

Rasterkraftmikroskopie an biologischen
Probensystemen, Übergangsmetall-Dichalkogeniden
und im Lichtfeld



Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der
Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.) der Fakultät für Physik
der Universität Regensburg

vorgelegt von

Korbinian Pürckhauer

aus Regensburg

im Jahr 2020

Das Promotionsgesuch wurde am 22.12.2020 eingereicht.
Die Arbeit wurde von Prof. Dr. Franz J. Gießibl angeleitet.
Das Promotionskolloquium fand am 15.04.2021 statt.

Prüfungsausschuss:

Vorsitzender: Prof. Dr. Ferdinand Evers
Erstgutachter: Prof. Dr. Franz J. Gießibl
Zweitgutachter: Prof. Dr. Rupert Huber
Weiterer Prüfer: PD Dr. Jonathan Eroms

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
1. Einleitung	7
2. Grundlagen der Rasterkraftmikroskopie	11
2.1. Wechselwirkungen zwischen Spitze und Probe	11
2.1.1. Kräfte in der Rasterkraftmikroskopie	12
2.1.2. Weitere Einflüsse bei Messungen an Luft und in Flüssigkeiten	16
2.2. Frequenzmodulations-Rasterkraftmikroskopie	19
2.2.1. Grundlagen	19
2.2.2. Rauschen in der Frequenzmessung bei der Rasterkraftmikroskopie	22
2.2.3. Betriebsmodi im Vergleich	24
3. Experimenteller Aufbau und Methoden	27
3.1. Der qPlus Sensor: Aufbau, Charakterisierung und Spitzenmaterialien	28
3.1.1. Steifigkeit, Sensitivität und Kalibrierung der Amplitude	30
3.1.2. Eigenschaften höherer Biegemoden	34
3.1.3. Bau der qPlus Sensoren und Wahl des Spitzenmaterials	36
3.2. Aufbau eines Rasterkraftmikroskops mit optischem Zugang	43
3.2.1. Sensorhalter und mechanische Anregung	46
3.2.2. Probenscanner und Feinpositionierung	49
3.2.3. Grobannäherung und finaler Zusammenbau	51
3.2.4. Vorverstärker und Signalfilter	57
3.2.5. Diskussion der Stabilität und experimentelles Auflösungsvermögen	59
3.3. Erweiterung eines Rasterkraftmikroskops zur Abbildung in Flüssigkeiten	69
4. Atomare und molekulare Auflösung in biologisch-relevanten Umgebungen	73
4.1. Abbildung von Muskovit an Luft und in wässrigen Umgebungen	80
4.2. Abbildung biologischer Proben mit steifen qPlus Sensoren	83
4.2.1. Präparation, Immobilisierung und Abbildung von DNA und DNA-Origami	84
4.2.2. Präparation, Immobilisierung und molekular aufgelöste Abbildung von Doppellipidschichten	95
4.3. Diskussion, Zusammenfassung und Ausblick	102

5. Übergangsmetall-Dichalkogenide und deren Reaktivität an Luft	107
5.1. Stabilität von TMDCs bei Luftexposition	108
5.2. Abbildung von MoS ₂ und MoSe ₂	110
5.3. Abbildung von WS ₂ und WSe ₂	115
5.4. Diskussion, Zusammenfassung und Ausblick	119
6. Ausblick auf ein Lichtfeld-induziertes Rasterkraftmikroskop	125
6.1. Lichtfeld-induzierte Kräfte und ihre Detektion	126
6.2. Diskussion und Zusammenfassung	138
7. Zusammenfassung	141
Publikationsliste	147
A. Anhang	149
A.1. Theoretische Beschreibung der Mechanik höherer Biegemoden	149
A.2. Übergangsmetall-Dichalkogenide: Ergänzende Daten	153
A.2.1. Molybdändiselenid	153
A.2.2. EDX-Daten	153
A.3. Lichtfeld-induziertes AFM: Ergänzende Daten	157
Literatur	159
Danksagung	179

Abkürzungsverzeichnis

- AFM** Rasterkraftmikroskop, engl.: atomic force microscope
- AFM-IR** Rasterkraftmikroskopie-basierte Infrarotspektroskopie
- ATR-FTIR** ATR-Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie, engl.: attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy
- CVD** Chemische Gasphasenabscheidung, engl.: chemical vapor deposition
- DCA** Diiodmethan-Kontaktwinkel, engl.: diiodomethane contact angle
- DFT** Dichtefunktionaltheorie, engl.: density functional theory
- DNA** Desoxyribonukleinsäure
- EDTA** Ethylendiamintetraacetat
- EDX** energiedispersive Röntgenspektroskopie, engl.: energy dispersive X-ray spectroscopy
- FFT** Schnelle Fourier-Transformation, engl.: fast fourier transformation
- FIB** Ionenfeinstrahlanlage, engl.: focused ion beam
- HOPG** Hochorientiertes pyrolytisches Graphit, engl.: highly oriented pyrolytic graphite
- h-BN** Hexagonales Bornitrid
- HV** Hochspannung, engl.: high voltage
- KBr** Kaliumbromid
- LT-AFM** Tieftemperatur-Rasterkraftmikroskop, engl.: low-temperature AFM
- MoS₂** Molybdändisulfid
- MoSe₂** Molybdändiselenid
- PiFM** photoinduzierte Rasterkraftmikroskopie, engl.: photo-induced force microscopy
- PLL** Phasenregelschleife, engl.: phase-locked loop
- QCL** Quantenkaskadenlaser, engl.: quantum cascade laser

Inhaltsverzeichnis

RNA Ribonukleinsäure

SECM Elektrochemische Rastermikroskopie, engl.: scanning electrochemical microscopy

SEM Rasterelektronenmikroskop, engl.: scanning electron microscope

ssDNA DNA Einzelstrang, engl.: single-stranded DNA

TMDC Übergangsmetall-Dichalkogenide, engl.: transition metal dichalcogenides

UHV Ultrahochvakuum

UME Ultramikroelektrode

VdW Van-der-Waals-Kräfte

WCA Wasser-Kontaktwinkel, engl.: water contact angle

WS₂ Wolframdisulfid

WSe₂ Wolframdiselenid

XPS Röntgenphotoelektronenspektroskopie, engl.: X-ray photoelectron spectroscopy

1. Einleitung

In den letzten vier Jahrzehnten ist die Rasterkraftmikroskopie zu einem etablierten Werkzeug in der Oberflächenphysik, der Nanotechnologie, der Chemie und der Biologie geworden, um sowohl leitfähige als auch nicht leitende Proben auf atomaren Skalen zu untersuchen und deren Topographie abzubilden. Im Allgemeinen verstehen sich unter dem Überbegriff der Rastersondenmikroskopie Techniken, welche eine zu untersuchende Probenoberfläche mit Hilfe einer Sonde abtasten. Aufgezeichnet wird die Wechselwirkung zwischen der Oberfläche und der Sonde. Die Entwicklung der Rasterkraftmikroskopie, im Folgenden auch als AFM (engl.: atomic force microscopy) bezeichnet, ist eng verknüpft mit den Errungenschaften um die Rastertunnelmikroskopie (engl.: scanning tunneling microscopy, STM). Letztere wurde 1982 von Binnig, Rohrer, Gerber und Weibel publiziert [1]. Die frühen Erfolge der Rastertunnelmikroskopie, wie das atomare Auflösen der Si(111)- 7×7 -Oberfläche, führten dazu, dass 1986 - nur 4 Jahre nach der Publikation - Gerd Binnig und Heinrich Rohrer mit dem Physik-Nobelpreis für die Erfindung des STMs honoriert wurden [2]. Jedoch kann die Rastertunnelmikroskopie einzig auf leitfähigen Proben durchgeführt werden. Dieser Umstand hat sicherlich dem Durchbruch der 1986 eingeführten Rasterkraftmikroskopie geholfen, denn das AFM ist nicht an diese Einschränkung gebunden [3].

Insbesondere in den letzten beiden Jahrzehnten sind große Fortschritte erreicht worden, die das Auflösungsvermögen der Rasterkraftmikroskopie auf ein neues Niveau gehoben haben. Zum einen ist hier die Entwicklung des qPlus Sensors zu nennen, welcher ein Kraftsensor auf Basis einer Quarzstimmgabel ist [4]. Durch ihn wurde die Nicht-Kontakt-Rasterkraftmikroskopie, unter Verwendung von Schwingungsamplituden kleiner als 100 pm, salonfähig [5]. Eine weitere Schlüsselentwicklung war das Funktionalisieren der AFM-Spitze mit einem Kohlenstoffmonoxidmolekül (CO). Mit einer derartigen Spitze gelang es Gross und Kollegen erstmals, die molekulare Struktur eines Pentacen-Moleküls mit Hilfe eines Rasterkraftmikroskops bei einer Temperatur von $T = 5$ K abzubilden [6]. Derartige CO-Spitzen sind lediglich bei kryogenen Temperaturen und Ultrahochvakuum stabil. Zur Untersuchung biologischer Proben muss jedoch eine Biokompatibilität gegeben sein. In den meisten Fällen ist eine wässrige physiologische Umgebung (bei Raumtemperatur) notwendig, um eine Degradierung der Proben zu verhindern. So hat sich in den letzten Jahren die hochauflösende Rasterkraftmikroskopie in Flüssigkeiten etabliert [7, 8]. Typischerweise werden hierfür jedoch nicht die bei tiefen Temperaturen zum Standard geworden qPlus Sensoren verwendet. Erste Studien mittels eines qPlus basierten Rasterkraftmikroskops zeigten, dass auch bei Messungen in Umgebungsluft eine Vielzahl von Proben atomar aufgelöst werden kann. Dazu zählen Kaliumbromid (KBr) [9–12],

1. Einleitung

Calcit [13], Graphit und Graphen [14, 15]. Außerdem wurde bei ersten Studien in Flüssigkeiten bereits die atomare Struktur von Muskovit aufgelöst [16–18]. Ein Ziel dieser Arbeit ist es, an die erfolgreichen Messungen anzuschließen und unter anderem das Abbilden von biologischen Proben auf molekularer Ebene mit qPlus Sensoren zu etablieren. Ferner sollen auch neue Forschungsfelder besprochen werden, wie der folgende Überblick der einzelnen Kapitel zeigen wird.

Zu Beginn der Arbeit werden im Kapitel 2 die Grundlagen der Rasterkraftmikroskopie erläutert. Neben der Beschreibung der Wechselwirkungen zwischen einer AFM-Spitze und einer Probe, werden ebenso die Besonderheiten bei Messungen an Luft und in Flüssigkeiten diskutiert. Außerdem wird die Detektion der Signale mittels Frequenzmodulations-Rasterkraftmikroskopie (FM-AFM) erklärt und im Anschluss das Messrauschen diskutiert. Ferner schließt ein Vergleich der Betriebsmodi der Rasterkraftmikroskopie das Kapitel ab.

Das sich anschließende Kapitel 3 stellt den experimentellen Aufbau und die Methoden vor. Zunächst wird hier der qPlus Sensors erläutert und sowohl die Berechnung der Steifigkeit und der Sensitivität des Sensors als auch die Kalibrierung der Amplitude diskutiert. Dies schließt auch die Eigenschaften höherer Biegemoden mit ein. Außerdem befasst sich das Kapitel mit dem Bau der Sensoren und der Wahl der Spitzenmaterialien, denn an den in dieser Arbeit verwendeten qPlus Sensor können nahezu beliebige Materialien geklebt werden. Ein weiteres Hauptaugenmerk des Kapitels liegt auf dem Aufbau eines neuen Rasterkraftmikroskops, welches für die Verwendung in Umgebungsbedingungen optimiert ist. Bisherige Versuche mit qPlus Sensoren an Luft wurden mit Mikroskopen durchgeführt, welche für die Verwendung in Vakuumkammern ausgelegt waren. Ihre Bauweise hat sich durch eine hohe Stabilität etabliert, obwohl sie keinen optimalen Zugang zu Spitze und Probe erlaubt. Das neue Mikroskop soll hier ansetzen, um eine einfache Kombination mit Lichtmikroskopen und ultraschneller Optik zu ermöglichen. Neben einer detaillierten Beschreibung der Konstruktion des AFMs, werden in dem Kapitel auch experimentelle Messungen vorgestellt, um das Auflösungsvermögen und die Stabilität zu evaluieren. Zudem wird zum Abschluss des Kapitels die Erweiterung eines anderen AFMs um eine Flüssigkeitszelle behandelt. Sie dient der Abbildung von biologischen Proben, auf welche im anschließenden Kapitel 4 ausführlich eingegangen wird.

Wie erwähnt, befasst sich Kapitel 4 mit der Abbildung von biologischen Proben in wässrigen Umgebungen. Typischerweise werden hierzu Rasterkraftmikroskope verwendet, welche keine steifen qPlus Sensoren (Steifigkeit $k > 1,8 \text{ kN/m}$) einsetzen. Stattdessen werden deutlich weichere ($k < 50 \text{ N/m}$) Silizium-Federbalken verwendet. Mit derartigen AFMs konnte nicht nur die Helixstruktur der DNA [19, 20], sondern auch die molekulare Struktur von Doppellipidschichten aufgelöst werden. Jedoch ist eine atomare Auflösung von biologischen Proben bisher nicht erreicht worden. Eine Möglichkeit, die Abbildungsqualität weiter zu verbessern, ist die Frequenzmodulations-Rasterkraftmikroskopie unter der Verwendung von möglichst kleinen Schwingungsamplituden. Ein Ziel der hier vorliegenden Arbeit ist zu demonstrieren, dass die bei Tieftemperatur-Rasterkraftmikroskopie bereits etablierte FM-AFM Technik, unter

der Verwendung der steifen qPlus Sensoren, ebenso verwendet werden kann, um biologische Proben hochaufgelöst abzubilden. Zu Beginn des Kapitels sollen die Unterschiede zwischen den typischerweise verwendeten Silizium-Sensoren mit dem hier verwendeten qPlus Sensoren analysiert und die jeweiligen Vor- und Nachteile diskutiert werden. Es wird sich zeigen, dass das verwendete qPlus System bereits mit dem geringen Rauschniveau der etablierten AFMs mithalten kann. Zum Nachweis, dass atomare Auflösung in biologisch-relevanten Umgebungen erreicht werden kann, wird die Abbildung von Muskovit in unterschiedlichen physiologischen Lösungen gezeigt. Untersucht wurde in dieser Arbeit unter anderem die Desoxyribonukleinsäure (DNA), welche die Trägerin der Erbinformationen ist und Doppelhelix-Struktur hat. Zur Abbildung mit einem AFM werden die DNA-Stränge an ein Substrat gebunden. Neben der topographischen Darstellung eines einzelnen Strangs, werden auch Aufnahmen von gefalteten DNA-Strängen gezeigt. Diese sind als DNA-Origami bekannt und nehmen in der Nanotechnologie eine immer bedeutendere Rolle ein [21–23]. Des Weiteren ist die Untersuchung der Zellmembran, welche eine Zelle umschließt und unter anderem das Zellinnere schützt, von besonderem Interesse. Die Membran besteht aus einer Doppelschicht von Lipiden, in die unter anderem Proteine und Kanäle eingebettet sind [24–26]. In dieser AFM Studie wurden Doppellipidschichten, welche aus einem Eigelb stammen, untersucht. Es wird sich hierbei zeigen, dass die polaren hydrophilen Kopfgruppen innerhalb der Membran mit dem qPlus AFM mittels FM-AFM aufgelöst werden können.

Das Kapitel 5 thematisiert die Verhalten von Übergangsmetall-Dichalkogeniden mit der Umgebungsluft. Derartige zweidimensionale Materialien besitzen eine Vielzahl von interessanten Eigenschaften, wie eine anpassbare Bandlücke oder eine hohe Ladungsträgermobilität [27]. Deren Wichtigkeit wurde durch die Vergabe des Nobelpreises im Jahr 2010 an Andre Geim und Konstantin Novoselov für die bahnbrechenden Experimente mit dem zweidimensionalen Material Graphen betont [28]. Seitdem ist das Interesse an den zweidimensionalen Materialien, wie den Übergangsmetall-Dichalkogeniden (engl.: transition metal dichalcogenides, TMDCs) regelrecht explodiert. Verallgemeinert sind die zweidimensionalen Kristalle Schichtsysteme, deren einzelne Lagen durch Van-der-Waals-Kräfte zusammengehalten werden. Die kovalenten Bindungen innerhalb der Lagen sind deutlich stärker und so können einzelne Schichten mit Hilfe eines Klebestreifens abgelöst werden [29]. Außerdem sind viele TMDCs, im Gegensatz zu Graphen, Halbleiter mit einer hohen Ladungsträgerbeweglichkeit. Beispielsweise ermöglichen sie bis zu einer einzigen Monolage dünne Transistoren mit hohen Schaltgeschwindigkeiten [30]. Ferner erlaubt die einfache Exfoliation der zweidimensionalen Kristalle eine Stapelung verschiedener Materialien zu sogenannten Heterostrukturen [31]. Durch die Auswahl und Abfolge der Schichten können die physikalischen Eigenschaften nach den eigenen Wünschen angepasst werden [32]. Ein wichtiger Aspekt, der bei der Auswahl der verwendeten Materialien zu beachten ist, ist die Reaktion der Oberflächen mit den in der Luft befindlichen Molekülen. Dies gilt insbesondere, falls zukünftig industrielle Herstellungsprozesse angestrebt werden sollen. In bisherigen Studien wurden bereits Kontaminationen auf TMDCs festgestellt [33].

