramolecular Electronic Energy Transfer in the Spectroscopy of Single Conjugated Polymer Molecules". *Science* **277** (1997), 1074–1077.
- [287] Dehong Hu, Ji Yu, Kim Wong, Biman Bagchi, Peter J. Rossky und Paul F. Barbara: "Collapse of stiff conjugated polymers with chemical defects into ordered, cylindrical conformations". *Nature* **405** (2000), 1030–1033.

- [288] T. Huser, M. Yan und L. J. Rothberg: "Single chain spectroscopy of conformational dependence of conjugated polymer photophysics". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **97** (2000), 11187–11191.
- [289] Yohei Ebihara und Martin Vacha: "Relating conformation and photophysics in single MEH-PPV chains". *The Journal of Physical Chemistry B* **112** (2008), 12575–12578.
- [290] L. J. Rothberg, M. Yan, F. Papadimitrakopoulos, M. E. Galvin, E. W. Kwock und T. M. Miller: "Photophysics of phenylenevinylene polymers". *Synthetic Metals* **80** (1996), 41–58.
- [291] Christopher W. Hollars, Stephen M. Lane und Thomas Huser: "Controlled non-classical photon emission from single conjugated polymer molecules". *Chemical Physics Letters* **370** (2003), 393–398.
- [292] Hiroyuki Kobayashi, Suguru Onda, Shu Furumaki, Satoshi Habuchi und Martin Vacha: "A single-molecule approach to conformation and photophysics of conjugated polymers". *Chemical Physics Letters* **528** (2012), 1–6.
- [293] Thuc-Quyen Nguyen, Vinh Doan und Benjamin J. Schwartz: "Conjugated polymer aggregates in solution: Control of interchain interactions". *Journal of Chemical Physics* **110** (1999), 4068–4078.

A | Anhang

A.1 Länge der Zeitspuren bis zum Bleichen oder bis zu Messende bei den Messungen des Dendrimers auf Glas

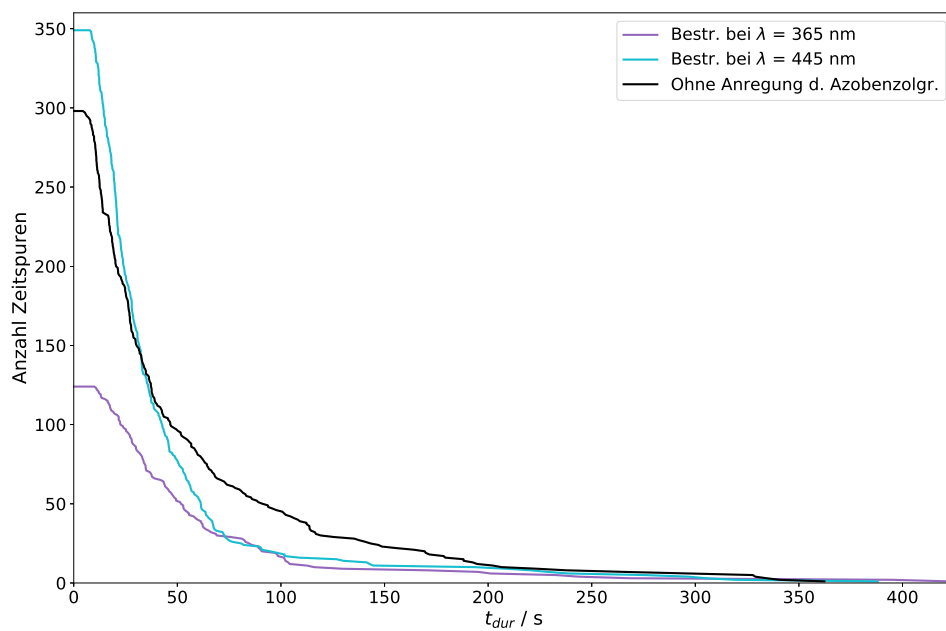


Abbildung A.1: Auftragung der Anzahl der Intensitätszeitspuren ($P_{an} \approx 2500 \text{ W/cm}^2$, $\Delta t_I = 100 \text{ ms}$, $\lambda_{an} = 568 \text{ nm}$) gegen ihre Laufzeit. Mit zunehmender Dauer bleichen immer mehr Moleküle, oder die Messung wurde vorzeitig beendet. Die Anzahl der gefundenen Stufen in einem gewissen Zeitintervall muss zu den zu diesem Zeitpunkt noch aktiven Zeitspuren in Kontext gesetzt werden.

A.2 Variation der detektierten Molekülparameter im repulsiven Modus

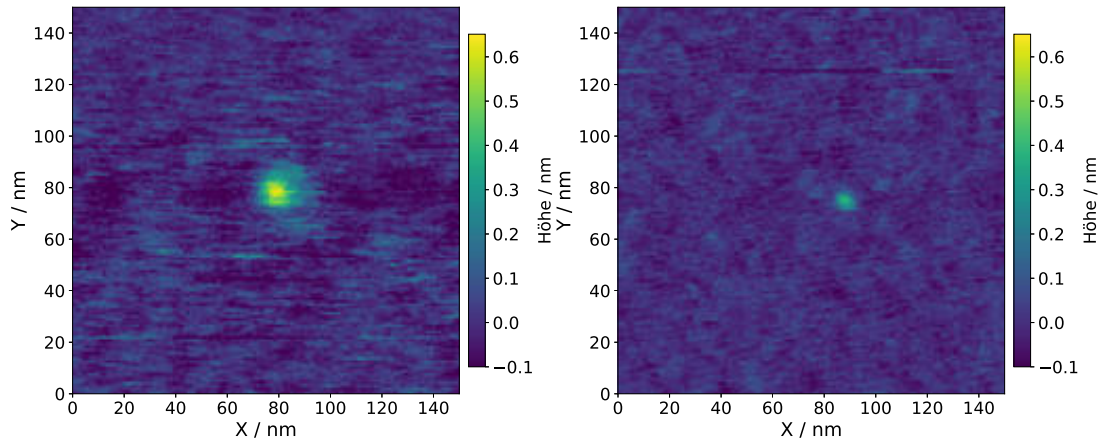


Abbildung A.2: Beispiele für als Dendrimere identifizierte Erhebungen im repulsiven Modus: Hohe Variationsbreite der Größenparameter und herabgesetzte Zuverlässigkeit bei der Zuordnung.