1. Einleitung

Jedoch sind wichtige Fragen noch offen geblieben: Wie hoch ist die Bedeckung mit den Adsorbaten und sind Teile der Oberfläche sauber? Wie hoch sind die Kontaminationen? Dies soll besonders für Heterostrukturen wichtig ist? Verhalten sich alle TMDCs gegenüber einer Luftexposition gleich?

Deshalb sind im Rahmen dieser Arbeit AFM-Studien der Oberflächen von Molybdändisulfid MoS_2 , Molybdändiselenid MoSe_2 , Wolframdisulfid WS_2 und Wolframdiselenid WSe_2 an Luft durchgeführt worden. Es wird sich dabei zeigen, dass bei Luftkontakt auf den Oberflächen der Selenide MoSe_2 und WSe_2 vermehrt Partikel adsorbieren. Neben der Analyse der Höhe der Partikel, ist die Topographie von MoSe_2 über mehrere Tage hinweg abgebildet worden. Die Messung erlaubt somit Rückschlüsse auf die Mobilität der Adsorbate auf der Probe. Im Kapitel werden zudem von allen vier ausgewählten Proben die auf atomaren Skalen aufgenommenen Bilder der jeweiligen Oberflächenstruktur gezeigt.

Im Kaptitel 6 folgt der Ausblick auf eine Kombination der Rasterkraftmikroskopie mit ultraschneller Optik. Im Allgemeinen ist die Rasterkraftmikroskopie ein hervorragendes Werkzeug zur Abbildung von stationären Oberflächen. Ist hingegen die Dynamik eines Prozesses interessant, so ist das AFM nur bedingt geeignet. Ausnahmen sind langsam ablaufende Prozesse, wie die in Ref. [34] gezeigte, und bis zu mehrere Tage andauernde, Entwicklung einer Kaliumbromid-Oberfläche bei unterschiedlicher Luftfeuchtigkeit. Darüber hinaus gibt es noch spezielle Hochgeschwindigkeits-Rasterkraftmikroskope (engl.: high-speed AFM, HS-AFM) [35–37], wobei deren zeitliche Auflösung auf die Größenordnung von Millisekunden beschränkt ist. Jedoch finden überaus interessante physikalische Prozesse wie intramolekulare Vibrationen, der Zerfall von Exzitonen oder Phononen auf Zeitskalen in der Größenordnung von Piko ($1 \text{ ps} = 1 \times 10^{-12} \text{ s}$) oder gar Femtosekunden ($1 \text{ fs} = 1 \times 10^{-15} \text{ s}$) statt [38–42]. Typischerweise werden solche schnellen Vorgänge mit Hilfe von entsprechend kurzen Lichtimpulsen untersucht. Aufgrund des Beugungslimits der mittels Linsen und Spiegeln fokussierten Laserstrahlung ist die örtliche Auflösung der optischen Methoden eingeschränkt. Es ist das Ziel derartige ultraschnelle Prozesse auf den relevanten Längen- und Zeitskalen abzubilden. Erreicht werden soll dies durch die Kombination der Vorteile von Rastersondenmikroskopie und ultraschneller Optik. Das so entstehende Potential der Vereinigung von räumlicher und zeitlicher Auflösung wurde beispielsweise durch eine STM-Aufnahme eines oszillierenden Molekülorbitals demonstriert [41]. In dieser Arbeit soll das Konzept eines Lichtfeld-induzierten Rasterkraftmikroskops präsentiert werden. Das bereits ausführlich in Kapitel 3 vorgestellte AFM wird hier für die Messungen verwendet. Die durchgeführten Versuche werden unter anderem zeigen, dass auf die Spitze und Probe eingekoppelte Lichtimpulse den hier verwendeten qPlus Sensor zum Oszillieren anregen können.

Zum Abschluss der Arbeit werden im Kapitel 7 nochmals die Ergebnisse der vorliegenden Dissertation zusammengefasst.

2. Grundlagen der Rasterkraftmikroskopie

In diesem Kapitel werden die Grundlagen der Rasterkraftmikroskopie erläutert. Zum Anfang wird hier die Wechselwirkung zwischen Spitze und Probe behandelt und anschließend wird speziell auf die Grundlagen der Frequenzmodulations-Rasterkraftmikroskopie (FM-AFM) eingegangen, welche in dieser Arbeit angewandt wurde. Zum Abschluss des Kapitels wird das experimentelle Rauschen diskutiert und ein Überblick über die unterschiedlichen Abbildungsmodi gegeben.

2.1. Wechselwirkungen zwischen Spitze und Probe

Ausgehend von der Rastertunnelmikroskopie, bei der eine leitfähige Spitze über eine metallische Probe rastert und dabei der Tunnelstrom detektiert wird, entstand der Gedanke, dass man die wirkenden Kräfte zwischen der Spitze und der Probe ebenso messen könnte. Bei der aus diesem Konzept entwickelten Rasterkraftmikroskopie wird demnach eine Spitze über eine Probe gerastert und die Wechselwirkung detektiert. Im Idealfall läuft die Spitze pyramidal zu und endet in einem Atom - bekannt als monoatomare Spitze. Die Spitze ist dabei so nahe an der Probe (Abstand < 1 nm), dass messbare Kräfte zwischen Spitze und Probe wirken. Die Kräfte können wiederum zur aktiven Höhenregelung verwendet werden, um beispielsweise eine dreidimensionale Karte der Probenoberfläche zu erstellen. Zur Detektion der Kräfte wird die Spitze an einem Kraftsensor befestigt. Einen solchen stellen beispielsweise Federbalken dar, die nach dem hookeschen Gesetz

$$F = k \cdot z , \tag{2.1}$$

in Abhängigkeit von ihrer Steifigkeit k um z ausgelenkt werden, wenn eine Kraft F auf sie wirkt. Eine Möglichkeit, die Auslenkung des Balkens zu messen, ist das Verwenden von piezoelektrischen Materialien, wie z.B. Quarz. In der Folge wird das elektrisch generierte Signal verstärkt und aufgezeichnet. Neben Quarzsensoren werden in der Rasterkraftmikroskopie ebenso Federbalken aus Silizium verwendet, deren Auslenkung typischerweise optisch mittels eines Lichtzeigers detektiert wird. Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein sogenannter qPlus Sensor auf Basis einer Quarzstimmgabel verwendet (Details folgen im Kap. 3.1). Ein solcher ist in Abb. 2.1 dargestellt und weist typischerweise eine Steifigkeit zwischen $1,8$ kN/m und $8,3$ kN/m auf. Im folgenden Abschnitt wird nun die Wechselwirkung zwischen Spitze und Probe erläutert und zudem wird auf Besonderheiten bei Messungen an Luft und in Flüssigkeiten eingegangen.

2. Grundlagen der Rasterkraftmikroskopie

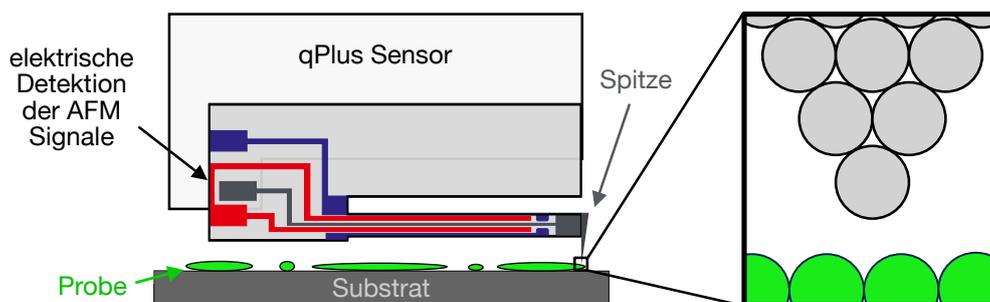


Abbildung 2.1.: Veranschaulichung des Grundprinzips eines Rasterkraftmikroskops. Symbolisch ist hier die Messung von biologischen Proben (grün) gezeigt, welche auf einem Substrat (grau) aufgebracht sind. Eine scharfe, idealisiert pyramidal zulaufende Spitze wird über die zu untersuchende Probe gerastert, wobei sie sich so nahe an einer Probe befindet, dass diese in Wechselwirkung treten. Die wirkenden Kräfte werden mit einem Kraftsensor, hier einem qPlus Sensor, detektiert. Eine vergrößerte Darstellung des Spitzenendes auf der rechten Bildhälfte verdeutlicht die vereinfachte Annahme einer pyramidalen und monoatomaren Spitze, welche sich in einem geringen Abstand zu den Atomen einer Probe befindet.

2.1.1. Kräfte in der Rasterkraftmikroskopie

Die Grundlage der Rasterkraftmikroskopie ist die Detektion von Kräften. Dieser Abschnitt soll klären, welche Kräfte zwischen Spitze und Probe wirken und insbesondere welche Kräfte den hohen lateralen Kontrast ermöglichen. Grundlegend wirken Kräfte sobald die Atome von Spitze und Probe in Wechselwirkung zueinander treten, wobei diese eine individuelle Abstandsabhängigkeit aufweisen. Um eine vereinfachte Eingliederung zu ermöglichen, werden diese gewöhnlich in lang- und kurzreichweitige Kräfte aufgeteilt.

Langreichweitige Kräfte

Von langreichweitigen Kräften wird gesprochen, wenn diese über große Abstände wirken und deshalb in der Regel keine atomare Auflösung ermöglichen. Wird beispielsweise die Spitze von großer Entfernung, sprich ohne wirkende Kräfte, immer näher an die Probe geführt, so treten zunächst sogenannte langreichweitige Kräfte auf. Sie können auch erst nach mehreren 100 nm vollständig abklingen. Relevant sind hierbei v.a. Van-der-Waals (VdW) Kräfte und langreichweitige elektrostatische Kräfte.

Unter den Van-der-Waals (VdW) Kräften versteht man durch induzierte Dipol-Dipol-Wechselwirkungen hervorgerufene Kräfte. Präziser formuliert, werden spontane Dipole durch Fluktuationen der Elektronenwolke verursacht. Das elektrische Feld der so entstandenen fluktuierenden Dipole induziert weitere Dipolmomente in anderen Atomen oder Molekülen. Ferner sind Van-der-Waals-Kräfte additiv und zudem sind sie im Ultrahochvakuum stets attraktiv. Die VdW-Attraktion zwischen zwei Atomen wird beschrieben durch das London-

Potential [43]:

$$V_{\text{vdW}} = -\frac{C_{\text{vdW}}}{r^6}. \quad (2.2)$$

Dabei bezeichnet r den Abstand und C_{vdW} ist eine elementspezifische Konstante, welche von den beiden wechselwirkenden Atomen abhängt. Durch den additiven Charakter kann damit die Van-der-Waals-Kraft zwischen makroskopischen Körpern durch eine Volumenintegration berechnet werden [44]. Die sogenannte Hamaker-Konstante zwischen zwei Körpern ist definiert durch [45]:

$$A_{\text{H}} = \pi^2 \cdot C_{\text{vdW}} \cdot \rho_1 \cdot \rho_2, \quad (2.3)$$

wobei ρ_1 und ρ_2 die Anzahl der Atome pro Volumeneinheit in beiden Körpern ist und C_{vdW} die Interaktionskonstante ist. Im Hinblick auf die Rasterkraftmikroskopie ist somit die Spitzengeometrie zur Berechnung der Van-der-Waals-Kräfte von großer Bedeutung. Nimmt man die Spitze als kugelförmig und die Oberfläche als planar an, so ergibt sich eine Kraft [45, 46]

$$F_{\text{vdW,Kugel}} = -\frac{A_{\text{H}}R}{6D^2}, \quad (2.4)$$

wobei R der Radius der Kugel und D der Abstand zwischen beiden Körpern ist. Die Van-der-Waals-Kraft fällt demnach für eine kugelförmige Spitze mit $1/z^2$ ab, wobei hier z den Abstand bezeichnet. Nimmt man hingegen eine pyramidale oder kegelförmige Spitze an, so verhält sich die Kraft proportional zu $1/z$ [46].

Ferner lässt sich, wie detailliert in Ref. [45] beschrieben, die Hamaker-Konstante auch für den Fall angeben, dass ein Medium zwischen Spitze und Probe präsent ist. Ohne die Herleitung hier gesondert aufzuführen, ist die Hamaker-Konstante für zwei Körper, die durch ein Medium getrennt sind, gegeben durch [45]:

$$A_{\text{H}} = \frac{3}{4}k_{\text{B}}T \left(\frac{\varepsilon_1 - \varepsilon_3}{\varepsilon_1 + \varepsilon_3} \right) \left(\frac{\varepsilon_2 - \varepsilon_3}{\varepsilon_2 + \varepsilon_3} \right) + \frac{3h\nu_e}{8\sqrt{2}} \frac{(n_1^2 - n_3^2)(n_2^2 - n_3^2)}{\sqrt{n_1^2 + n_3^2}\sqrt{n_2^2 + n_3^2}(\sqrt{n_1^2 + n_3^2} + \sqrt{n_2^2 + n_3^2})}. \quad (2.5)$$

Hier bezieht sich der Index 1 auf den Körper 1, der Index 2 auf den Körper 2 und der Index 3 auf das Medium zwischen den beiden Körpern. Zudem bezeichnet ε die Dielektrizitätskonstante, n den Brechungsindex, k_{B} die Boltzmann-Konstante, T die Temperatur, h das Plancksche Wirkungsquantum und ν_e die Hauptabsorptionsfrequenz [45]. Außerdem ist hier angenommen, dass die Absorptionsfrequenzen für alle drei Medien gleich sind. Die erste Summand stellt hier den rein entropischen Anteil der Absorptionsfrequenz Null dar und erreicht bei Raumtemperatur ($T \approx 300$ K) maximal den Wert $\frac{3}{4}k_{\text{B}}T \approx 3 \times 10^{-21}$ J. Der zweite Summand beschreibt den Anteil bei Absorptionsfrequenzen größer Null. Im Vakuum liegt der zweite

2. Grundlagen der Rasterkraftmikroskopie

Summand in der Größenordnung von 1×10^{-19} J [45]. Ist hingegen ein Medium präsent, so kann der temperaturabhängige erste Summand dennoch dominieren [45]. Außerdem fällt bei der Betrachtung der Gleichung auf, dass in bestimmten Fällen die Hamaker-Konstante auch negative Werte annehmen kann. Ausgeschlossen ist dies, wenn beide Körper identisch sind ($\varepsilon_1 = \varepsilon_2$ und $n_1 = n_2$) sind oder im Vakuum oder trockener Luft ($\varepsilon_3 = 1$ und $n = 1$) operiert wird. Sind die Körper hingegen unterschiedlich ($\varepsilon_1 \neq \varepsilon_2$ und $n_1 \neq n_2$) und ist ein Medium präsent, so können die zwischen Spitze und Probe auftretenden Van-der-Waals-Kräfte in der Tat repulsiv wirken. Spezifischer muss ε_3 zwischen ε_1 und ε_2 liegen, damit $(\varepsilon_1 - \varepsilon_3)(\varepsilon_2 - \varepsilon_3)$ negativ wird und eine repulsive Van-der-Waals-Kraft auftreten kann [47]. Im Laufe der Arbeit werden unter anderem Messungen mit Saphirspitzen (Al_2O_3) auf der Oberfläche von Muskovit ($\text{KAl}_2(\text{OH},\text{F})_2(\text{AlSi}_3\text{O}_{10})$) gezeigt, welche in Wasser (H_2O) durchgeführt wurden. Eine Abschätzung soll zeigen, wie groß die Hamaker-Konstante bei einer derartigen Messung ist, und ob die VdW-Kraft hierbei repulsiv oder attraktiv wirkt. Nach Gl. (2.5) kann die Hamaker-Konstante mit den Naturkonstanten, $\nu_e = 3 \times 10^{15}$ Hz und den in Tabelle 13.2 in Ref. [45] aufgeführten dielektrischen Konstanten und Brechungsindizes genähert werden:

$$A_H = 6,7 \times 10^{-24} \text{ J/K} \cdot T + 9,2 \times 10^{-21} \text{ J}. \quad (2.6)$$

Die Saphirspitze stellt hier den Körper 1 dar, Muskovit den Körper 2 und Wasser das Medium (Substanz 3). Bei einer Temperatur von 300 K ergibt sich ein Hamaker-Konstante von $A_H = 13 \text{ meV} + 57 \text{ meV} = 70 \text{ meV}$, was auch rechnerisch zeigt, dass die Van-der-Waals-Kräfte auch in diesem Fall attraktiv wirken. Beispiele für repulsive Van-der-Waals-Kräfte sind rar, aber in Ref. [47] konnte in einer AFM-Studie durch das Verwenden einer Gold-Spitze, einer Siliziumdioxid-Probe und eines Brombenzol-Mediums eine repulsive VdW-Kraft mit dem AFM gemessen werden. Als weiteres Beispiel für das Auftreten einer repulsiven VdW-Kraft soll noch Quarzglas (Substanz 1) an (trockener) Luft (Substanz 2) erwähnt werden. Das Medium (Substanz 3) kann hier sowohl Wasser als auch Kohlenwasserstoff, wie z.B. Octan oder Tetradecan, sein [45]. Als Resultat der repulsiv wirkenden VdW-Kraft wird sich das Medium auf der Oberfläche ausbreiten, anstatt einen Tropfen zu bilden [45, 47].

Eine exakte Berechnung der Van-der-Waals-Kräfte ist bei AFM-Messungen an Luft oder in Flüssigkeiten schwierig bis nahezu unmöglich. Zum einen ändern sich die Spitzenterminierungen und Spitzengeometrien vergleichsweise häufig. Zum anderen sind nicht selten undefinierte Adsorbatfilme auf der Probe oder Spitze vorhanden. Letztere können, wie soeben beschrieben, auch eine repulsive Van-der-Waals-Kraft erzeugen.

Bei Messungen im UHV liefern neben den Van-der-Waals-Kräften v.a. elektrostatische Kräfte einen signifikanten langreichweitigen Beitrag. Sie treten auf, wenn eine Potentialdifferenz $U \neq 0$ zwischen Spitze und Probe besteht. Dies ist beispielsweise bei metallischen Spitzen und Proben der Fall, wenn die Austrittsarbeit ϕ von beiden unterschiedlich ist. Sind beide elektrisch verbunden, so entsteht eine Spannung $V_{\text{CPD}} = \phi_{\text{Probe}} - \phi_{\text{Spitze}}$ (engl.: contact potential

difference, CPD), wobei typischerweise die Spitze und Probe als Kondensator beschrieben werden [48]. Die daraus resultierende elektrostatische Kraft kann durch das Anlegen einer Spannung $V = V_{\text{CPD}}$ kompensiert werden. In dieser Arbeit wird in der Regel mit nicht leitenden Spitzen gearbeitet und deshalb wird angenommen, dass die elektrostatische Kraft eher eine untergeordnete Rolle einnimmt. Jedoch soll darauf hingewiesen werden, dass eine elektrostatische Kraft auch durch vorhandene Nettoladungen auftreten kann. Ein Ionenkristall (z.B. Kaliumbromid [9]) ist hierfür ein Beispiel.

Durch die schwache Abstandsabhängigkeit sind die langreichweitigen Kräfte in der Regel ein störender Beitrag bei der Rasterkraftmikroskopie. Um eine hohe laterale Auflösung zu erreichen, sind die sogenannten kurzreichweitigen Kräfte entscheidend, welche nun erklärt werden.

Kurzreichweitige Kräfte und Lennard-Jones-Potential

Wird die Spitze bis auf wenige Nano- oder gar Pikometer an die Probe angenähert, so dominieren die kurzreichweitigen Kräfte. Verallgemeinert treten hierbei v.a. chemische Bindungskräfte und Pauli-Repulsion in Erscheinung. Die Pauli-Repulsion wird durch das Pauli-Prinzip verursacht, das besagt, dass je zwei Elektronen in einem Atom nicht die selben Quantenzahlen aufweisen dürfen [49]. Chemische Bindungskräfte treten in Erscheinung, wenn Spitze und Probe nicht inert sind und so eine chemische Bindung entstehen kann. Sie kann metallischen, ionischen oder kovalenten Charakter haben. In der hier vorliegenden Arbeit werden in der Regel Saphirspitzen verwendet, welche als inert gelten. Man kann deshalb annehmen, dass chemische Bindungskräfte nur eine untergeordnete Rolle in der Wechselwirkung zwischen Saphirspitzen und einer Probe spielen.

Die Abstandsabhängigkeit der Wechselwirkung zwischen zwei inerten Atomen kann durch das Lennard-Jones-Potential V_{LJ} beschrieben werden [50]:

$$V_{\text{LJ}}(z) = V_0 \left[\left(\frac{\sigma_0}{z} \right)^{12} - 2 \left(\frac{\sigma_0}{z} \right)^6 \right]. \quad (2.7)$$

Dabei entspricht V_0 der Bindungsenergie im Gleichgewichtsabstand σ_0 . Der erste Term mit einer 12-fachen Potenz beschreibt hierbei die Pauli-Repulsion und der zweite Term mit einer 6-fachen Potenz die VdW-Attraktion (siehe Gl. (2.2)).

Die Kraft F_{ts} (ts, engl.: tip-sample) zwischen Spitze und Probe folgt schließlich mit

$$F_{\text{ts}}(z) = - \frac{\partial V_{\text{LJ}}(z)}{\partial z}. \quad (2.8)$$

Sowohl das Lennard-Jones-Potential als auch die Kraft sind exemplarisch in Abb. 2.2 in Abhängigkeit des Spitzen-Proben-Abstands z skizziert. Im weiteren Verlauf des Kapitels wird sich zeigen, dass der Kraftgradient eine besondere Rolle spielen wird und deshalb ist dieser auch in der Abbildung zu sehen.

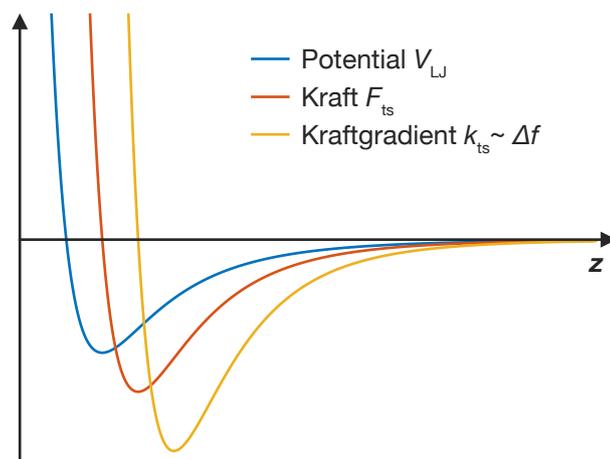


Abbildung 2.2.: Beschreibung der Spitzen-Proben-Wechselwirkung in Abhängigkeit des Spitzen-Proben-Abstands z , ausgehend von einem Lennard-Jones-Potential. (Blau) Verlauf des Lennard-Jones-Potentials V_{LJ} in Abhängigkeit von z . (Rot) Die daraus resultierende Kraft F_{ts} in Abhängigkeit von z . (Gelb) Aus der zweiten Ableitung von V_{LJ} folgt der Kraftgradient k_{ts} welcher wiederum proportional zur Frequenzverschiebung Δf ist.

Ferner ist in diesem Zusammenhang interessant, dass in der jüngeren Literatur bei der Rasterkraftmikroskopie (bei tiefen Temperaturen und im Ultrahochvakuum) und einer Kohlenstoffmonoxid terminierten Spitze ein Übergang von einer physikalischen Bindung, welche durch das Lennard-Jones-Potential beschrieben wird, und einer chemischen Bindung beobachtet werden konnte [51].

Während die langreichweitigen Kräfte in der Regel nicht auf atomarer Skala variieren, ermöglichen die stark abstandsabhängigen kurzreichweitigen Kräfte und hier insbesondere die Pauli-Repulsion das Messen von lokalen Kraftunterschieden auf atomaren Skalen. Deshalb wird im weiteren Verlauf der Arbeit noch aufgegriffen, ob und wie die Spitze so nahe an die Probe gebracht werden kann, um möglichst sensitiv zu den kurzreichweitigen Kräften zu sein. Entscheidend ist zudem auch, dass weder die Probe noch die Spitze deformiert werden.

2.1.2. Weitere Einflüsse bei Messungen an Luft und in Flüssigkeiten

In dieser Arbeit sind vorwiegend Experimente an Luft und in wässriger Umgebung (jeweils bei Raumtemperatur) durchgeführt worden. Die speziellen Einflüsse dieser Umgebungsbedingungen sollen nun in diesem Abschnitt näher ausgeführt werden.

Grundlegend ist (trockene) Luft ein Gasgemisch, deren Hauptbestandteile Stickstoff (78,08 Vol.-%) und Sauerstoff (20,95 Vol.-%) sind. Weitere Bestandteile mit signifikantem Anteil sind Argon (0,93 Vol.-%) und Kohlenstoffdioxid (0,04 Vol.-%). Das restliche Volumen setzt sich u.a. aus den Edelgasen Helium, Neon, Krypton und Xenon, sowie weiteren Spurengasen (z.B. Methan, Wasserstoff, Distickstoffmonoxid und Kohlenmonoxid) zusammen [52].

In unserer Umgebungsluft sind neben den bereits genannten gasförmigen Molekülen auch

Aerosole¹ und Wasser vorhanden. Letzteres ist im Mittel zu 0,4 Vol.-% in Luft gelöst [52]. Die relative Luftfeuchtigkeit gibt das Verhältnis zwischen dem in der Luft enthaltenen Wasser und der maximal möglichen Wassermenge, sprich der Sättigung, an. Die relative Luftfeuchtigkeit im verwendeten Laboratorium schwankt über das Jahr zwischen 30 % und 60%, je nach Jahreszeit und Wetter.

Wird eine Probe an Luft präpariert oder gar untersucht, so kann es sein, dass sich Moleküle, je nach Reaktivität der Probe, auf dieser anlagern. Im Laufe dieser Arbeit, spezifischer im Kapitel 5, wird sich zeigen, dass eine Luftexposition in der Tat einige Übergangsmetall-Dichalkogenide verunreinigen kann.

In Allgemeinen ist zudem bekannt, dass Wasser aus der Luft auf allen Oberflächen nach einer gewissen Zeit kondensiert und eine Hydratlage bildet [53]. Die Dicke der Hydratlage ist abhängig von der Hydrophilizität, bzw. der Hydrophobizität, der Oberfläche. Spezifischer kondensiert Wasser hier v.a. in hinreichend kleinen Poren und Rissen [54, 55]. Diese sogenannte Kapillarkondensation kommt auch bei der Rasterkraftmikroskopie an Luft vor. Angenommen die Spitze sei kugelförmig (siehe Abb. 2.3a), so kann die Kapillarkondensation mittels der Kelvingleichung beschrieben werden [55]:

$$R \cdot T \cdot \ln \frac{P}{P_0} = V_m \cdot \gamma \left(\frac{1}{R_{\text{Spitze}}} + \frac{1}{R_{\text{Probe}}} \right). \quad (2.9)$$

Hierbei ist P der Dampfdruck über der gekrümmten Oberfläche und P_0 der Dampfdruck, der fernab der gekrümmten Oberfläche wirkt. Zudem bezeichnet R die Gaskonstante, T die Temperatur, V_m das molare Volumen des Fluids und γ die Oberflächenspannung der Flüssigkeit. Außerdem ist R_{Spitze} der Radius der Spitze und R_{Probe} der Radius der Probe. Für eine plane Oberfläche der Probe gilt $R_{\text{Probe}} = \infty$. Die Gleichung beschreibt also die Abhängigkeit des Dampfdrucks einer Flüssigkeit von der Krümmung der Flüssigkeit. Als Folge aus der Kelvingleichung ist der effektive Dampfdruck der gekrümmten Oberfläche eines Meniskus zwischen einer Kugel (hier Spitze) und einer planen Oberfläche (hier Probe) im Vergleich zu einer planen Oberfläche reduziert. Die Kapillarkondensation kann deshalb auch bei relativen Luftfeuchtigkeiten unterhalb der Sättigung von 100 % auftreten [55]. Anders formuliert kann sich bei der Rasterkraftmikroskopie auch ein Meniskus zwischen Spitze und Probe ausbilden, falls keine vollständige Bedeckung der Oberfläche mit Wasser besteht. Ist die Spitze nahe an der Probe, so stellt die Schnittstelle zwischen beiden eine Art Pore oder Riss dar.

Häufig ist jedoch davon auszugehen, dass sowohl die Spitze als auch die Probe mit einem Wasserfilm überzogen sind (siehe Abb. 2.3c). Bei genügend kleinem Abstand zwischen Spitze und Probe bildet sich ein Meniskus aus, wie er in Abb. 2.3d skizziert ist. Eine detaillierte Herleitung der zwischen Spitze und Probe wirkenden Kapillarkraft ist in den Ref. [54, 56] zu finden. Zur theoretischen Beschreibung wird hier erneut eine kugelförmige Spitze angenommen,

¹Aerosole sind Schwebeteilchen aus festen und flüssigen Partikeln, die nur wenige Nanometer groß sind.

2. Grundlagen der Rasterkraftmikroskopie

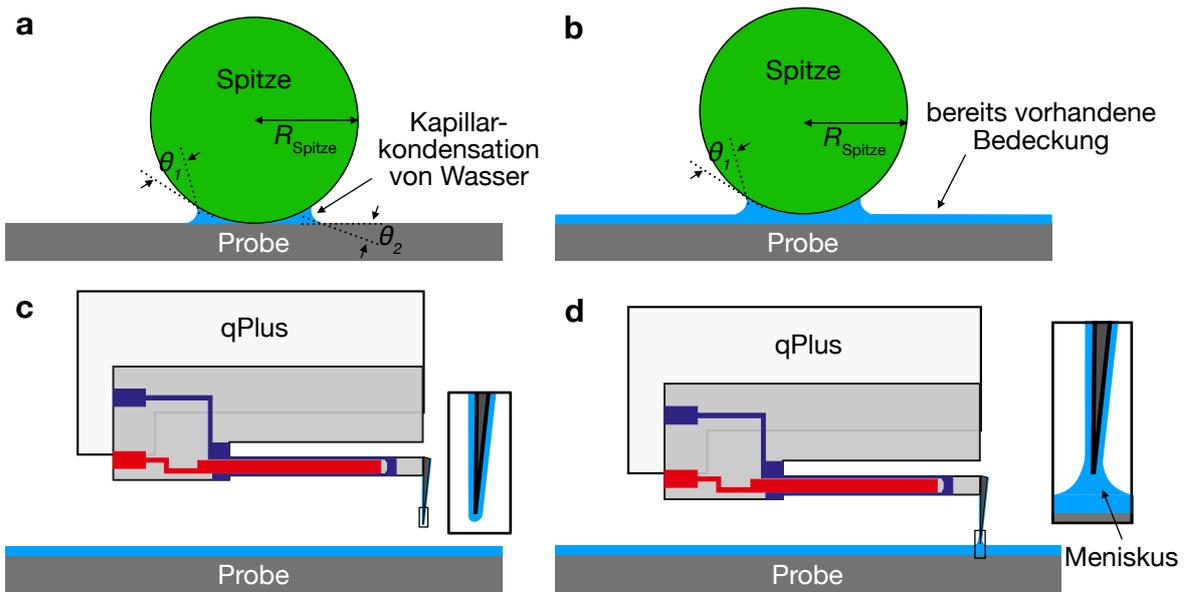


Abbildung 2.3.: Ausbildung einer Hydratlage und Formation eines Meniskus bei Messungen an Luft. (a) Annahme einer kugelförmigen Spitze zur Beschreibung der Kapillarkondensation von Wasser im Spalt zwischen Spitze und Probe. (b) Die Spitze ist auch hier als Kugel angenommen, wobei hier die Oberfläche der Probe bereits vollständig mit Wasser bedeckt ist. (c) Symbolische Darstellung eines qPlus Sensors mit Spitze. Probe und Spitze sind beide mit einem Wasserfilm überzogen. Die Dicke ist abhängig von der Hydrophilizität. (d) Zeichnung des Kontakts zwischen Spitze und Probe. Vergrößerte Darstellung zeigt die Ausbildung eines Meniskus. Bilder (a) und (b) nach Ref. [54, 55].

wie in Abb. 2.3b gezeigt. In dieser Näherung übt eine bereits mit Flüssigkeit benetzte Oberfläche folgende Kapillarkraft auf die Spitze aus [54, 56]:

$$F_{\text{Kap}} = -2\pi R_{\text{Spitze}}\gamma (\cos(\theta_1) + 1) . \quad (2.10)$$

Hier ist θ_1 der Kontaktwinkel² an der Grenzfläche zwischen Meniskus und Spitze, welcher auch in Abb. 2.3b eingezeichnet ist. Der Kontaktwinkel θ_2 zwischen der Probenoberfläche und dem Meniskus beträgt durch die vollständige Bedeckung mit Flüssigkeit 0° . Verringern lässt sich der Einfluss einer Meniskuskraft u.a. durch das Verwenden von hydrophoben Spitzenmaterialien (z.B. Saphir), durch das Arbeiten bei äußerst geringen relativen Luftfeuchtigkeiten nahe Null oder durch das Eintauchen in eine Flüssigkeit sowohl von Spitze als auch Probe. Dies wird vor allem bei AFM-Messungen mit weichen Silizium-Federbalken in Flüssigkeiten ausgenutzt. Für eine detailliertere Beschreibung weiterer Einflüsse bei Messungen an Luft soll an dieser Stelle auf die Ref. [56] verwiesen werden.