A.3 Phasenbild der Nanokristalle: Vergleich von attraktivem und repulsivem Modus

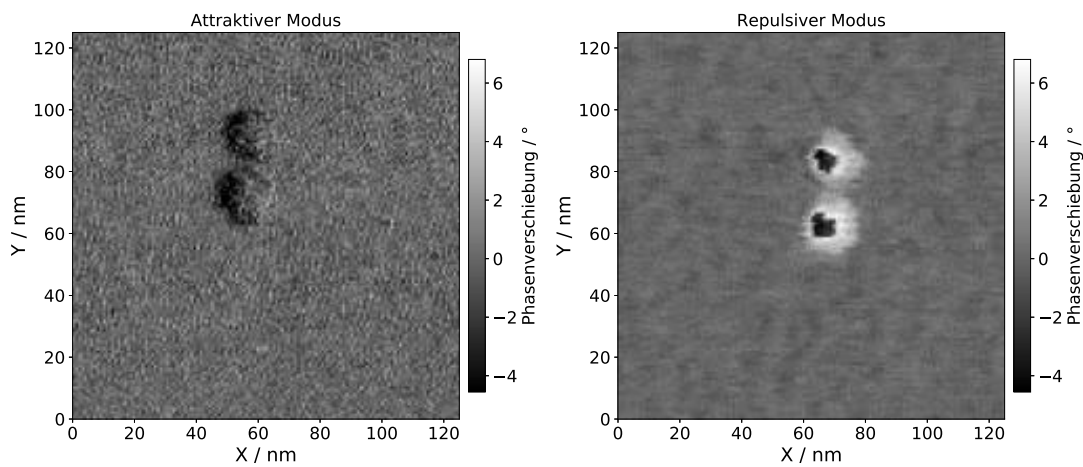


Abbildung A.3: Phasenbild von einzelnen CdSe-Nanokristallen: Vergleich von attraktivem und repulsivem Modus.

A.4 Weitere Beispiele für die Ermittlung von Durchschnittstopografiebildern

A.4.1 Vor der Bestrahlung mit UV-Licht.

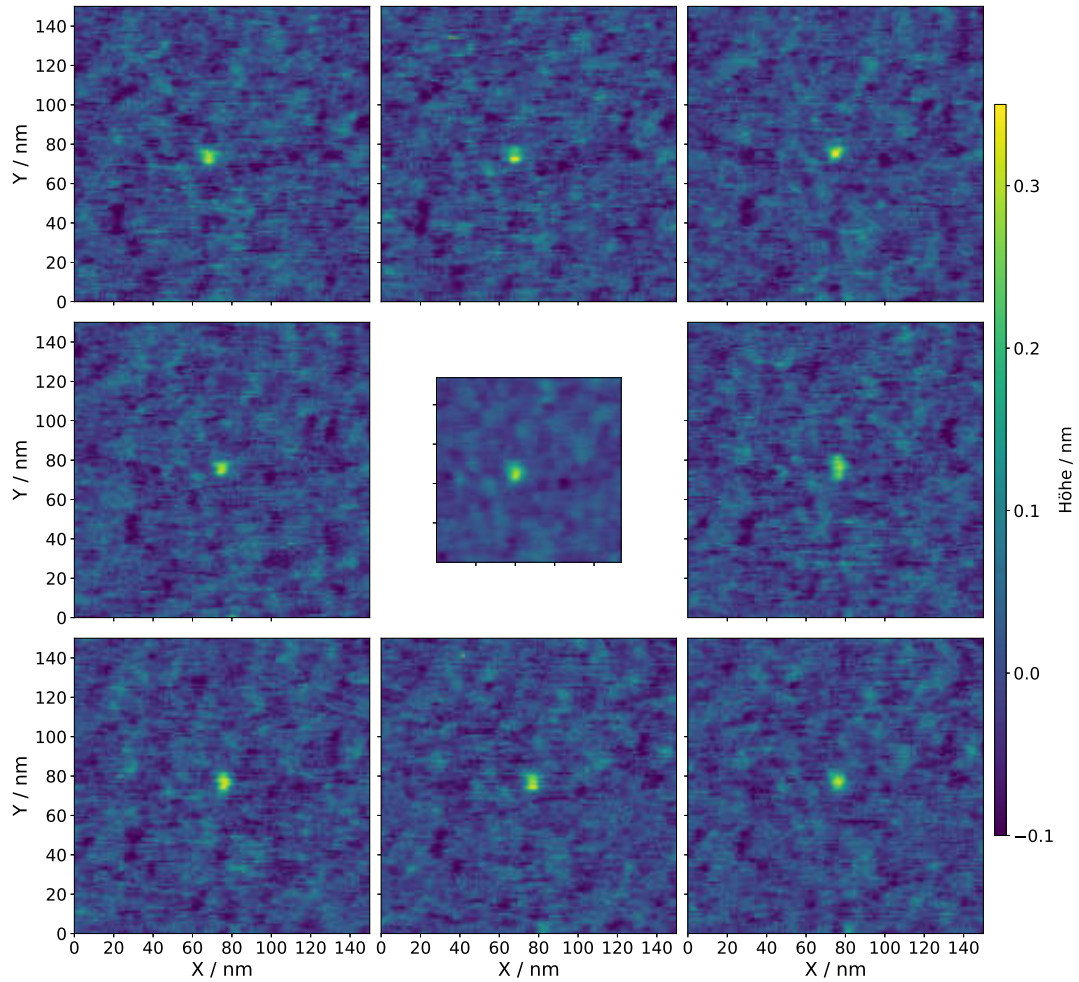


Abbildung A.4: Ermittlung eines Durchschnittstopografiebilds aus acht Einzelbildern für das selbe Molekül wie in Abbildung 5.10 vor der Bestrahlung mit ultraviolettem Licht.

A.4.2 Nach der Bestrahlung mit blauem Licht

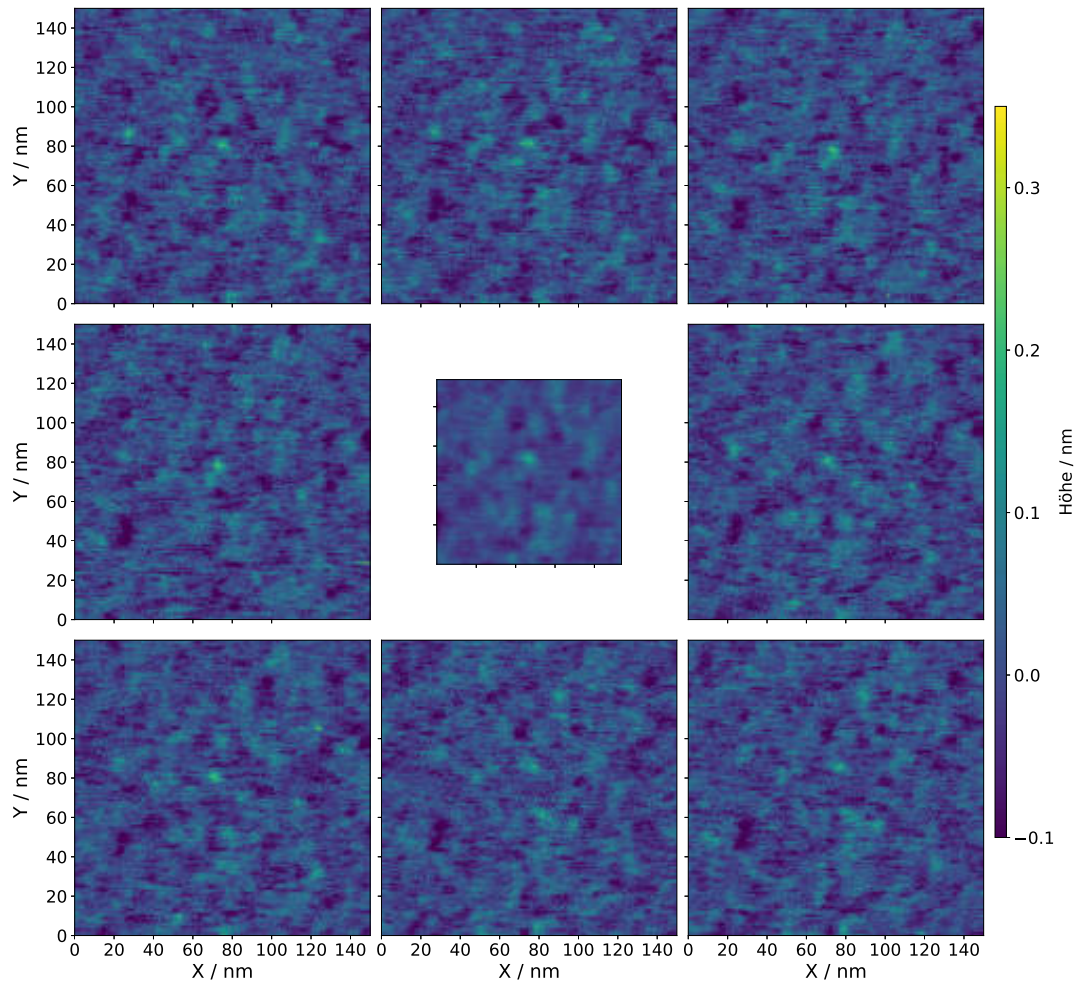


Abbildung A.5: Ermittlung eines Durchschnittstopografiebilds aus acht Einzelbildern für das selbe Molekül wie in Abbildung 5.10 nach der Bestrahlung mit blauem Licht.

A.5 Simulation Aspektverhältnis der lateralen Radien

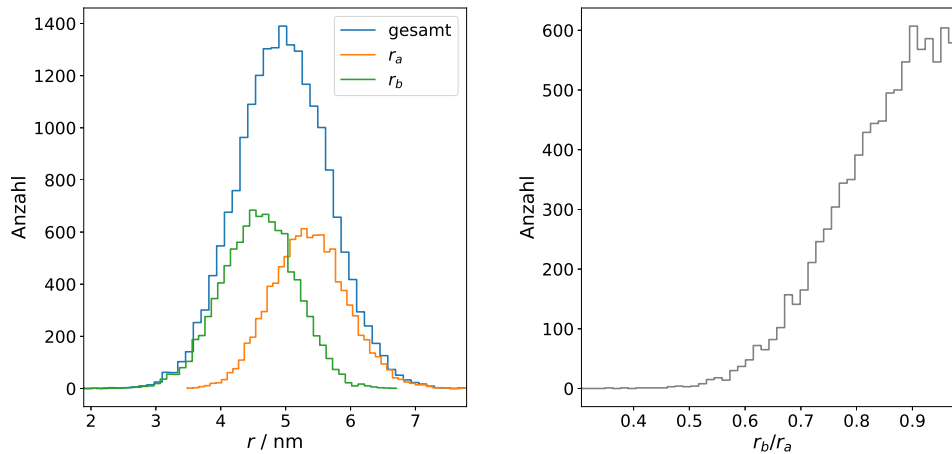


Abbildung A.6: Links: Verteilungen von 10000 zufällig gezogenen Wertepaaren aus einer Normalverteilung ($\mu = 5,02$ und $\sigma = 0,7$): alle gezogenen Werte (blau), nur die kleineren jedes Wertepaares (grün) und nur die größeren (orange). Rechts: Verteilung der Aspektverhältnisse der gezogenen Wertepaare.

Um abzuschätzen, ob das beobachtete Aspektverhältnis der lateralen Radien nur durch die statistischen Schwankungen der Messwerte entsteht, wurde eine Simulation durchgeführt. Der Mittelwert aller lateralen Radien vor den Bestrahlungen beträgt $5,02\text{nm}$ mit einer Standardabweichung von $0,7\text{nm}$. Es wurden 10000 Wertepaare aus einer Normalverteilung mit diesem Mittelwert und dieser Standardabweichung gezogen und die Verteilung der jeweils kleineren und der jeweils größeren Werte jedes Wertepaares gebildet. Mittelwerte und Standardabweichungen der auf diese Weise erhaltenen Verteilungen für die kleineren bzw. größeren simulierten Radien stimmen in grober Näherung mit den Beobachtungen bei den Experimenten überein. Jedoch weicht die Verteilung der Aspektverhältnisse der simulierten Radien deutlich von den Beobachtungen bei der Messung ab. Aspektverhältnisse nahe 1 sind hier am wahrscheinlichsten und es gibt eine kontinuierliche Abnahme der Wahrscheinlichkeit für kleinere Aspektverhältnisse (siehe Abbildung A.6). Bei den Messungen jedoch waren Aspektverhältnisse nahe 1 selten, wobei in keinem Fall ein Verhältnis $> 0,95$ beobachtet wurde. Die Wahrscheinlichkeit eine solche Stichprobe (alle Werte $\leq 0,95$) aus der simulierten Verteilung zu ziehen beträgt ca. $0,5\%$.