²Der Kontaktwinkel oder auch Benetzungswinkel bezeichnet den Winkel zwischen einer Oberfläche und einem Flüssigkeitstropfen. Je größer die Wechselwirkung zwischen beiden ist, desto geringer ist der Winkel.

2.2. Frequenzmodulations-Rasterkraftmikroskopie

Im letzten Abschnitt wurde gezeigt, dass sowohl langreichweitige als auch kurzreichweitige Kräfte bei der Rasterkraftmikroskopie auf eine Spitze und in der Folge auch auf den Federbalken als Kraftsensor wirken. Im einfachsten Fall wird beim AFM die statische Auslenkung des Federbalkens detektiert, wenn er aufgrund der zuvor beschriebenen Spitzen-Proben Kraft F_{ts} ausgelenkt wird. Dieser Modus birgt aber die Gefahr, dass die Spitze bei geringen Abständen mit der Probe kollidiert, falls die attraktive Kraft größer als die Rückstellkraft des Federbalkens ist. Die Problematik ist insbesondere bei der Verwendung von weichen Silizium-Federbalken noch verstärkt, weshalb der statische Modus in der Regel im Kontakt mit der Probe durchgeführt wird. Man spricht dann vom Kontakt-Modus und die Sensoren sind in diesem Fall meist besonders weich ($k < 1 \text{ N/m}$). Insbesondere für sensitive Proben, oder im Allgemeinen biologische Proben, ist es jedoch entscheidend, dass das Abbilden zerstörungsfrei ist. Es gilt die Faustregel, dass die Kräfte zwischen Spitze und Probe nicht größer als 100 pN sein dürfen [57, 58]. Eine Möglichkeit zur Umsetzung eines Nicht-Kontakt-Modus (nc, engl.: non-contact) besteht darin, den Sensor zum Schwingen anzuregen. Der übergeordnete Begriff ist die dynamische Rasterkraftmikroskopie. Dazu zählt die Amplitudenmodulations- (AM-) und die Frequenzmodulations-Rasterkraftmikroskopie (FM-AFM). Letztere wurde in dieser Arbeit verwendet und wird deshalb im Folgenden genauer erläutert.

2.2.1. Grundlagen

Im folgenden Abschnitt soll die Frequenzmodulations-Rasterkraftmikroskopie (FM-AFM) diskutiert werden, mit der die in den anschließenden Kapiteln vorgestellten Experimente durchgeführt wurden.

Bei der dynamischen Rasterkraftmikroskopie, und im Speziellen auch bei FM-AFM, wird der Sensor bei seiner Resonanzfrequenz zum Schwingen angeregt. In guter Näherung kann die Schwingung eines Federbalkens als getriebener harmonischer Oszillator beschrieben werden. Für sehr kleine Schwingungsamplituden A lässt sich näherungsweise ein konstanter Kraftgradient $k_{ts} := -\frac{\partial F_{ts}}{\partial z}$ annehmen. Die Bewegungsgleichung für den ungedämpften Fall lässt sich schreiben als

$$\ddot{z} + \frac{k^*}{m^*}z = \frac{F_0}{m^*} \cos(\omega t + \varphi), \quad (2.11)$$

mit der effektiven Federkonstante $k^* = k + k_{ts}$, der effektiven Masse m^* und der treibenden Kraft F_0 . Die Resonanzfrequenz des System ist folglich

$$f = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k^*}{m^*}} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k + k_{ts}}{m^*}}. \quad (2.12)$$

Es kann angenommen werden, dass $k_{ts} \ll k$ gilt und deshalb kann $f(k^*) = \sqrt{k^*}$ mit einer

2. Grundlagen der Rasterkraftmikroskopie

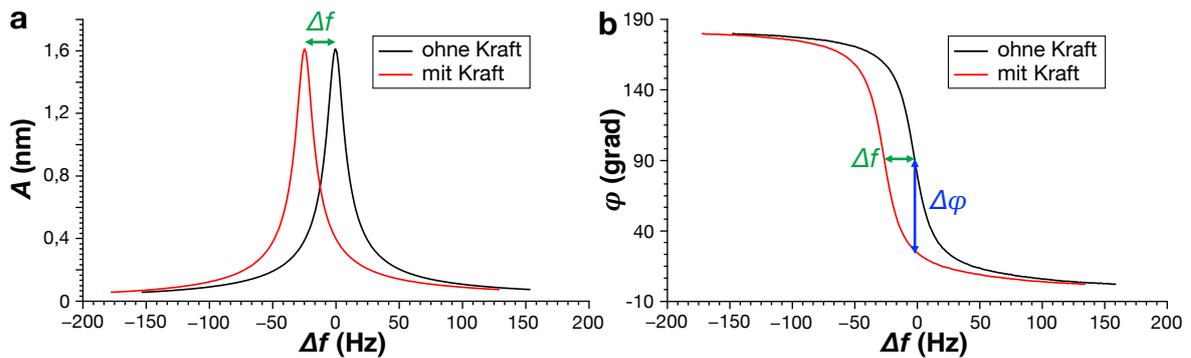


Abbildung 2.4.: Amplitude A (a) und Phase φ (b) bei der Resonanzfrequenz eines schwingenden Federbalkens. Die freie Schwingung ist dabei in schwarz dargestellt. Die Resonanzfrequenz f_0 kann bestimmt werden durch den bei f_0 bekannten Phasenunterschied $\Delta\varphi$ zwischen treibendem und gemessenem Signal von $\pi/2$. Wirkt eine Kraft, so verschiebt sich die Resonanzfrequenz um Δf . Die sich nun verschiebende Amplitudenantwort und Phase sind in roter Farbe dargestellt.

Taylorreihe bei k angenähert werden:

$$T(f(k^*), k) \approx \sqrt{k^*} \Big|_k + \frac{1}{2\sqrt{k^*}} \Big|_k (k^* - k) = \sqrt{k} + \frac{k_{ts}}{2\sqrt{k}}. \quad (2.13)$$

Die Resonanzfrequenz des Systems ist folglich

$$f = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k^*}{m^*}} = \underbrace{\frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m}}}_{=f_0} + \frac{1}{2\pi} \frac{k_{ts}}{2\sqrt{m^*k}} = f_0 + \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m^*}} \frac{k_{ts}}{2k}. \quad (2.14)$$

Die Resonanzfrequenz f_0 des ungestörten Systems wird somit bei einer wirkenden Kraft F_{ts} um eine Frequenz Δf verschoben. Für diese Frequenzverschiebung Δf gilt schließlich:

$$\Delta f = f - f_0 = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m^*}} \frac{k_{ts}}{2k} = f_0 \frac{k_{ts}}{2k}. \quad (2.15)$$

Dieser Ausdruck lässt sich auch unabhängig von der obigen Näherung für konstante Kraftgradienten k_{ts} auf beliebige erweitern, indem der zeitlich gemittelte Kraftgradient $\langle k_{ts} \rangle$ verwendet wird.

Die soeben hergeleitete Frequenzverschiebung dient bei FM-AFM als Messsignal. Die Frequenzverschiebung ist dabei proportional zum Kraftgradienten k_{ts} , sprich dem zweiten Gradienten des Potentials zwischen Spitze und Probe. In Abb. 2.2 (siehe Kap. 2.1.1) ist k_{ts} zusätzlich zu Potential und Kraft dargestellt. Anschaulich ist die Verschiebung der Resonanzfrequenz anhand zweier Resonanzkurven in Abb. 2.4a zu sehen. Die schwarze Kurve zeigt hier die ursprüngliche Amplitudenkurve. Wirkt eine Kraft, so verschiebt sich die Resonanzkurve, wie sie in Abb. 2.4 als rote Kurve eingezeichnet ist. Nimmt man an, dass die Frequenz f_{treibend} der treibenden Schwingung konstant bleibt, so ändert sich ebenfalls die Phasenbeziehung zwischen

dem anregenden und dem gemessenen Signal. Der Phasenverlauf in Abhängigkeit von der Frequenzverschiebung Δf ist in Abb. 2.4b dargestellt. Ferner kann die Amplitudenantwort eines bei der Frequenz f_{treibend} getriebenen gedämpften harmonischen Oszillators durch das Lösen der Differenzialgleichung mit dem Ansatz $z = e^{i\omega t}$ bestimmt werden kann. Es folgt folgender Zusammenhang [59]:

$$|A| = \frac{|A_{\text{treibend}}|}{\sqrt{(1 - f_{\text{treibend}}^2/f_0^2)^2 + \frac{f_{\text{treibend}}^2}{f_0^2 Q^2}}} . \quad (2.16)$$

Dabei ist A_{treibend} die treibende Amplitude, f_0 die Resonanzfrequenz des Sensors und Q die Güte der Schwingung. Die Güte Q ist dabei definiert als Relation zwischen der gesamten im Resonator gespeicherten Energie E und dem Energieverlust ΔE_{cycle} innerhalb einer Schwingungsperiode:

$$Q = 2\pi \frac{E}{\Delta E_{\text{cycle}}} . \quad (2.17)$$

Für den Phasenwinkel φ zwischen Anregungs- und Schwingungssignal ergibt sich in der Folge [59]:

$$\varphi = \arctan \left(\frac{f_{\text{treibend}}}{Q f_0 \left(1 - \frac{f_{\text{treibend}}^2}{f_0^2} \right)} \right) . \quad (2.18)$$

Sind die treibende Frequenz und die Resonanzfrequenz identisch, so beträgt der Winkel $\varphi = 90^\circ$. Mit diesem Zusammenhang lässt sich eine Regelschleife implementieren, die die treibende Frequenz solange anpasst bis $\varphi = 90^\circ$ gilt und so die Bestimmung der Frequenzverschiebung Δf ermöglicht.

Im weiteren Verlauf der Arbeit wird die Güte Q eine zentralere Rolle einnehmen. Sie kann dabei aus der Steigung der Phase bei $\Delta f = 0$ bestimmt werden, denn es gilt:

$$\frac{d\varphi}{df_{\text{treibend}}} = \frac{Q f_0 (f_0^2 + f_{\text{treibend}}^2)}{Q^2 (f_0^2 - f_{\text{treibend}}^2)^2 + f_0^2 f_{\text{treibend}}^2} \stackrel{f_{\text{treibend}}=f_0}{\downarrow} \frac{2Q}{f_0} . \quad (2.19)$$

Es wurde nun gezeigt, dass eine Kraft, welche auf eine oszillierende Spitze wirkt, die Resonanzfrequenz des Sensors verändert und die Frequenzverschiebung Δf bei der Frequenzmodulations-Rasterkraftmikroskopie das zu detektierende Signal darstellt. Es soll hier nun im Anschluss das Auflösungsvermögen diskutiert und ein Überblick über die einzelnen Rauschbeiträge gegeben werden.

2.2.2. Rauschen in der Frequenzmessung bei der Rasterkraftmikroskopie

Das Auflösungslimit der Rasterkraftmikroskopie wurde in den vergangenen Jahren deutlich verschoben. Insbesondere bei tiefen Temperaturen wurde gar subatomare Auflösung erreicht [51, 60, 61]. Dennoch ist die Auflösung durch unterschiedliche Faktoren limitiert. Im vorherigen Abschnitt wurde bereits ein Zusammenhang zwischen dem Kraftgradienten und der bei FM-AFM detektierten Frequenzverschiebung hergeleitet. Die bestmögliche Auflösung in der Frequenzmodulations-Rasterkraftmikroskopie ist deshalb begrenzt durch den minimal detektierbaren Kraftgradienten. Dieses Limit kann als Rauschen angesehen werden. Dieser minimale detektierbare Kraftgradient $\delta\langle k_{ts} \rangle_{\min}$ setzt sich aus dem Detektorrauschen $\delta k_{ts,\text{det}}$, dem thermischen Rauschen $\delta k_{ts,\text{th}}$ und dem Oszillatorrauschen $\delta k_{ts,\text{osz}}$ zusammen [62]. Da diese Beiträge stochastisch unabhängig sind, lässt sich $\delta\langle k_{ts} \rangle_{\min}$ schreiben als [63]

$$\delta\langle k_{ts} \rangle_{\min} = \sqrt{\delta k_{ts,\text{th}}^2 + \delta k_{ts,\text{det}}^2 + \delta k_{ts,\text{osz}}^2}. \quad (2.20)$$

In den kommenden Abschnitten werden die individuellen Rauschbeiträge nun genauer diskutiert.

Thermisches Rauschen

Nach dem Gleichverteilungssatz besitzt im thermischen Gleichgewicht jeder Freiheitsgrad des Systems die Energie $\frac{1}{2}k_B T$. Die Schwingungsenergie bei einer Amplitude A , die im Federbalken der Steifigkeit k gespeichert ist, ist durch $\frac{1}{2}kA^2$ gegeben. Zufällige thermische Vibrationen des Sensors führen zu einem Rauschen der Rauschdichte [64]

$$n_{\Delta f,\text{th}} = \sqrt{\frac{k_B T f_0}{\pi k A^2 Q}}, \quad (2.21)$$

mit der Boltzmann-Konstante k_B , der Temperatur T und der Güte Q .

Das zugehörige Frequenzrauschen δf_{th} lässt sich berechnen indem über die Modulationsfrequenz f_{mod} integriert wird:

$$\delta f_{\text{th}} = \sqrt{\int_0^B n_{\Delta f,\text{th}}^2 df_{\text{mod}}} = \sqrt{\frac{k_B T f_0 B}{\pi k A^2 Q}}. \quad (2.22)$$

Die obere Integrationsgrenze ist hier durch die Bandbreite B der Messung definiert.

In Bezug auf das thermische Rauschen im Kraftgradienten $\delta k_{ts,\text{th}}$ folgt mit Gl. (2.15):

$$\delta k_{ts,\text{th}} = \delta f_{\text{th}} \frac{2k}{f_0} = \sqrt{\frac{4k k_B T B}{\pi f_0 A^2 Q}} \propto \sqrt{\frac{1}{Q}}. \quad (2.23)$$

Detektorrauschen

Das Messen der Auslenkung des Federbalkens ist ebenso rauschbehaftet. Die Auslenkungsrauschdichte n_q eines schwingenden Sensors kann geschrieben werden als

$$n_q = \frac{n_{el}}{S_V}, \quad (2.24)$$

mit der elektrischen Rauschdichte n_{el} und der Sensitivität S_V , die als generierte Ausgangsspannung des Verstärkers V pro Amplitude A definiert ist. Die experimentelle Kalibrierung der Amplitude und Bestimmung von n_q wird genauer im Kap. 3.1.1 diskutiert.