A.6 Abschätzung der Substituentenlänge des Dendrimers durch geometrische Überlegungen

Wie in Abbildung 3.7 erkennbar, kann zwischen dem in *bay*-Position substituierten Sauerstoff bis zum peripheren Wasserstoff einer Phenyl-Endruppe des Substituenten eine ungefähr gerade Strecke gebildet werden, auf welcher sich 9 Phenyl-Ringe, 7 C-C-Bindungen, 2 C-N-Bindungen und jeweils eine C-O- und eine C-H-Bindung befinden. Dazwischen befinden sich außerdem noch eine N-N-Dreifachbindung, deren Achse jedoch nicht parallel zu dieser Strecke ist. Zur Berechnung der Länge des Substituenten werden 280 pm pro Phenylring, 150 pm pro C-C-, C-O- oder C-N-Bindung und 110 pm für die C-N-Bindung veranschlagt [260]. Der Beitrag der N-N-Dreifachbindung entlang der gebildeten Strecke wird als vernachlässigbar angesehen. Damit wird eine maximale Substituentenlänge von $\approx 4,13$ nm erhalten, sofern die Azobenzolgruppe in *trans*-Konfiguration ist, welcher als Radius des als Halbkugel genäherten *8t*-Isomers verwendet wird. Für die *cis*-Konfiguration wird die Länge des Substituenten nur bis zur N-N-Dreifachbindung der Azobenzol-Gruppe berücksichtigt, wodurch eine Länge von $\approx 1,87$ nm erhalten wird. Die mittlere Substituentenlänge des *5c3t*-Isomers ist in dieser Abschätzung damit $\approx 2,72$ nm.

A.7 Bestimmung der thermischen Drift zwischen zwei Aufnahmen ohne Berücksichtigung der Molekültopografie

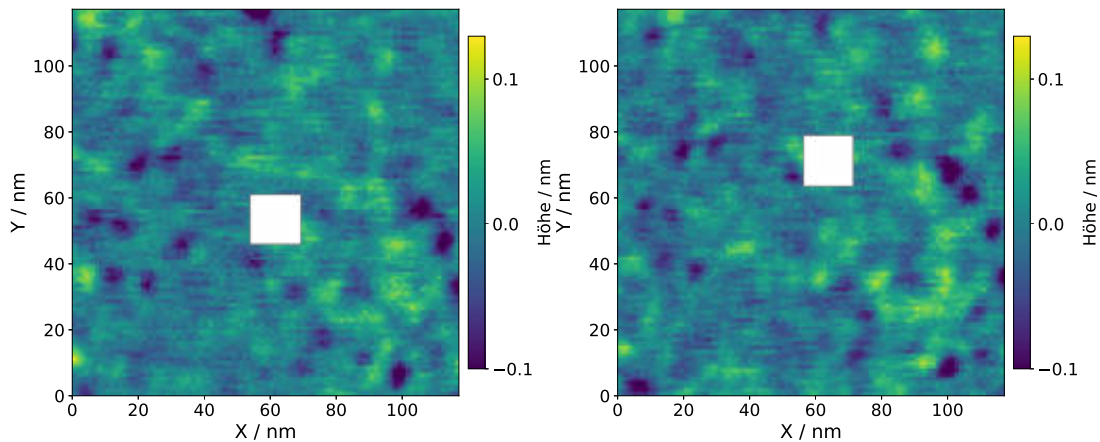


Abbildung A.7: Bilder des Untergrundes zur Erstellung einer Korrelationsmatrix zur Bestimmung der relativen Positionsbestimmung zwischen den beiden Aufnahmen aus Abbildung 5.18. An der Position des Moleküls ist eine rechteckige Auswahl an Datenpunkten maskiert und wird nicht zur Bestimmung der Korrelationsmatrix herangezogen.

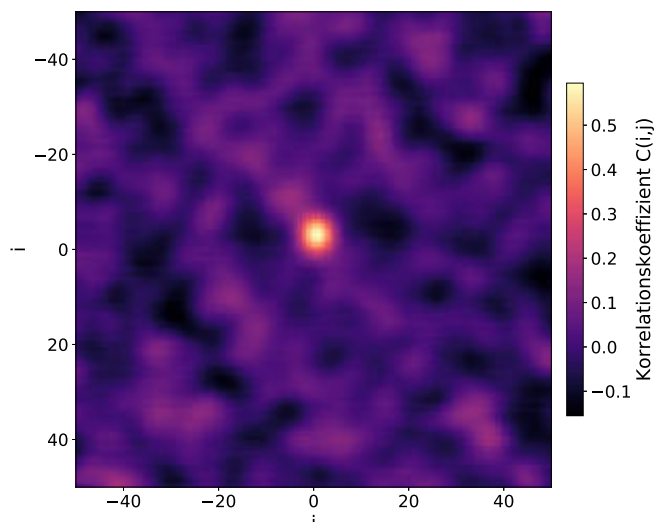


Abbildung A.8: Korrelationsmatrix der Untergrundbilder aus Abbildung A.7. Das Maximum der Korrelation markiert die relative Verschiebung in der xy -Ebene.

A.8 Veränderung der Winkel zwischen x, y -Achsensystem und den Achsen der Ellipsoiden

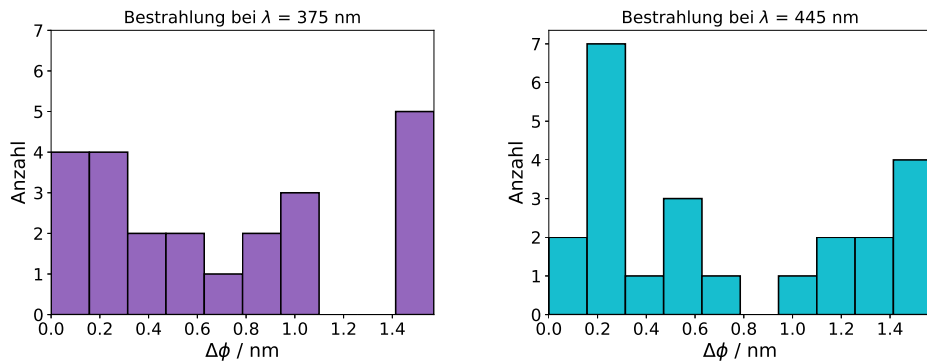


Abbildung A.9: Verteilungen der Winkeländerung bei den Molekülbewegungen durch die Bestrahlung bei 375nm (links) bzw. 445nm (rechts).

A.9 Herleitung der Ausdrücke für den zusätzlichen Energiebetrag bei der Rückreaktion der Photoisomerisierung außerhalb eines Lösemittels

Allgemeiner Zusammenhang aus Kapitel 5.3.2:

$$dW = \frac{H_{PS} \cdot N_M^{(8/3)}}{24\pi q_{PS}^2} \cdot \frac{1}{V^{(8/3)}} \cdot dA = C \cdot \frac{1}{V^{(8/3)}} \cdot dA \quad (5.28)$$

A.9.1 Kugel

Volumen:

$$V = \frac{4}{3}\pi R_M^3 \quad (A.1)$$

Fläche:

$$A = 4\pi R_M^2 \quad (A.2)$$

$$\Rightarrow dA = 8\pi R_M dR_M \quad (A.3)$$

Einsetzen in 5.28:

A.9 Herleitung der Ausdrücke für den zusätzlichen Energiebetrag bei der Rückreaktion der Photoisomerisierung außerhalb eines Lösemittels

$$dW = C \cdot \frac{1}{\left(\frac{4}{3}\pi\right)^{(8/3)} \cdot R_M^8} \cdot 8\pi R_M dR_M \quad (\text{A.4})$$

$$dW = C \cdot \left(\frac{4}{3}\pi\right)^{(-8/3)} \cdot R_M^{-7} \cdot 8\pi dR_M \quad (\text{A.5})$$

$$\int_{R_{M,1}}^{R_{M,2}} dW = \left[-\frac{8}{6}\pi \cdot C \cdot \left(\frac{4}{3}\pi\right)^{(-8/3)} \cdot R_M^{-6} \right]_{R_{M,1}}^{R_{M,2}} \quad (\text{A.6})$$

$$\Delta W_{Kugel} = \left[-\left(\frac{4}{3}\pi\right)^{(-5/3)} \cdot C \cdot R_M^{-6} \right]_{R_{M,1}}^{R_{M,2}} \quad (\text{A.7})$$

A.9.2 Halbkugel

Volumen:

$$V = \frac{2}{3}\pi R_M^3 \quad (\text{A.8})$$

Fläche:

$$A = 3\pi R_M^2 \quad (\text{A.9})$$

$$\Rightarrow dA = 6\pi R_M dR_M \quad (\text{A.10})$$

Einsetzen in 5.28:

$$dW = C \cdot \frac{1}{\left(\frac{2}{3}\pi\right)^{(8/3)} \cdot R_M^8} \cdot 6\pi R_M dR_M \quad (\text{A.11})$$

$$dW = C \cdot \left(\frac{2}{3}\pi\right)^{(-8/3)} \cdot R_M^{-7} \cdot 6\pi dR_M \quad (\text{A.12})$$

$$\int_{R_{M,1}}^{R_{M,2}} dW = \left[-\pi \cdot C \cdot \left(\frac{2}{3}\pi\right)^{(-8/3)} \cdot R_M^{-6} \right]_{R_{M,1}}^{R_{M,2}} \quad (\text{A.13})$$

$$\Delta W_{Halbkugel} = \left[-\left(\frac{2}{3}\pi\right)^{(-5/3)} \cdot \pi \cdot C \cdot R_M^{-6} \right]_{R_{M,1}}^{R_{M,2}} \quad (\text{A.14})$$

A.9.3 Kalotte

Volumen:

$$V = \frac{\pi}{6} h_{kal} \cdot (3a_{kal}^2 + h_{kal}^2) \quad (\text{A.15})$$

Fläche:

$$A = \pi (2a_{kal}^2 + h_{kal}^2) \quad (\text{A.16})$$

$$\Rightarrow dA = 4\pi a_{kal} da_{kal} \quad (\text{A.17})$$

Einsetzen in 5.28:

$$dW = C \cdot \frac{1}{\left(\frac{\pi}{6} h_{kal}\right)^{(8/3)} \cdot (3a_{kal}^2 + h_{kal}^2)^{(8/3)}} \cdot 4\pi a_{kal} da_{kal} \quad (\text{A.18})$$

$$dW = 4\pi \left(\frac{\pi}{6}\right)^{-(8/3)} h_{kal}^{-(8/3)} \cdot C \cdot (3a_{kal}^2 + h_{kal}^2)^{-(8/3)} a_{kal} da_{kal} \quad (\text{A.19})$$

Substitution:

$$u = 3a_{kal}^2 + h_{kal}^2 \quad (\text{A.20})$$

$$a_{kal} = \left(\frac{u - h_{kal}^2}{3}\right)^{(1/2)} \quad (\text{A.21})$$

$$da_{kal} = \frac{1}{6} \left(\frac{u - h_{kal}^2}{3}\right)^{-(1/2)} du \quad (\text{A.22})$$

$$dW = 4\pi \left(\frac{\pi}{6}\right)^{-(8/3)} h_{kal}^{-(8/3)} \cdot C \cdot u^{-(8/3)} \cdot \left(\frac{u - h_{kal}^2}{3}\right)^{(1/2)} \cdot \frac{1}{6} \left(\frac{u - h_{kal}^2}{3}\right)^{-(1/2)} du \quad (\text{A.23})$$

$$dW = \frac{2}{3} \pi \left(\frac{\pi}{6}\right)^{-(8/3)} h_{kal}^{-(8/3)} \cdot C \cdot u^{-(8/3)} du \quad (\text{A.24})$$

$$\int_{a_{kal,1}}^{a_{kal,2}} dW = \left[-\frac{2}{5} \pi \left(\frac{\pi}{6}\right)^{-(8/3)} h_{kal}^{-(8/3)} \cdot C \cdot u^{-(5/3)} \right]_{a_{kal,1}}^{a_{kal,2}} \quad (\text{A.25})$$

Rücksubstitution:

A.9 Herleitung der Ausdrücke für den zusätzlichen Energiebetrag bei der Rückreaktion der Photoisomerisierung außerhalb eines Lösemittels

$$\Delta W_{Kalotte} = \left[-\frac{2}{5} \pi \left(\frac{\pi}{6} \right)^{-(8/3)} h_{kal}^{-(8/3)} \cdot C \cdot (3a_{kal}^2 + h_{kal}^2)^{-(5/3)} \right]_{a_{kal,1}}^{a_{kal,2}} \quad (\text{A.26})$$

$$\Delta W_{Kalotte} = \left[-\frac{2^{(11/3)} 3^{(8/3)}}{5} \pi^{-(5/3)} \cdot C \cdot h_{kal}^{-(8/3)} \cdot (3a_{kal}^2 + h_{kal}^2)^{-(5/3)} \right]_{a_{kal,1}}^{a_{kal,2}} \quad (\text{A.27})$$