Dieser Fehler in der Amplitudenmessung setzt sich in der Messung der Periodendauer einer Schwingung und somit auch in der Messung der Phase zwischen Anregungssignal und Messsignal fort. Die Detektorrauschdichte $n_{\Delta f, \text{det}}$ ist somit gegeben durch [5]

$$n_{\Delta f, \text{det}} = \sqrt{2} \frac{n_q}{A} f_{\text{mod}}. \quad (2.25)$$

Daraus ergibt sich für das Frequenzrauschen

$$\delta f_{\text{det}} = \sqrt{\int_0^B n_{\Delta f, \text{det}}^2 df_{\text{mod}}} = \sqrt{\frac{2}{3} \frac{n_q B^{\frac{3}{2}}}{A}}. \quad (2.26)$$

Für den Kraftgradienten folgt schließlich

$$\delta k_{\text{ts, det}} = \sqrt{\frac{8}{3} \frac{k n_q B^{\frac{3}{2}}}{f_0 A}}. \quad (2.27)$$

Oszillatorrauschen

Ein weitere Rauschursache kommt durch die fehlerbehaftete Phasenmessung zustande, da bei FM-AFM der Sensor mit seinem um 90° phasenverschobenen Signal getrieben wird. Die Rauschdichte ist hierbei gegeben durch [62]

$$n_{\Delta f, \text{osz}} = \frac{f_0 n_q}{\sqrt{2} A Q}. \quad (2.28)$$

Das Frequenzrauschen errechnet sich deshalb mit

$$\delta f_{\text{osz}} = \sqrt{\int_0^B n_{\Delta f, \text{osz}}^2 df_{\text{mod}}} = \frac{f_0 n_q \sqrt{B}}{\sqrt{2} A Q}. \quad (2.29)$$

Daraus resultiert ein Rauschen des Kraftgradienten, welches gegeben ist durch

$$\delta k_{\text{ts, osz}} = \frac{k n_q \sqrt{2} B}{A Q} \propto \frac{1}{Q}. \quad (2.30)$$

2. Grundlagen der Rasterkraftmikroskopie

Im Kap. 4 wird sich nochmals zeigen, dass dieser Rauschbeitrag v.a. bei niedrigen Güten eine größere Rolle spielt, wie beispielsweise bei AFM-Messungen in Flüssigkeiten.

Zusammenfassend ist das Rauschen bei der Frequenzmodulations-Rasterkraftmikroskopie sowohl abhängig von Sensoreigenschaften, wie f_0 , k , n_q und Q , als auch von gewählten Einstellungen im Messbetrieb, wie A oder B . Die Details des Messbetriebes sollen nun im kommenden Abschnitt erklärt werden.

2.2.3. Betriebsmodi im Vergleich

Die Frequenzmodulations-Rasterkraftmikroskopie ist, wie bereits erwähnt, eine Betriebsart der dynamischen Rasterkraftmikroskopie. Ein Sensor mit Spitze wird zum Schwingen angeregt und eine Wechselwirkung zwischen Spitze und Probe führt zu einer messbaren Frequenzverschiebung. In diesem Abschnitt werden die etwaigen Regelschleifen und Möglichkeiten des Messbetriebes genauer diskutiert.

In Abb. 2.5a ist eine schematische Zeichnung des experimentellen Aufbaus und der Regeleinheit dargestellt. Es ist ein sogenannter qPlus Sensor mit Spitze dargestellt, welcher von einer Feinpositioniereinheit, hier ein Piezo-Scanner, über eine Probe gerastert wird. Die Details zur piezoelektrischen Detektion des qPlus Sensors sind im Kap. 3.1 zu finden. Vor der Regeleinheit wird das vom Sensor kommende Signal nochmals mit einem Vorverstärker erhöht. Die theoretische Beschreibung durch einen getriebenen harmonischen Oszillator im Abschnitt 2.2.1 hat bereits gezeigt, dass die Phasenbeziehung zwischen dem treibenden Signal und dem gemessenen Signal des Sensors, zur Bestimmung der Frequenzverschiebung Δf verwendet werden kann. Hintergrund ist, dass der Phasenunterschied bei der Resonanzfrequenz gleich 90° beträgt. Eine solche Phasenregelschleife wird als PLL (engl.: phase-locked loop) bezeichnet. Außerdem wird über einen Lock-in-Verstärker die Amplitude bestimmt und mit einem Sollwert verglichen. Typischerweise wird von Frequenzmodulations-Rasterkraftmikroskopie gesprochen, wenn der Sensor nicht nur bei der aktuellen Resonanzfrequenz getrieben wird, sondern gleichzeitig auch die Amplitude konstant gehalten wird. Die Anregung kann beispielsweise mechanisch über einen Aktuator geschehen, wie er in Abb. 2.5a eingezeichnet ist.

Um eine topographische Karte einer Probenoberfläche abzubilden, muss zum einen die Spitze über die Probe gerastert werden und zum anderen eine Höhenregelung durch eine Rückkopplungsschleife erreicht werden. Die Höhenregelung kann durch das Konstanthalten eines Δf -Sollwerts geschehen oder bei kombinierter Rasterkraft- und Rastertunnelmikroskopie durch einen Tunnelstrom-Sollwert. Das Prinzip ist dabei in Abb. 2.5b skizziert. Die Spitze rastert hier entlang der x -Achse die Probe ab und folgt dabei der roten Linie. Angedeutet ist im Bild ebenso, dass topographische Karten, hier durch die Spitzentrajektorie dargestellt, von der Realität abweichen können. Besonders flache oder stumpfe Spitzengeometrien führen zu verschmierten Rändern an den Stufenkanten einer Probe und diese werden so im AFM-Bild breiter als in der Realität dargestellt.

Eine weitere Möglichkeit ist, die Probe abzurastern und dabei die Höhe der Spitze, sprich die

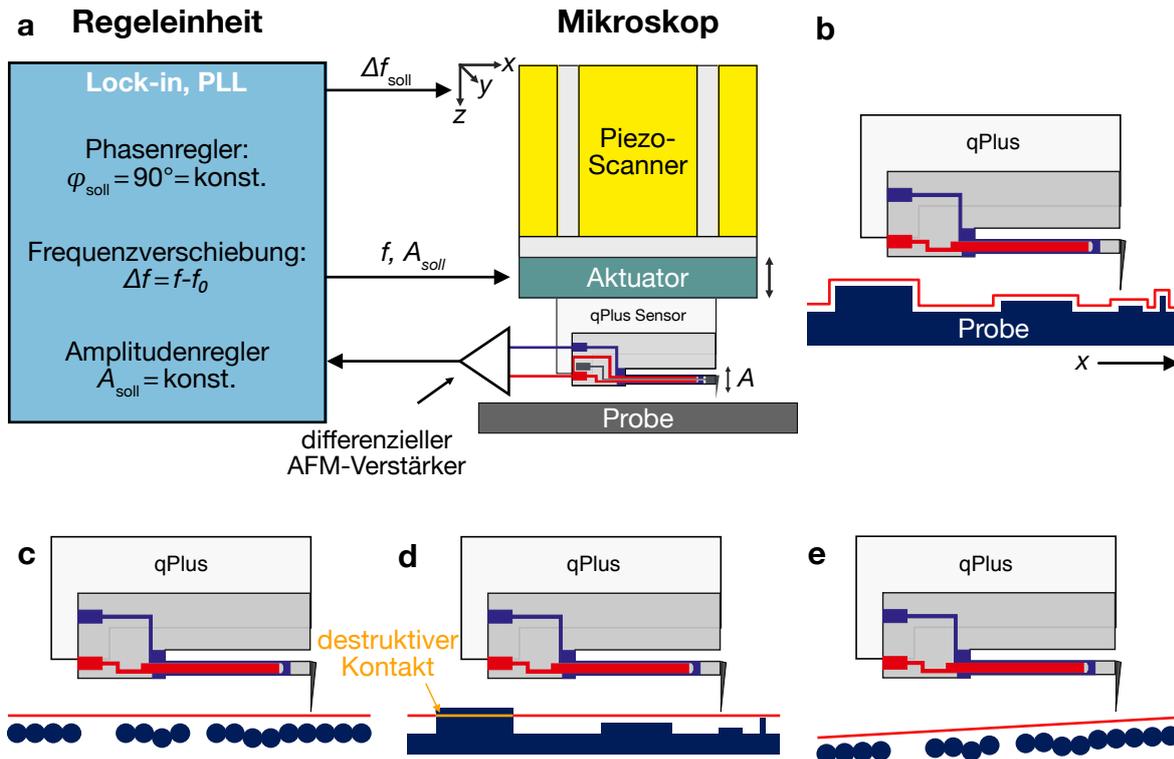


Abbildung 2.5.: Funktionsprinzip und Betriebsmodi der Frequenzmodulations-Rasterkraftmikroskopie. (a) Schematische Zeichnung von Mikroskop und Regeleinheit, inklusive der gemessenen Variablen. (b) Darstellung der Messung im topographischen Modus. Die Höhenregelung wird durch eine konstant gehaltene Frequenzverschiebung realisiert. Die Bewegung der Spitze ist durch die rote Linie eingezeichnet. (c) Modus der konstanten Höhe. Die z -Position der Spitze bleibt unverändert und ein Kontrast in Δf wird detektiert. (d) Modus der konstanten Höhe bei Proben mit starker Korrugation. Es kann ein destruktiver Kontakt zwischen Spitze und Probe auftreten, welcher orange markiert ist. (e) Abrastern der Probe in quasi-konstanter Höhe. Die Höhenregelung kompensiert hier nur eine leichte Verkipfung oder die thermische Drift. Der Signalkontrast wird im Δf -Kanal sichtbar.

z -Position, nicht zu verändern. Eine schematische Zeichnung ist in Abb. 2.5c zu sehen. Der Kontrast der Messung ergibt sich durch positionsabhängige Unterschiede in der Wechselwirkung zwischen Spitze und Probe und ist im Δf -Kanal sichtbar. Hier wird nochmals deutlich, dass vor allem die kurzreichweitigen Kräfte den Kontrast erzeugen, da sich die langreichweitigen Kräfte nur bedingt bei einer lateralen Positionsänderung unterscheiden. Dieser Modus wird häufig verwendet, um atomaren Kontrast zu erreichen. Ursächlich ist, dass im topographischen Modus eine weitere Rückkopplungsschleife notwendig ist und diese v.a. bei Messungen an Luft den Kontrast verschlechtert. Um in konstanter Höhe über eine Probenoberfläche rastern zu können, muss zum einen die Probenoberfläche flach sein und zum anderen darf die thermische Drift nicht zu stark sein. Letztere könnte dazu führen, dass sich Probe und Spitze ungewollt annähern und destruktiv wechselwirken. Eine Deformation oder Destruktion von Spitze oder Probe kann auch auftreten, wenn beispielsweise in konstanter Höhe über eine größere Stufe

2. Grundlagen der Rasterkraftmikroskopie

gemessen wird. Dies ist in Abb. 2.5d nochmals veranschaulicht. Eine geringe Korrugation der Probe oder eine thermische Drift kann durch den Modus der quasi-konstanten Höhe kompensiert werden. Bei diesem Modus wird die Rückkopplungsschleife so langsam eingestellt, dass die Spitze nur bedingt der Topographie der Probe folgt. Die Kompensation ist aber im Idealfall so eingestellt, dass in nahezu konstanter Höhe über die Probe gerastert wird, wie dies in Abb. 2.5e dargestellt ist.

Außerdem soll an dieser Stelle noch die Amplitudenmodulations-Rasterkraftmikroskopie (AM-AFM) Erwähnung finden. Bei diesem Modus wird die Anregungsfrequenz konstant gehalten. Wird nun, wie zuvor beschrieben, die Resonanzfrequenz durch eine wirkende Kraft verschoben, so ergibt sich damit eine Änderung der Amplitude. Bei AM-AFM kann eine Höhenregelung durch einen Amplituden-Sollwert umgesetzt werden. Dieser Modus wird häufig in Kombination mit weichen Silizium-Sensoren verwendet. Da diese bei einer zu starken Attraktion Gefahr laufen zur Probe zu springen, wird hier in der Regel mit Amplituden > 1 nm gearbeitet. Für ein optimales Signal-Rausch-Verhältnis wären Amplituden in der Größenordnung der Abklinglänge der zu messenden Kräfte vonnöten [65]. Um bei großen Amplituden dennoch möglichst sensitiv zu kurzreichweitigen Kräften zu sein, wird häufig ein intermittierender Modus verwendet. Bei diesem ist die Spitze für kurze Zeit im Kontakt mit der Probe, um so verstärkt eine Pauli-Repulsion detektieren zu können. Dieser Modus wird meist als „Tapping“-Modus (dt. Klopfen) bezeichnet. Dieser Modus wird hier erwähnt, da im weiteren Verlauf der Arbeit sowohl Messungen in Flüssigkeiten durchgeführt werden als auch biologische Proben abgebildet werden. Typischerweise wird beides bisher meist mit weichen Silizium-Sensoren mit AM-AFM und Tapping-Modus durchgeführt. In dieser Arbeit soll gezeigt werden, dass dies auch mit steifen qPlus Sensoren und FM-AFM möglich ist.

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

In diesem Kapitel sollen nun die experimentellen Instrumente und Methoden vorgestellt werden. Die Messungen, welche in dieser Arbeit gezeigt werden, wurden ausschließlich mit selbst aufgebauten Rasterkraftmikroskopen durchgeführt. Ebenso wurden die qPlus Sensoren nicht als komplette Einheiten kommerziell bezogen, sondern eigenhändig hergestellt. Der erste Abschnitt dieses Kapitels wird deshalb detailliert die qPlus Sensoren behandeln und deren Bau erläutern. Auf die Bestimmung der Steifigkeit und Sensitivität soll dabei ebenso eingegangen werden, wie auf die Wahl des Spitzenmaterials. Bei letzterer wird der Fokus auf den verwendeten Saphir-, Wolfram- und Platin-Iridium-Spitzen liegen.

Neben der Schwingung in der ersten Biegemode können auch höhere Biegemoden der Quarzstimmgabel angeregt werden [10, 66]. Ihre Schwingungseigenschaften werden ebenso kurz aufgezeigt. In Ref. [67] wurde bereits gezeigt, dass mittels der simultanen Verwendung zweier Biegemoden das Rasterkraftmikroskop verwendet werden kann, um Ultrakurzzeitoptik mit hoher räumlicher Auflösung zu verknüpfen. Ferner hat die Rasterkraftmikroskopie an Luft mit qPlus Sensoren bereits in mehreren Studien gezeigt, dass atomare Auflösung auf verschiedenen Proben (u.a. Muskovit, Kaliumbromid, Graphit und Calcit) möglich ist [9, 13, 14, 16]. So war es ein Ziel dieser Arbeit, ein Konzept eines Lichtfeld-induzierten AFMs mittels qPlus Sensoren zu entwickeln. Später im Kap. 6 werden wir sehen, dass eine Biegemode des schwingenden Federbalkens zur Höhenregelung verwendet werden kann und eine andere zur Detektion von optisch induzierten Prozessen. Um ein derartiges Konzept der Kombination von Rasterkraftmikroskopie mit Optik zu ermöglichen, bedarf es eines angepassten Mikroskop-Designs. Die typischerweise an Luft verwendeten AFMs sind zu einem Großteil Mikroskope, die ursprünglich für den Einsatz in Vakuumkammern konzipiert sind und deshalb nur einen eingeschränkten optischen Zugang haben. Aus diesem Grund wurde ein neues Mikroskop-Design erstellt, das sich besonders durch einen guten optischen Zugang hervorhebt. Ein großer Abschnitt wird deshalb den Aufbau des Mikroskops beschreiben und dessen Auflösungsvermögen diskutieren. Außerdem ermöglicht der zugängliche Aufbau des AFMs die Kombination mit einem Lichtmikroskop und erlaubt so eine bessere Positionierung der AFM-Spitze, insbesondere auf kleinen Proben ($< 0,1 \text{ mm} \times 0,1 \text{ mm}$).

Abschließend wird in diesem Kapitel die Erweiterung eines bestehenden AFM-Designs zur Abbildung in Flüssigkeiten gezeigt. Die Änderungen sind dahingehend notwendig, da ein Hauptaugenmerk dieser Dissertation auf der Abbildung von biologischen Proben liegt und diese bedürfen häufig einer wässrigen physiologischen Umgebung.

3.1. Der qPlus Sensor: Aufbau, Charakterisierung und Spitzenmaterialien

Ein wichtige Rolle in der Rasterkraftmikroskopie stellt der verwendete Sensor dar. Insbesondere bei der Rasterkraftmikroskopie an Luft und bei Raumtemperatur werden bisher in der Regel Sensoren auf Basis von Silizium-Federbalken verwendet. Diese unterscheiden sich von den hier verwendeten qPlus Sensoren nicht nur in der Steifigkeit, sondern auch im Detektionsmechanismus. Die Silizium-Federbalken weisen meist eine Steifigkeit zwischen 0,1 N/m bis 50 N/m auf. Die Auslenkung des Federbalkens wird dabei meist optisch mittels eines Lichtzeigers detektiert, wie in Abb. 3.1a skizziert.

Der qPlus Sensor, in seiner ursprünglichen Form, besteht aus einer Quarzstimmgabel, die auf einem Substrat (einer im Vergleich sehr großen Masse) so aufgeklebt wird, dass nur ein Balken der Stimmgabel frei schwingen kann (siehe Abb. 3.1b). Ein Sensor dieser Form wurde 1996 von Prof. Gießibl entwickelt und patentiert [68]. Die qPlus Sensoren der neueren Generationen (in Ref. [5] als 3. und 4. Generation bezeichnet) wurden u.a. dahingehend verändert, dass im Vergleich zur herkömmlichen Stimmgabel eine zweite Zinke fehlt. Diese wurde durch eine breite Fläche ersetzt, was ein leichteres Aufkleben der Sensoren ermöglicht. Zudem existieren von den neueren qPlus Sensoren zwei Fabrikate S und M. Von beiden Fabrikaten sind nochmals mehrere Subtypen vorhanden, welche in Tab. 3.1 aufgeführt sind.