A.10 Rasterkraftmikroskopie-Aufnahmen der Polymerbürsten

A.10.1 Weitere Topografiebilder der Lösungen nVd und Vd1

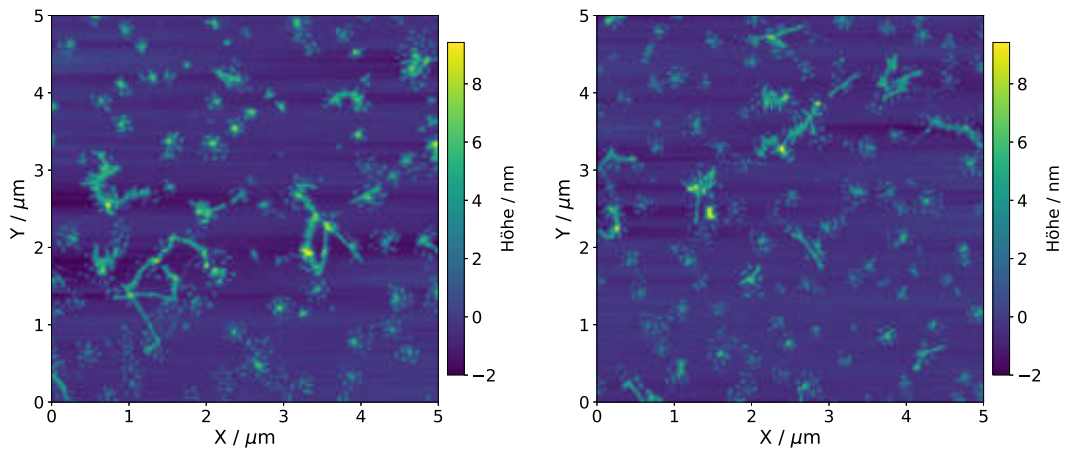


Abbildung A.10: Weitere Beispiele für Topografiebilder der unverdünnten Lösung der Polymerbürsten. Siehe Diskussion in Kapitel 6.1

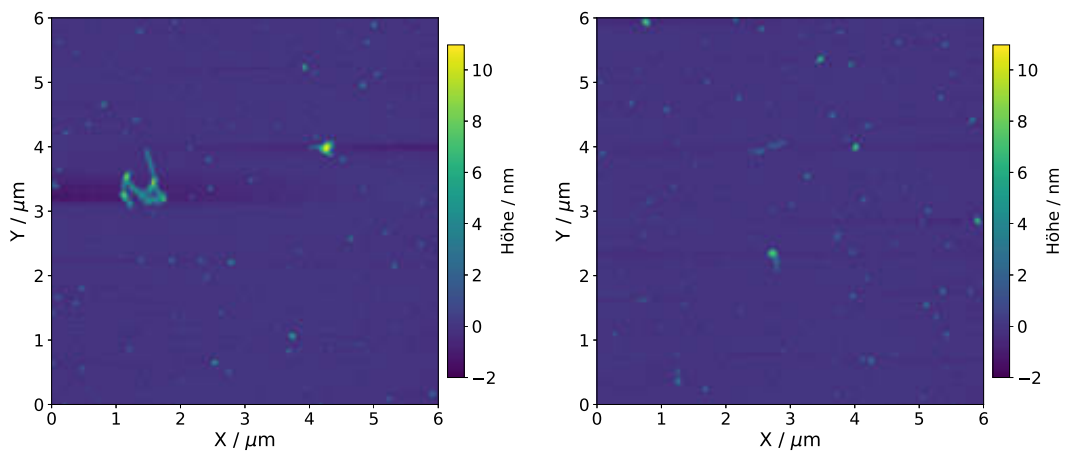


Abbildung A.11: Weitere Beispiele für Topografiebilder der einfach verdünnten Lösung (Vd1) der Polymerbürsten. Siehe Diskussion in Kapitel 6.1

A.10.2 Topografiebilder von Proben der Lösung Vd2 auf Muskovit, ausgerichtet zu Fluoreszenzflecken

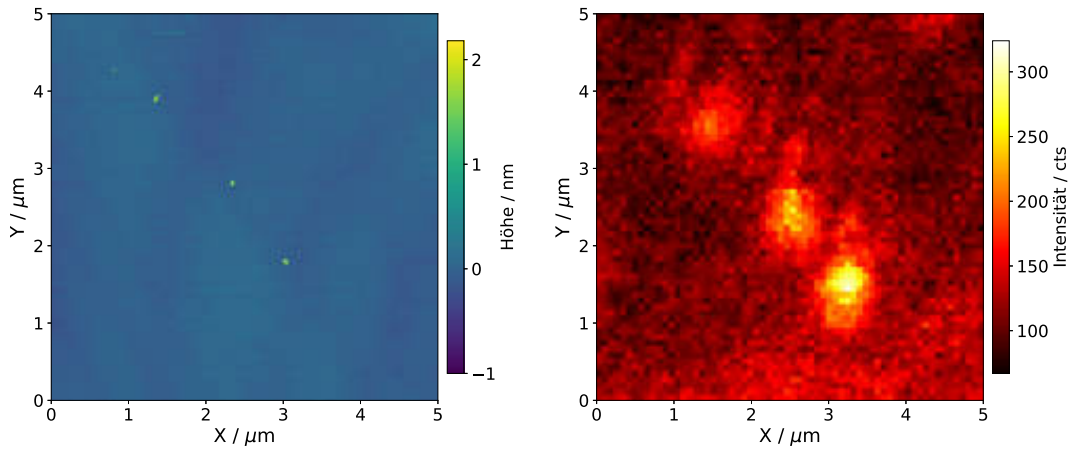


Abbildung A.12: Topografiebild (links) und Fluoreszenzbild (rechts, $\lambda_{An} = 445\text{nm}$, $P \approx 370\text{W}/\text{cm}^2$, mit Argonatmosphäre). Die Die Polymerbürsten können Fluoreszenzflecken zugeordnet werden (Beispiel 1).

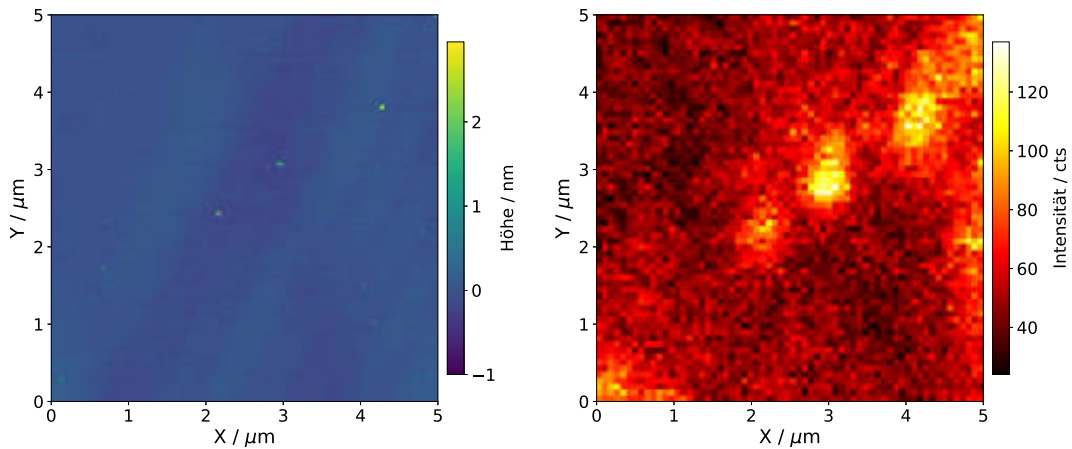


Abbildung A.13: Topografiebild (links) und Fluoreszenzbild (rechts, $\lambda_{An} = 445\text{nm}$, $P \approx 370\text{W}/\text{cm}^2$, mit Argonatmosphäre). Die Polymerbürsten können Fluoreszenzflecken zugeordnet werden (Beispiel 2).

A.11 Korrelation von spektraler Lage und Intensität

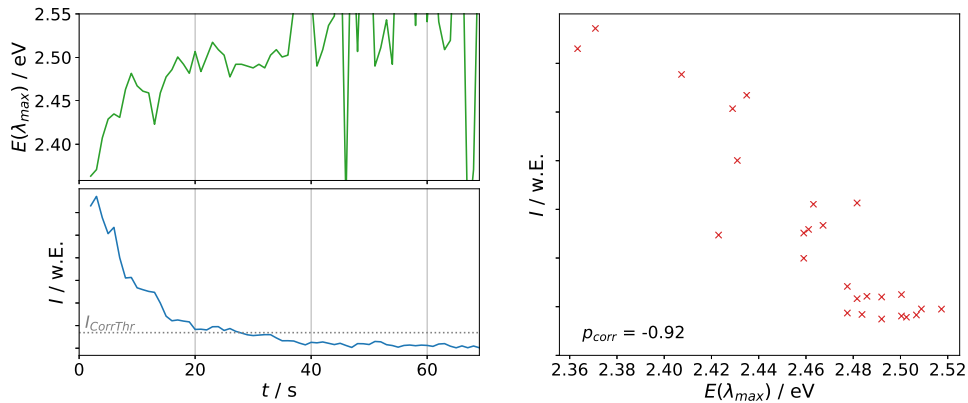


Abbildung A.14: Weiteres Beispiel für die Korrelation der spektralen Lage mit der Intensität (Integrationszeit $\Delta t_s = 1s$ pro Spektrum, $\lambda_{An} = 445nm$, $P \approx 370W/cm^2$, mit Argonatmosphäre). Für eine detaillierte Beschreibung der Analyse und Diskussion der Ergebnisse siehe Kapitel 6.2.3.

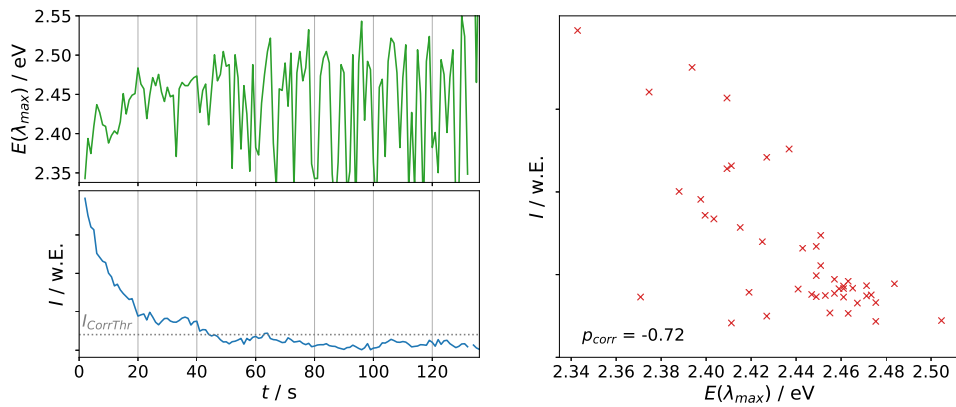


Abbildung A.15: Weiteres Beispiel für die Korrelation der spektralen Lage mit der Intensität (Integrationszeit $\Delta t_s = 1s$ pro Spektrum, $\lambda_{An} = 445nm$, $P \approx 370W/cm^2$, mit Argonatmosphäre). Für eine detaillierte Beschreibung der Analyse und Diskussion der Ergebnisse siehe Kapitel 6.2.3.

A.12 Regeneration der Emission nach Fluoreszenzbleichen bei Polymerbürsten

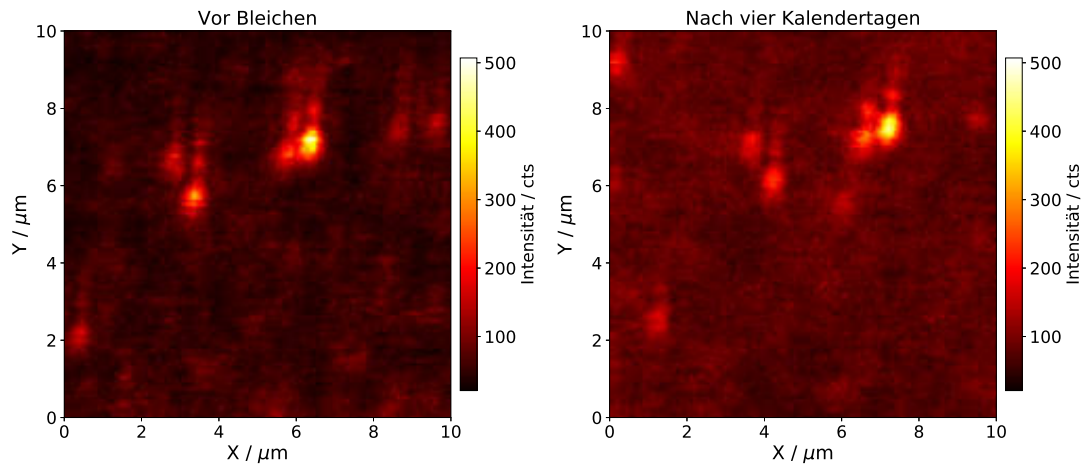


Abbildung A.16: Fluoreszenzbilder ($\lambda_{An} = 445\text{nm}$, $P \approx 370\text{W}/\text{cm}^2$, mit Argonatmosphäre) der selben Probenstelle im Abstand weniger Tage aufgenommen: Weiteres Beispiel für Regeneration der Fluorophore mehrere Tage nach dem Bleichen.