Eine Darstellung des Typs S1.0d findet sich in Abb. 3.1c. Dieser stellt den, bezüglich seiner Schwingungseigenschaften (Resonanzfrequenz und Steifigkeit), äquivalenten Sensor zur häufig verwendeten Stimmgabel E158¹ dar [5]. Soll neben der Rasterkraftmikroskopie simultan ein Tunnelstrom aufgezeichnet werden, so ist es notwendig die Spitze zu kontaktieren. Bei der gezeigten Stimmgabel (b) und dem S1.0d (c) wird hierfür typischerweise die Spitze über einen zusätzlichen Golddraht kontaktiert. Dieser dämpft die Schwingung und verringert häufig die Güte Q des Sensors. Ein Derivat des S1.0d ist der S1.0 Sensor (siehe Abb. 3.1d). Dessen Design kommt hingegen ohne den Golddraht aus, da hier die Elektrodenanordnung angepasst wurde. Die Elektrode AFM 2, welche in der Abb. 3.1 rot eingezeichnet ist, wurde aufgespalten. Durch ihre Mitte läuft jetzt eine weitere Elektrode bis zum Ende des Balkens. Diese ist in Abb. 3.1d grau eingezeichnet und wird häufig als STM Elektrode bezeichnet. Es können jedoch auch weitere Stromsignale, beispielsweise hervorgerufen durch eine elektrochemische Reaktion, aufgezeichnet werden, was im weiteren Verlauf des Kapitels gezeigt wird. Neben der Messung von Strömen kann die Mittelelektrode auch zur elektrischen Anregung verwendet werden. Dabei wird der inverse piezoelektrische Effekt ausgenutzt [69, 70]. Der Vollständigkeit halber soll erwähnt werden, dass Sensoren der sogenannten vierten Generation existieren, die eine weitere Mittelelektrode auf der gegenüberliegenden Seite haben, welche speziell im Hinblick auf elektrische Anregung ergänzt wurde. Alle im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Sensoren sind in Tab. 3.1 aufgelistet. Sie unterscheiden sich in ihren Schwingungseigenschaften u.a. durch eine

¹Micro Crystal AG, CH-2540 Grenchen, Schweiz.

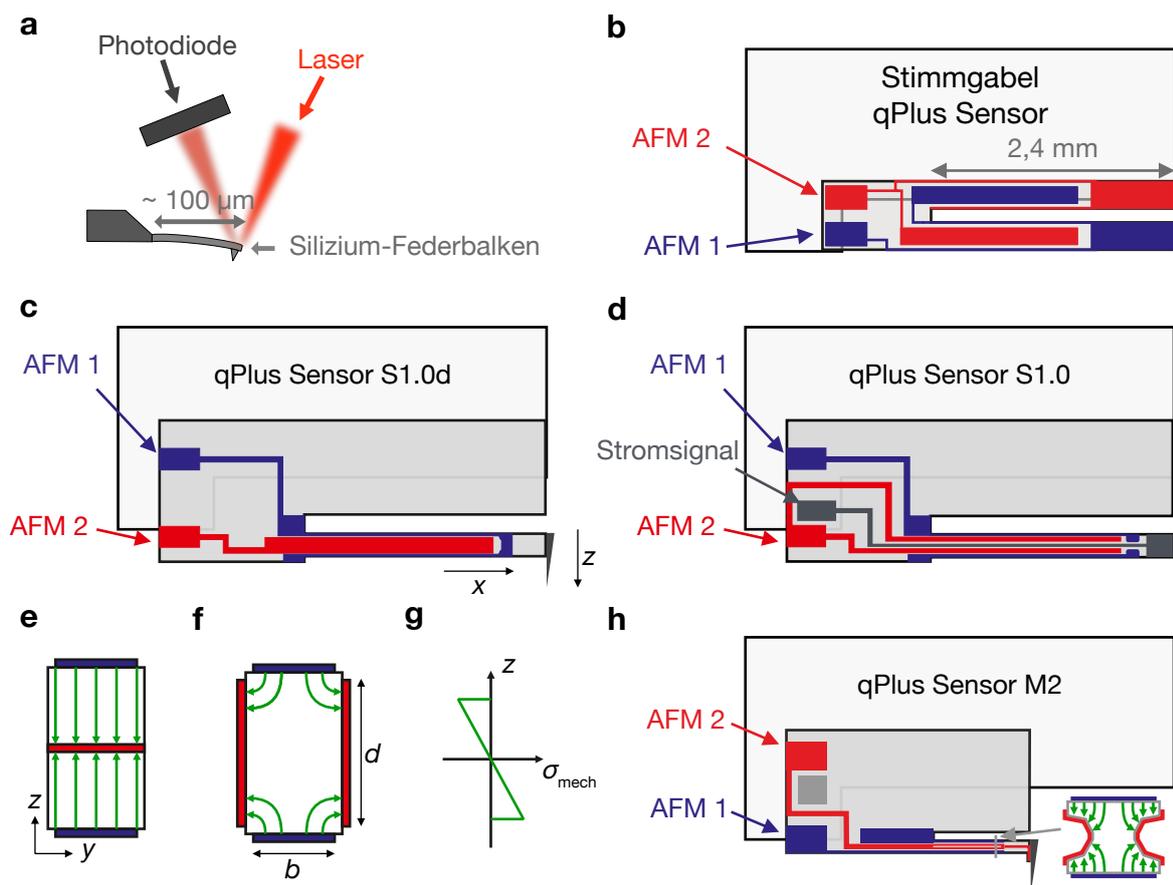


Abbildung 3.1.: Aufbau und Vergleich von unterschiedlichen Sensoren zur Rasterkraftmikroskopie. (a) Silizium-Federbalken mit optischer Detektion der Auslenkung. (b) Beispielhafte Darstellung eines qPlus Sensors der ersten und zweiten Generation. Eine Zinke einer Quarzstimmgabel ist auf einem Substrat aufgeklebt, so dass nur eine Zinke schwingt. (c) Zeichnung des qPlus Sensors S1.0d der dritten Generation, bei dem die aufzuklebende Zinke einer breiteren Fläche ohne Elektroden gewichen ist. (d) Der qPlus Sensor S1.0 unterscheidet sich vom Sensor S1.0d (c) durch eine hinzugefügte Mittelelektrode, welche das Kontaktieren der Spitze ermöglicht. (e) Idealisierter Feldverlauf im Querschnitt des schwingenden Balkens. (f) Schematische Darstellung der realisierten Elektrodenanordnung mit elektrischem Feldverlauf. (g) Mechanische Spannung σ_{mech} entlang der z -Achse im Querschnitt des Balkens. (h) Darstellung des qPlus Sensor M2 der dritten Generation. Der Querschnitt des Balkens zeigt die eingezätzte Wanne, welche zu einem verbesserten Feldverlauf führt.

unterschiedliche Steifigkeit und Resonanzfrequenz. Im Kap. 2.2.2 wurde bereits das Rauschen in der Frequenzmodulations-Rasterkraftmikroskopie thematisiert. Es wurde gezeigt, dass dieses mit $\frac{k}{f_0}$ skaliert. Dies bedeutet, dass eine hohe Resonanzfrequenz und eine geringe Steifigkeit zu einem geringeren Rauschen führen. In den folgenden Abschnitten werden zunächst die Steifigkeit, die Sensitivität und die Kalibrierung der Amplitude behandelt. Im Zuge dessen wird auch der Verlauf des elektrischen Feldes im Balken der qPlus Sensoren (siehe Abb. 3.1e-g) erklärt und hier der Unterschied zu den Sensoren des Typs M thematisiert. Im Anschluss

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

Typ	f_0 (kHz)	Länge (μm)	Dicke (μm)	Breite (μm)	k (kN/m)
S1.0	33,1	2360	214	127	1,8
S1.0d	33,1	2360	214	127	1,8
S0.8	51,7	1890	214	127	3,5
S0.6	92,0	1420	214	127	8,3
S0.4	206,8	945	214	127	28,0
M1	41,0	1600	120	130	1,1
M2	67,1	1200	120	130	2,5
M3	105,0	1000	120	130	4,4
M4	73,3	1000	90	130	1,8
M5	105,0	1000	120	130	4,4

Tabelle 3.1.: Auflistung der Resonanzfrequenz, Balkenlänge, Dicke, Breite und Steifigkeit für die verwendete Generation der qPlus Sensoren. Die Resonanzfrequenz und die Steifigkeit sind hier für eine freie Schwingung ohne Spitze bestimmt. Werte sowohl experimentell (und mittels Gl. (3.3)) bestimmt als auch nach Ref. [5].

wird gezeigt, dass die Sensoren auch in höheren Biegemoden schwingen können und es werden die veränderten Eigenschaften der höheren Eigenmoden diskutiert. Zum Abschluss dieses Abschnitts wird noch der Bau von qPlus Sensoren erläutert und die Wahl des Spitzenmaterials diskutiert.

3.1.1. Steifigkeit, Sensitivität und Kalibrierung der Amplitude

In diesem Abschnitt soll zunächst die Berechnung und Bestimmung der Steifigkeit von Federbalken erläutert werden. Diese ist wichtig für die Kalibrierung der Amplitude, denn zunächst ist die Schwingungsamplitude, bedingt durch die elektrische Signaldetektion, einzig durch eine gemessene Spannung bestimmt. Nach der Euler–Bernoulli Balkentheorie kann die Steifigkeit k für einen rechtwinkligen Balken berechnet werden durch [5]

$$k = \frac{E_Y \cdot b \cdot d^3}{4 \cdot L^3}, \quad (3.1)$$

mit der Elastizitätskonstante E_Y (auch Youngscher Modulus genannt), der Dicke d , der Breite b und der Länge L . Dies zeigt, dass die Steifigkeit invers mit der dritten Potenz der Länge einhergeht. Der Tab. 3.1 kann entnommen werden, dass sich die qPlus Sensoren des Typs S meist in der Länge unterscheiden und deshalb auch eine andere Steifigkeit haben.

Für die Resonanzfrequenz f_0 eines harmonischen Oszillators gilt :

$$f_0 = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m^*}}, \quad (3.2)$$

mit der effektiven Masse m^* . Für rechtwinklige Balken ist diese $m^* = 0,2427 \cdot m_{\text{tot}}$, wobei m_{tot} die totale Masse ist [71]. Ein unterschiedliche Balkenlänge der Sensoren ergibt in der Folge auch eine neue Resonanzfrequenz, welche invers zur quadratischen Länge ist.

3.1. Der qPlus Sensor: Aufbau, Charakterisierung und Spitzenmaterialien

Da sowohl die Resonanzfrequenz als auch die Masse durch das Abmessen der Balkengeometrie einfach experimentell zugängliche Größen sind, können diese zur Berechnung der Steifigkeit verwendet werden. Nach Gl. (3.2) gilt deshalb folgender Zusammenhang:

$$k = 0,972 \cdot \rho \cdot L \cdot b \cdot d \cdot \pi^2 \cdot f_0^2 . \quad (3.3)$$

Dabei ist $\rho = 2650 \text{ kg/m}^3$ die Massendichte von Quarz. Zu beachten ist, dass eine an das Balkenende aufgeklebte Spitze einen nicht zu vernachlässigenden Effekt auf die Steifigkeit hat. In Ref. [5] wurde deshalb ein Korrekturfaktor $L^3/(L + a/2)^3$ verwendet, wobei a der Durchmesser der Spitze ist.

Bei qPlus Sensoren, oder Quarzstimmgabeln im Allgemeinen, kann die Auslenkung mittels des piezoelektrischen Effekts gemessen werden. Die Sensitivität S_q beschreibt dabei die erzeugte Ladung pro Auslenkung und hat in Kombination mit dem AFM-Vorverstärker zudem direkten Einfluss auf das Signal-Rausch-Verhältnis. Durch die Bestimmung der Sensitivität kann ferner auch die Größe der Schwingungsamplitude angegeben werden. Die experimentellen Details der Kalibrierung der Amplitude werden im weiteren Verlauf dieses Abschnitts erläutert. Zunächst soll der theoretische Zusammenhang für die Sensitivität S_q hergeleitet werden. Wenn die Zinke des qPlus Sensors durch eine Kraft F ausgelenkt wird, so gilt für die Dehnung ϵ auf der (oberen) Balkenoberfläche ($z = d/2$) in Abhängigkeit des Ortes x [5]:

$$\epsilon(x, z = d/2) = \frac{d \cdot F \cdot (x - L)}{2 \cdot E_Y \cdot I} , \quad (3.4)$$

wobei $I = \frac{d^3 b}{12}$ das Flächenträgheitsmoment des Balkens ist. Für die erzeugte mechanische Spannung σ_{mech} gilt:

$$\sigma_{\text{mech}} = \epsilon \cdot E_Y . \quad (3.5)$$

Dieser führt zu folgender Oberflächenladungsdichte σ_{Ladung} :

$$\sigma_{\text{Ladung}} = \sigma_{\text{mech}} \cdot d_{21} . \quad (3.6)$$

Hierbei ist $d_{21} = 2,31 \times 10^{-12} \text{ C/N}$ die piezoelektrische Konstante von Quarz [5, 72]. Außerdem entsteht auf der Unterseite des Balkens die gleiche Ladung, da in diesem Fall sowohl ϵ als auch die z -Komponente ein umgekehrtes Vorzeichen haben. In Abb. 3.1e ist der ideale Fall des Feldlinienverlaufs im Querschnitt des Balkens gezeigt. Die Dipolmomente weisen demnach in der oberen und unteren Hälfte in die entgegengesetzte Richtung. Ursächlich ist hierfür, dass bei einer Auslenkung des Balkens eine Hälfte gestreckt und die andere gestaucht wird, wie im Spannungsverlauf in Abb. 3.1g gezeigt ist. Im idealen Fall wäre deshalb eine Elektrode im Inneren des Balkens notwendig, welche in Abb. 3.1e rot eingezeichnet ist. Da dies schwer umzusetzen ist, ist eine gängige Lösung, Elektroden auf den beiden freien Seitenflächen

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

aufzubringen. Sie sind in Abb. 3.1 in roter Farbe gezeichnet und stellen Äquipotentialflächen dar. Deshalb ergibt sich in der Realität ein elektrischer Feldverlauf wie er in Abb. 3.1f dargestellt ist. Die jeweils gegenüberliegenden Seitenflächen (gleiche Farbe in Abb. 3.1) haben ebenfalls ein gleiches Ladungsvorzeichen, jedoch invers zu dem anderen Elektrodenpaar (blau, bzw. rot). Typischerweise findet deshalb eine Einteilung in die Kanäle AFM 1 (blau) und AFM 2 (rot) statt. Ergänzend soll erwähnt werden, dass die Sensoren des Typs M eine veränderte Geometrie haben, um einen idealeren Feldverlauf zu erreichen. Dabei ist die Form einer Wanne in den Balken geätzt, wie am Beispiel des M2 Sensors in Abb. 3.1h gezeigt ist. Zur theoretischen Berechnung der Sensitivität S_q wird zunächst ein idealisiertes homogenes elektrisches Feld, wie in Abb. 3.1e, angenommen. Die gesamte Oberflächenladung q wird dann durch Integration von σ_{Ladung} über die Fläche der Goldelektrode gewonnen. Wie bereits beschrieben, entsteht auf der Oberseite und Unterseite die gleiche Ladung. Folglich muss die Ladung einer Elektrode verdoppelt werden, um auf die Gesamtladung zu schließen. Mit Gl. (3.4)-(3.6) und $F = k \cdot z$ folgt für die Ladung q :

$$q = 2 \cdot \int_0^{L_e} dx \int_{-b/2}^{b/2} dy \sigma_{\text{Ladung}} = \frac{12 \cdot d_{21} \cdot k \cdot z \cdot L_e(L - L_e/2)}{d^2}, \quad (3.7)$$

wobei L_e die Länge der Elektroden ist.

Für die Sensitivität S_q gilt:

$$S_q = \frac{q}{z} = \frac{12 \cdot d_{21} \cdot k \cdot L_e(L - L_e/2)}{d^2}, \quad (3.8)$$

mit der zeitabhängigen Auslenkung $z = A \cos(2\pi ft)$.