A.13 Polymerbürsten - Differenzbild nach Photobleichen

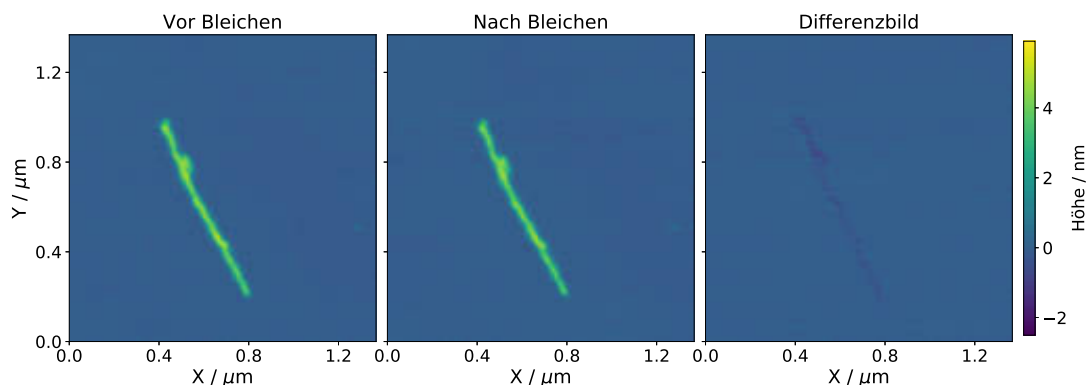


Abbildung A.17: Weiteres Beispiel für ein Differenzbild der Topografie vor und nach dem Bleichen. Es ist kein relevanter Unterschied zwischen den Bildern detektierbar.

A.14 Abschätzung der Anzahl an Emittlern im Anregungsfokus

Für den Abstand der PPV-Teile zweier Blockcopolymeren entlang des Rückgrats der Polymerbürsten wurde von Shin et.al 0.46nm erhalten [83]. Dies erlaubt eine grobe Abschätzung der Menge an Chromophoren im Anregungsfokus: Bei einer Anregungswellenlänge von 445nm hat der Fokus an der Halbwertsbreite einen Durchmesser von ca. 478nm. Wenn

man für jede Schicht von zwei entgegengesetzten Reihen von Blockcopolymeren entlang des Rückgrats ausgeht (siehe Abbildung 3.10), und davon dass sich das Rückgrat über den gesamten Durchmesser des Fokus an der Halbwertsbreite erstreckt, erhält man 2078 Blockcopolymere als Abschätzung der Menge an Chromophoren pro Chromophorschicht im Anregungsfokus. Aus der gemessenen Höhe der Polymerbürsten in den Topografiebildern und der erwarteten maximalen Höhe individueller MeO-PPV-Chromophore (siehe Kapitel 6.1) können fünf oder mehr Schichten pro Polymerbürste erwartet werden. Auch wenn aufgrund von Energietransfer zu lokalen Energieminima die Emission nur von einer Untermenge der Chromophore stattfindet, ist also noch immer eine Vielzahl von Emittlern im Fokus des Mikroskops vorstellbar.

Danksagung

Zur erfolgreichen Fertigstellung dieser Arbeit haben eine Reihe von Menschen und Institutionen beigetragen, von denen ich im Folgenden Einigen meines ausdrücklichen Dank aussprechen möchte.

- Zuallererst möchte ich mich bei [Name] bedanken, dass ich meine Forschungsarbeit in seinem hervorragend ausgestatteten Arbeitskreis an einem interessanten Themenfeld durchführen konnte. Weiterhin möchte ich mich für die konstruktiven Gespräche und die genaue Durchsicht dieser Arbeit bedanken.
- Der Graduiertenschule [Name] gilt mein Dank für die finanzielle Förderung meiner Forschungsarbeit in Form eines Stipendiums und für die einmaligen Gelegenheiten zur Vernetzung und zum Austausch mit anderen Wissenschaftlern durch gemeinsame Veranstaltungen.
- [Name] gilt mein besonderer Dank für seine experimentelle Expertise, seine stete Hilfsbereitschaft in allen experimentellen Herausforderungen und Fragestellungen bei der Datenanalyse, das Korrekturlesen dieser Arbeit und die vielen bereichernden wissenschaftlichen Diskussionen zu dieser Forschungsarbeit.
- [Name], [Name] und [Name] möchte ich meinen Dank aussprechen, dass sie immer hilfsbereit zur Verfügung standen, wenn Probleme bei der Elektronik, bei den optischen Bauteilen der Mikroskope oder im chemischen Labor auftraten.
- Bei den Arbeitskreisen von [Name] am Max-Planck-Institut für Polymerchemie in Mainz und von [Name] an der Seoul National University möchte ich mich für das Bereitstellen der [Name] im Rahmen meiner Forschungsarbeit untersuchten Dendrimere bzw. Blockcopolymere herzlich bedanken.
- Für die Bereitstellung von CdSe-Nanokristalllösungen als Messstandard für die Kombination aus Rasterkraftmikroskop und konfokalem Fluoreszenzmikroskop gilt mein Dank [Name].
- Große Dankbarkeit empfinde ich auch gegenüber allen meinen Kollegen und Kolleginnen für eine stets angenehme Arbeitsatmosphäre und Zusammenarbeit, sowie die schönen gemeinsamen Aktivitäten nach Feierabend. Insbesondere möchte ich mich hier bei meinem Diplomarbeitsbetreuer, langjährigem Bürokollegen und gutem Freund [Name] bedanken für die vielen aufschlussreichen Gespräche und Diskussionen, für das gemeinsame Tüfteln am Messaufbau, das Korrekturlesen dieser Arbeit und die außerordentlich gute Büronachbarschaft. Außerdem gilt eine besondere Erwähnung meinem ehemaligen Moduland und Freund [Name] für die vielen anregenden wissenschaftlichen und wissenschaftstheoretischen Diskussionen.
- Zu guter Letzt gilt meine tief empfundene Dankbarkeit meiner Familie und meinen Freunden, die mich in der Zeit in allen Hochs und Tiefs immer unterstützt haben

und mir den Rücken gestärkt haben - insbesondere meiner tollen Frau _____, die mich durch die ganze, nicht immer einfache, Zeit begleitet hat und ohne deren selbstlose Unterstützung ich nach der Geburt unserer Kinder nicht weiter an der Dissertation hätte arbeiten können. Auch meinen Eltern gilt ein besonderer Dank für ihre Fürsorge und dafür, dass sie mir mein Studium ermöglicht haben. Bei meinen Kindern _____ und _____ möchte ich mich bedanken dafür, dass sie geduldig waren mit mir, wenn ich am Wochenende oder abends an meiner Dissertation gearbeitet habe.