Es gilt jedoch auch zu beachten, dass die Grundlage dieser Berechnung ein idealer homogener Feldverlauf (siehe Abb. 3.1e) ist und die experimentell bestimmte Sensitivität für qPlus Sensoren in der Regel nur die Hälfte der theoretischen erreicht [5]. Überdies ist bei den hier aufgeführten Formeln die Annahme getroffen, dass in dieser Näherung nur eine Kraft am Balkenende wirkt und im Balkenquerschnitt die Spannung homogen verteilt ist.

Der nächste Abschnitt wird nun die experimentelle Bestimmung des Kalibrierfaktors der Amplitude behandeln.

Experimentelle Kalibrierung der Amplitude und Bestimmung der Auslenkungsrauschdichte

Im vorherigen Abschnitt wurde ein Zusammenhang zwischen der Auslenkung des Federbalkens und der erzeugten Ladung hergestellt. Der bei der dynamischen Rasterkraftmikroskopie erzeugte Wechselstrom wird mittels eines Vorverstärkers in eine Wechselspannung umgewandelt. Der Aufbau eines differentiellen Transimpedanzverstärker wird im Kap. 3.2.4 gezeigt. Technische Details sind für die Auswertung hier nur begrenzt wichtig. Entscheidend ist die Sensitivität S_V , welche die generierte elektrische Spannung pro Auslenkung des Federbalkens für das

3.1. Der qPlus Sensor: Aufbau, Charakterisierung und Spitzenmaterialien

kombinierte System aus Vorverstärker und AFM-Sensor beschreibt. Theoretisch kann S_V angegeben werden mit

$$S_V = G \cdot 2 \cdot \pi \cdot f \cdot S_q, \quad (3.9)$$

wobei G der Verstärkungsfaktor des Vorverstärkers ist. Experimentell besteht die Möglichkeit, S_V durch das Messen der spektralen Leistungsdichte eines thermisch angeregten Sensors mittels eines FFT-Spektrumanalysators zu bestimmen [73]. Nach dem Gleichverteilungssatz kann die thermisch angeregte Amplitude $A_{\text{th,RMS}}$ durch das Gleichsetzen der potentiellen Energie eines harmonischen Oszillators und der thermischen Energie bestimmt werden:

$$\frac{1}{2}kA_{\text{th,RMS}}^2 = \frac{1}{2}k_B T. \quad (3.10)$$

Bei Raumtemperatur ($T = 300 \text{ K}$) ist damit die effektive Amplitude eines S1.0 Sensors, mit einer Steifigkeit von $k = 1,8 \text{ kN/m}$, gleich $A_{\text{th,RMS}} = 1,5 \text{ pm}$.

Zur experimentellen Kalibrierung der Amplitude ist es notwendig sicherzustellen, dass eine rein thermische Anregung des Sensors gewährleistet ist. Dabei kann es u.a. notwendig sein, die mechanische Anregung auf das Referenzpotential des Mikroskops zu setzen, da die an den Aktuator angeschlossene Spannungsversorgung nicht frei von Rauschen ist. Die mit einem FFT-Spektrumanalysator gemessene totale spektrale Leistungsdichte $n_V^2(f)$ setzt sich aus der thermischen spektralen Leistungsdichte $n_{\text{th}}^2(f)$ und der elektrischen spektralen Leistungsdichte $n_{\text{el}}^2(f)$ zusammen. Die relevante Größe ist dabei die quadrierte Ausgangsspannung $V_{\text{th}}^2(f)$ des qPlus Sensors, welche das Integral über die thermische spektrale Leistungsdichte $n_{\text{th}}^2(f)$ ist [73]:

$$V_{\text{th}}^2 = \int_{f_0-B/2}^{f_0+B/2} n_{\text{th}}^2(f) df = \int_{f_0-B/2}^{f_0+B/2} n_V^2(f) - n_{\text{el}}^2(f) df. \quad (3.11)$$

Die elektrische Rauschdichte n_{el} beschreibt dabei die mittlere Leistungsdichte abseits der Resonanzfrequenz. Experimentell wird diese durch Mittelung der ersten und letzten 10% der Messpunkte bestimmt. Schließlich wird die totale spektrale Leistungsdichte $n_V^2(f)$ durch folgende Lorentzkurve angenähert [74]:

$$n_V^2(f) = n_{\text{el}}^2 + \frac{2}{\pi Q} \frac{V_{\text{th}}^2 f_0^3}{(f_0^2 - f^2)^2 + f^2 \frac{f_0^2}{Q^2}}. \quad (3.12)$$

Für die Sensitivität, welche abhängig vom Vorverstärker und Sensor ist, folgt schließlich:

$$S_V = \frac{\sqrt{V_{\text{th}}^2}}{A_{\text{th,RMS}}}. \quad (3.13)$$

Zur Kalibrierung der Amplitude wird der sogenannte Kalibrierfaktor $\text{Cal} = 1/S_V$ an die

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

Regeleinheit² übergeben. Ferner kann auch die Auslenkungsrauschdichte $n_q = n_{el}/S_V$ (siehe Gl. (2.24) im Kap. 2.2.2) direkt aus den gewonnenen Daten bestimmt werden. Im Kap. 2.2.2 wurde auch gezeigt, dass sowohl Oszillatorrauschen als auch Detektorrauschen abhängig von n_q sind. Im Kap. 4 wird gezeigt, dass ein niedriges n_q entscheidend ist, um das Detektorrauschen, welches insbesondere bei tiefen Temperaturen dominant ist, gering zu halten. Deshalb ist die Auslenkungsrauschdichte n_q ein wichtiges Kriterium zur Einschätzung des elektrischen Rauschens eines AFMs.

3.1.2. Eigenschaften höherer Biegemoden

Die bisherige Beschreibung der Steifigkeit und Sensitivität der qPlus Sensoren hat stets Bezug genommen auf das Oszillieren in der ersten Biegemode. Exemplarisch ist diese für den M2 Sensor simuliert³ und in Abb. 3.2a dargestellt. Das Falschfarbenbild zeigt die Auslenkung (willkürliche Einheit, engl.: arbitrary units, a.u.) aus der Ruhelage. Die Simulation offenbart eine Resonanzfrequenz von 67,3 kHz und liegt damit in guter Näherung zur experimentell bestimmten von 67,1 kHz. Neben dieser ersten Biegemode gibt es noch weitere, welche höhere Lösungen des Ortsteils der Differentialgleichung einer freien Balkenfeder sind. Die n -te Lösung weist $(n - 1)$ Knotenpunkte auf. In Abb. 3.2b ist beispielhaft die Simulation der zweiten Biegemode ($n = 2$) des M2 Sensors gezeigt. Deutlich sichtbar ist im Falschfarbenbild der Knotenpunkt der zweiten Biegelinie. Die mittels der Simulation³ bestimmte Resonanzfrequenz liegt bei 424,3 kHz. Theoretisch lässt sich zeigen, dass die Resonanzfrequenz der zweiten Biegemode $f_{0,2nd}$ das 6,2-fache der ersten Biegemode beträgt, was einer Resonanzfrequenz von 417,3 kHz entsprechen würde [75]. Eine detailliertere Herleitung ist im Anhang A.1 zu finden. In diesem wird auch gezeigt, dass die Steifigkeit der zweiten Biegemode das etwa 40-fache der ersten Biegemode beträgt [76].

Praktische Anwendung finden verschiedene Biegemoden häufig im bimodalen Betrieb, wenn zwei Biegemoden simultan betrieben werden. Zum einen kann bei weichen Silizium-Sensoren die Kombination einer großen Amplitude und einer kleinen Amplitude den „jump-to-contact“⁴ verhindern und zeitgleich die Sensitivität zu kurzreichweitigen Kräften erhöhen [77–79]. Zum anderen kann die Kombination zweier Moden verwendet werden, um unabhängige Signale zu detektieren. Beispielsweise kann eine Biegemode verwendet werden, um die Oberflächentopographie aufzuzeichnen, und simultan eine höhere Biegemode, um optisch induzierte Kräfte zu messen [67]. Neben den vertikal schwingenden Moden kann auch die Längsausdehnung (in x -Richtung) der Zinke des qPlus Sensors angeregt werden und beispielsweise mit der vertikal zur Basis (in z -Richtung) schwingenden Mode kombiniert werden [5]. Dies ermöglicht u.a. die

²Nanonis™, SPECS Surface Nano Analysis GmbH, 13355 Berlin, Deutschland.

³Simulation basierend auf der Methode der finiten Elemente, welche implementiert ist in Autodesk Inventor (Autodesk, San Rafael, CA 94903, USA).

⁴Als „jump-to-contact“-Problem wird bezeichnet, wenn die Rückstellkräfte des Federbalkens kleiner sind als die attraktiven Kräfte in Probennähe. Tritt dieser Fall ein, so springt die Spitze an die Probe und zerstört möglicherweise diese oder die Spitze selbst.

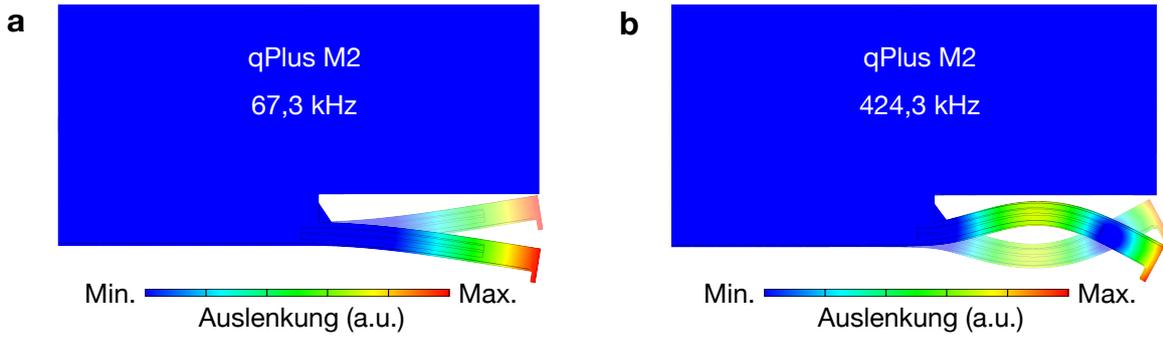


Abbildung 3.2.: Simulation der ersten Biegemode (a) und zweiten Biegemode (b) der transversalen Schwingung eines qPlus M2 Sensors. Für beide Biegemoden sind jeweils die beiden Umkehrpunkte der Schwingung dargestellt. Die gezeigte Falschfarbendarstellung zeigt die Verschiebung in z und dient der besseren Sichtbarkeit der größten Auslenkung.

simultane Messungen von lateralen Kräften (LFM, engl.: lateral force microscopy), während die vertikalen Kräfte die Oberflächentopographie widerspiegeln [5, 80]. Bei den in dieser Arbeit beschriebenen Messungen kommen die erste und die zweite Biegemode bei einer vertikalen Oszillation zur Anwendung.

Im Vergleich mit der ersten Biegemode gestaltet sich jedoch die Kalibrierung der Amplitude der zweiten Biegemode schwierig, da die thermisch angeregte Amplitude mit \sqrt{k} skaliert und deshalb im elektrischen Rauschen untergeht. Die Kalibrierung ist zudem auch im Hinblick auf das Kap. 6 wichtig, um beispielsweise eine optisch angeregte Schwingungsamplitude der zweiten Biegemode quantitativ zu messen. Eine Möglichkeit die Sensitivität zu bestimmen, ist die Integration über die Oberflächenladungsdichte, in Analogie zu Kap. 3.1.1. Im Anhang A.1 wird gezeigt, dass in der Theorie die Sensitivität S_q der zweiten Biegemode das 3,1-fache der ersten Biegemode beträgt. Der Grund für die erhöhte Sensitivität ist die größere mechanische Spannung, welche abhängig von der Krümmung der Biegelinie ist. Die Sensitivität ist bei der zweiten Biegemode dennoch bei bestehenden qPlus Sensoren nicht optimal. Ursächlich ist, dass die Krümmung das Vorzeichen wechselt, wie in Abb. 3.2b zu sehen. Damit entstehen sowohl positive als auch negative Ladungen auf der Elektrodenoberfläche. Nichtsdestotrotz resultiert eine höhere Sensitivität. In Ref. [66] wurde gezeigt, dass eine entsprechend lange und schwere Spitze den Knotenpunkt der zweiten Biegemode an das Balkenende verschiebt und damit unendlich große Steifigkeiten erreicht werden können. In Ref. [81] wird dieser Effekt verwendet, um statt einer vertikalen eine laterale Auslenkung der Spitze zu erreichen und so sensitiv zu lateralen Kräften zu sein. Nimmt man jedoch eine hinreichend kleine und leichte Spitze an, so können Spitzeneffekte in erster Näherung vernachlässigt werden. Eine Möglichkeit die Sensitivität experimentell zu bestimmen, ist die Kombination von AFM mit Rastertunnelmikroskopie (STM). Wird der Abstand zwischen Probe und Spitze durch einen konstant zu haltenden Tunnelstrom nachgeregelt, so führt eine Erhöhung der

Amplitude zu einer Vergrößerung im Abstand⁵ z [82]. Dabei wird eine große Amplitude $A > 1$ nm verwendet, da in diesem Fall der Tunnelstrom hauptsächlich durch den untersten Umkehrpunkt der Schwingung zustande kommt und somit die Änderung der z -Position Δz linear mit der Amplitudenänderung ΔA skaliert. Die Steigung $\Delta z/\Delta A$ wird schließlich zur Korrektur des Kalibrierfaktors verwendet [82]. In Ref. [83] wurde so ein Verhältnis der Sensitivität zwischen erster und zweiter Biegemode von $S_{q,1st}/S_{q,2nd} = 3,5$ bestimmt. Diese Methode der Kalibrierung ist jedoch auf leitfähige Spitzen angewiesen und deshalb wird in dieser Arbeit zur Kalibrierung von nichtleitfähigen Spitzen auf den in Ref. [83] experimentell bestimmten Wert zurückgegriffen.

3.1.3. Bau der qPlus Sensoren und Wahl des Spitzenmaterials

Die qPlus Sensoren werden nicht als eine komplette Einheit geliefert, sondern müssen händisch gebaut werden. Neben der Quarzstimmgabel als Sensor-Rohling wird ein Substrat zur Befestigung benötigt. Dieses stellt die vergleichsweise große Gegenmasse zur schwingenden Zinke dar. Das in dieser Arbeit verwendete Keramiksubstrat⁶ dient zudem auch zum Abgreifen der Signale der Quarzstimmgabel. In das Keramiksubstrat sind zu diesem Zweck drei goldene Hohlzylinder eingelassen, deren Position in Abb. 3.3a markiert ist. Auf der Vorderseite werden die drei Hohlzylinder den drei Signalwegen des qPlus Sensors zugeordnet, wie in Abb. 3.3b angedeutet ist. Die beiden AFM-Kontakte der Quarzstimmgabel können dabei direkt mit leitfähigem Epoxidkleber⁷ kontaktiert werden. Diese beiden silberfarbenen Klebestellen sind in dem Foto eines Sensors in Abb. 3.3c leicht ersichtlich. Die Mittelelektrode, hier auch als STM-Elektrode bezeichnet, muss hingegen über einen Golddraht mit der rechten Goldelektrode des Substrats kontaktiert werden. Das Abgreifen der Signale funktioniert über die Rückseite des Substrats, da die Goldbeschichtung der Hohlzylinder auf der Rückseite leicht hervorragt, wie vereinfacht anhand eines Ausschnitts in Abb. 3.3a gezeigt ist. Die Substrate mit dem aufgeklebten Quarz können deshalb auf ein äquivalentes Substrat (ohne Quarz) mit einer Schraube (durch das zentrale Loch) aufgeschraubt werden. So können die Signale über die drei aufliegenden Ringe abgegriffen werden.

In den Ref. [84, 85] wurde gezeigt, dass die mechanische Spannung in einer Quarzstimmgabel bei einer Auslenkung der Zinke weit über diese hinaus in die Basis des Quarz reicht. Idealerweise wird beim Aufkleben des Quarz-Rohlings die Positionierung so gewählt, dass der Bereich um die Verbindung zwischen Zinke und Basis frei liegt. Der Bereich ist in Abb. 3.3b durch einen schwarz gestrichelten Kreis angedeutet. Wird dies nicht beachtet, so wird der Bereich, indem erhöhte Spannung entsteht, durch den verwendeten Kleber versteift und dies kann die Güte der Schwingung negativ beeinflussen, ebenso wie Kleber auf dem schwingenden Balken selbst. Eine optimale Positionierung ist beispielsweise in Abb. 3.3a und Abb. 3.3c gezeigt. Der Quarz-

⁵Hier ist z der Abstand zwischen der Nulllage des Federbalkens und der Probenoberfläche.

⁶American Technical Ceramics, One Norden Lane, Huntington Station, NY 11746, USA.

⁷EPO-TEK[®] H20E, Epoxy Technology, Inc., Billerica, MA 01821-3972, USA.

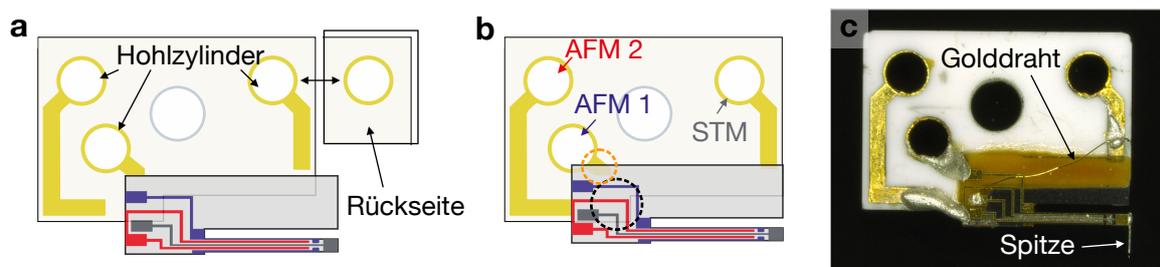


Abbildung 3.3.: Aufbau eines qPlus Sensors und Hinweise zur Positionierung des Sensor-Rohlings aus Quarz. (a),(b) Schematische Darstellung der korrekten Positionierung der Quarzstimmgabel auf dem Substrat (a) im Vergleich mit einer schlechten Positionierung der Quarzstimmgabel (b). (c) Fotografie eines fertigen qPlus Sensors. Die Mittelelektrode ist mit einem Golddraht kontaktiert.

Rohling wird dabei mit nichtleitfähigem Epoxidkleber⁸ aufgeklebt und bei 150°C für 1 Stunde ausgehärtet. Der Kleber nimmt dabei eine orange Farbe an, was das Erkennen der korrekten Positionierung des Quarz im Foto (Abb. 3.3c) vereinfacht. Wird die Quarzstimmgabel, wie in Abb. 3.3b veranschaulicht, jedoch weiter links und weiter oben auf dem Substrat positioniert, so hat sich gezeigt, dass dies zu geringeren Güten der Sensorschwingung führt. Liegt das Quarz zudem auf einem der Goldkontakte des Substrats auf, was symbolisch durch den gestrichelten orangenen Kreis in Abb. 3.3b angedeutet ist, so kann eine schlechtere Anbindung an das Substrat auftreten und es können vermehrt Luftblasen im Kleber eingeschlossen werden. Eine derartige Positionierung geht meist mit einer Verringerung der Güte Q einher.

Im letzten Schritt muss noch eine Spitze gewählt und an den Balken geklebt werden. Ein Vorteil der qPlus Sensoren ist, dass eine Vielzahl von Spitzenmaterialien zu Verfügung steht. Bei den Silizium-Sensoren hingegen ist die Spitze typischerweise bereits im Sensor inkludiert. Geht man zurück zu der idealisierten Beschreibung der Rasterkraftmikroskopie aus Kap. 2.1, so wird eine Wechselwirkung zwischen einem einzelnen frontalen Atom an der Spitze und den Atomen der Probe angenommen. Um der Idealvorstellung einer monoatomaren Spitze möglichst nahe zu kommen, ist die Wahl des Spitzenmaterials und deren Geometrie zu beachten. Anforderungen an das Material sind in der Regel eine geringe chemische Reaktivität und eine große Härte. In Tab. 3.2 ist die Mohs-Härte einiger Materialien aufgeführt, die eine Relevanz in der Rasterkraftmikroskopie haben. Die Härteskala nach Mohs gibt die relative Härte zweier Materialien an. Falls das Material A das Material B ritzt, so wird das Material A als härter bewertet. Dabei sind u.a. Diamant, Saphir und Quarz als Referenz-Materialien angegeben. Obwohl kein linearer Zusammenhang der einzelnen Zahlenwerte herrscht, ist die Mohs-Skala dennoch ein häufig angewandter Richtwert zur Beurteilung der Härte. Diamant oder Saphir weisen beispielsweise eine hohe Mohs-Härte von 10 beziehungsweise 9 auf und sind zudem reaktionsträge. Die Geometrie von Spitzen aus diesen Materialien ist hingegen nur schwer beeinflussbar, da kleine Spitzen durch das Spalten eines Kristall gewonnen werden

⁸EPO-TEK[®] H70E, Epoxy Technology, Inc., Billerica, MA 01821-3972, USA.

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

Material	chem. Zusammensetzung	Härte
Diamant	C	10
Wolframcarbid [86]	WC	9 bis 9,5
Saphir	Al ₂ O ₃	9
Wolfram	W	7,5
Quarz	SiO ₂	7
Silizium	Si	6,5
Iridium	Ir	6,5
Platin-Iridium Legierung (90/10)	Pt/Ir (90/10)	3,5-6,5
Muskovit [87]	KAl ₂ (OH,F) ₂ (AlSi ₃ O ₁₀)	4 ⊥ (001), 2 (001)
Platin	Pt	3,5
Molybdändisulfid	MoS ₂	1-1,5

Tabelle 3.2.: Auflistung der Mohs-Härte unterschiedlicher Materialien. Die Mohs-Härte selbst beschreibt, ob ein Material A das Material B ritzt und sortiert dieses entsprechend ein. Die Materialien sind dabei nach ihrer Härte sortiert, wobei kein linearer Zusammenhang zwischen den einzelnen Mohs-Härten besteht. Falls nicht anders angegeben, Werte nach Ref. [56].

müssen. Eine Möglichkeit die Geometrie einer Spitze durch elektrochemisches Ätzen zu kontrollieren, besteht hingegen bei vielen metallischen Spitzen. Ein weiteres Kriterium ist, ob Rastertunnelmikroskopie (STM) betrieben werden soll, denn in diesem Fall sind leitfähige Spitzen erforderlich. Dies würde beispielsweise undotierten Saphir oder Diamant ausschließen. Im Folgenden werden nun die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Saphir-, Wolfram- und Platin-Iridium-Spitzen und deren Herstellung etwas näher behandelt. Bevor auf diese näher eingegangen wird, soll jedoch noch erwähnt werden, dass die Spitzen allesamt mit Epoxidklebern⁹ aufgeklebt werden. Da die Epoxidkleber bei hohen Temperaturen degradieren¹⁰ lassen sich aufgeklebte Spitzen mit einem Lötkolben wieder entfernen und so Sensoren mit einer anderen Spitze erneut verwenden.

Saphirspitzen: Eigenschaften und Herstellung

Saphir (Al₂O₃) vereint eine Vielzahl der erforderlichen Eigenschaften eines Spitzenmaterials. Zum einen ist Saphir, wie bereits erwähnt, sehr hart (Mohs-Härte 9) und zum anderen ist es äußerst reaktionsträge und gegenüber den meisten Säuren und Basen beständig [90, 91]. Insbesondere die Härte ist bei Messungen an Luft von Vorteil, da bei diesen die Spitze häufig in Kontakt mit der Probe ist. Zudem kann es sein, dass Adsorbate aufgesammelt werden, und diese durch bewusstes Stechen (engl.: poking) in die Probe wieder entfernt werden sollen. Weichere Spitzen werden dabei häufig deformiert. Die hohe Härte kann auch ein Nachteil sein, da das beabsichtigte Stechen in die Probe ebenso der mikroskopischen Spitzenpräparation dient. So kann eine äußerst flache Spitze Probleme verursachen, wenn sie

⁹Für nichtleitfähige Spitzen wurde der Epoxidkleber J-B Weld™ (J-B Weld Company LLC, Sulphur Springs, TX 75482, USA) verwendet und bei leitfähigen der EPO-TEK® H20E.

¹⁰J-B Weld™ degradiert bei $T > 300^\circ\text{C}$ [88] und EPO-TEK® H20E bei $T > 445^\circ\text{C}$ [89].

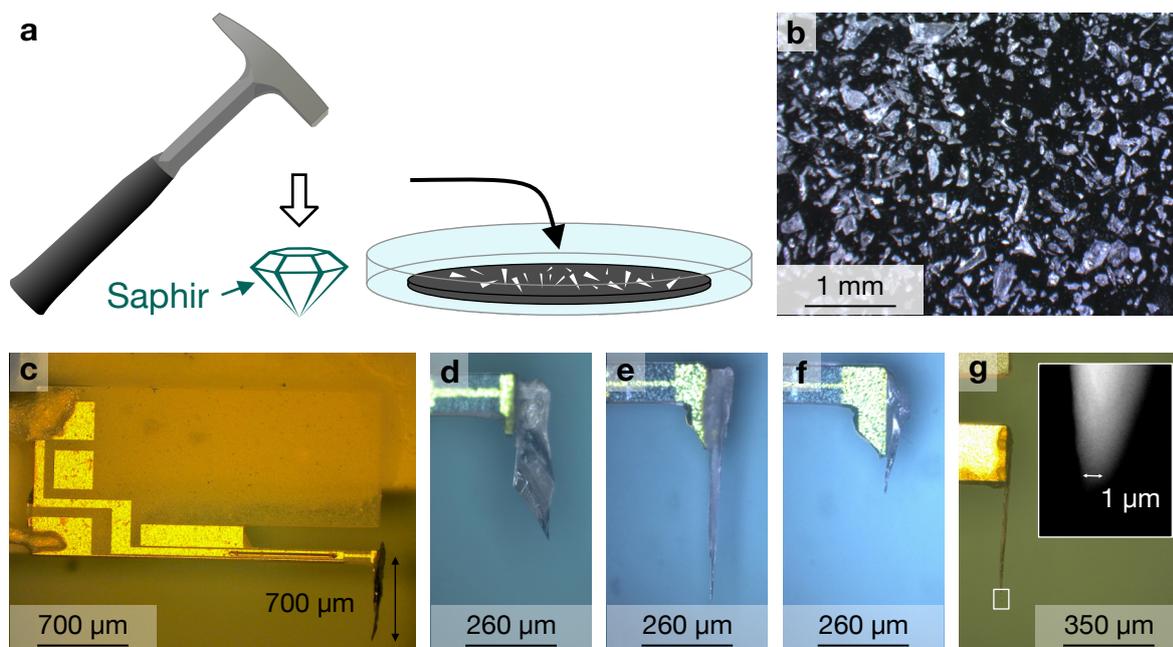


Abbildung 3.4.: Herstellung einer Saphirspitze zur Rasterkraftmikroskopie mit qPlus Sensoren. (a) Skizzenhafte Darstellung des Spaltens eines Saphir-Kristalls mit einem Hammer und anschließendes Aufbewahren der gewonnen Splitter in einer Gel-Box™. (b) Ein adäquater Splitter wird unter dem Lichtmikroskop ausgewählt. Gezeigt ist eine Fotografie durch das Okular eines Lichtmikroskops. (c) Fotografie eines qPlus Sensors (M4) mit einer 700 µm langen Spitze. (d)-(f) Fotografien verschiedener Saphirspitzen. Die identische Vergrößerung der Bilder zeigt die große Varianz der Spitzengeometrien. (g) Fotografie einer Dünnen Saphirspitze. In der vergrößerten Ansicht ist ein SEM-Bild des vordersten Bereichs der Spitze dargestellt.

auf weichen Materialien, wie z.B. Molybdändisulfid (Mohs-Härte 1-1,5), präpariert werden soll. Hier ist in der Regel ein Sensorwechsel schneller. Des Weiteren ist Saphir ein hydrophobes Material. Daher ist zu erwarten, dass die im Kap. 2.1.2 beschriebene Meniskusformation, welche aufgrund der Luftfeuchtigkeit stattfindet, schwächer ausgeprägt ist.

Als Spitzen dienen kleine Splitter aus Saphir. Zur Herstellung wird zunächst ein größerer Saphirkristall mechanisch mittels eines Hammers gespalten, wie in Abb. 3.4a symbolisch dargestellt. Die Auswahl von Splittern passender Größe und Form geschieht schließlich unter dem Lichtmikroskop. In Abb. 3.4b ist eine Fotografie der Saphir-Splitter in einer Gel-Box™¹¹ zu sehen. Die Größe der Spitzen kann dabei, je nach Anforderungsprofil, zwischen 0,1 mm und 1,0 mm betragen. Ein Hauptaspekt dieser Arbeit werden AFM-Messungen in wässrigen Umgebungen sein. Für die experimentellen Details wird hier auf das Kap. 4 verwiesen. Für diese Messungen müssen die Spitzen lang genug sein, um die Probe zu erreichen ohne dass der Federbalken in die Flüssigkeit eintaucht. Dies soll bei einer leitfähigen Flüssigkeit verhindern, dass es zu einem Kurzschluss der Elektroden auf dem Quarz kommt. Spitzen aus Saphir haben sich dabei insbesondere im Vergleich mit Diamant als vorteilhaft herausgestellt, da Diamant

¹¹Gel-Pak®, Hayward, CA 94544, USA.

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

in der Regel in kleinere Splitter zerbricht [92]. Ein Foto des qPlus Sensors, mit dem das erste mal atomare Auflösung in einer physiologischen Lösung erreicht wurde, ist in Abb. 3.4c zu sehen. Auffällig ist die 700 μm lange Spitze. Als Kriterium bei der Wahl des Splitters galt hierbei, dass die vorderste Spitze im Lichtmikroskop, bei 40-facher Vergrößerung, nicht mehr zu erkennen sein darf. Beispiele verschiedener Spitzengeometrien sind in den Abb. 3.4d-g dargestellt. Die Saphirspitzen müssen dabei nicht zwangsläufig die Form eines schmalen Dorns haben, was besonders im Vergleich der Bilder (d) und (e) auffällt. Die Saphirspitze in Abb. 3.4g wurde zudem auch im Rasterelektronenmikroskop (SEM, engl.: scanning electron microscope) untersucht. Bedingt durch die Aufladung der nicht-leitfähigen Saphirspitze ist die Auflösung des SEMs jedoch in diesem Fall beschränkt. Das aufgenommene SEM-Bild ist dabei in Abb. 3.4g inkludiert und zeigt, dass der Spitzendurchmesser der händisch ausgewählten Saphirspitzen kleiner als 1 μm sein kann.

Ein weiterer Vorteil gegenüber anderen Materialien ist die geringe Massendichte von Saphir ($\rho = 3,98 \text{ g/cm}^3$). Das Gewicht kleiner Spitzen beeinflusst deshalb u.a. nicht signifikant die Resonanzfrequenz. Zur Veranschaulichung soll ein einfacher Vergleich mit metallischen Spitzen dienen. Der Ausgangsdraht von metallischen Spitzen hat in der Regel einen Durchmesser \varnothing von 50 μm und es wird eine Länge von 400 μm angenommen. Man beachte, dass davon ein Teil Bestandteil der Klebeverbindung ist. Es wird nun angenommen, dass die exemplarische Saphirspitze ebenso zylinderförmig ist und die gleichen Dimensionen hat. Setzt man die Werte in Gl. (3.2) ein, so verschiebt sich die Resonanzfrequenz für die Saphirspitze von 33,1 kHz auf 32,0 kHz. Nimmt man hingegen eine Wolframspitze ($\rho = 19,25 \text{ g/cm}^3$) der selben Dimensionen an, so würde sich die Resonanzfrequenz auf 28,4 kHz verschieben. Dies ist nicht nur im Hinblick auf das FM-AFM-Rauschen (siehe Kap. 2.2.2), sondern auch in Bezug auf das $1/f$ -Rauschen des AFM-Vorverstärkers relevant.

Wolfram- und Platin-Iridium-Spitzen

Metallische Spitzen aus Wolfram- oder Platin-Iridium sind die typischen Spitzen bei der kombinierten Rasterkraft- und Rastertunnelmikroskopie bei tiefen Temperaturen. Sie können elektrochemisch geätzt werden, womit eine reproduzierbare Spitzengeometrie erreicht werden kann. Sie bieten zudem auch einen Vorteil bei Messungen in Flüssigkeiten, da beim elektrochemischen Ätzen die Länge der Spitze beliebig anpassbar ist. Dadurch entfällt das möglicherweise langwierige Suchen nach einer passenden Spitze. Als nachteilig hat sich beim Messen in Flüssigkeiten mit äußerst langen Wolframspitzen $> 1 \text{ mm}$ ($\varnothing 50 \mu\text{m}$) die laterale Stabilität herausgestellt.

Ein Bild einer geätzten Wolframspitze ist in Abb. 3.5a gezeigt. Details zum elektrochemischen Ätzen von Wolfram sind beispielsweise in den Ref. [93–96] zu finden. Die hier gezeigte Spitze wurde in eine 1 M KOH Lösung eingetaucht und eine Spannung zwischen dieser und einer

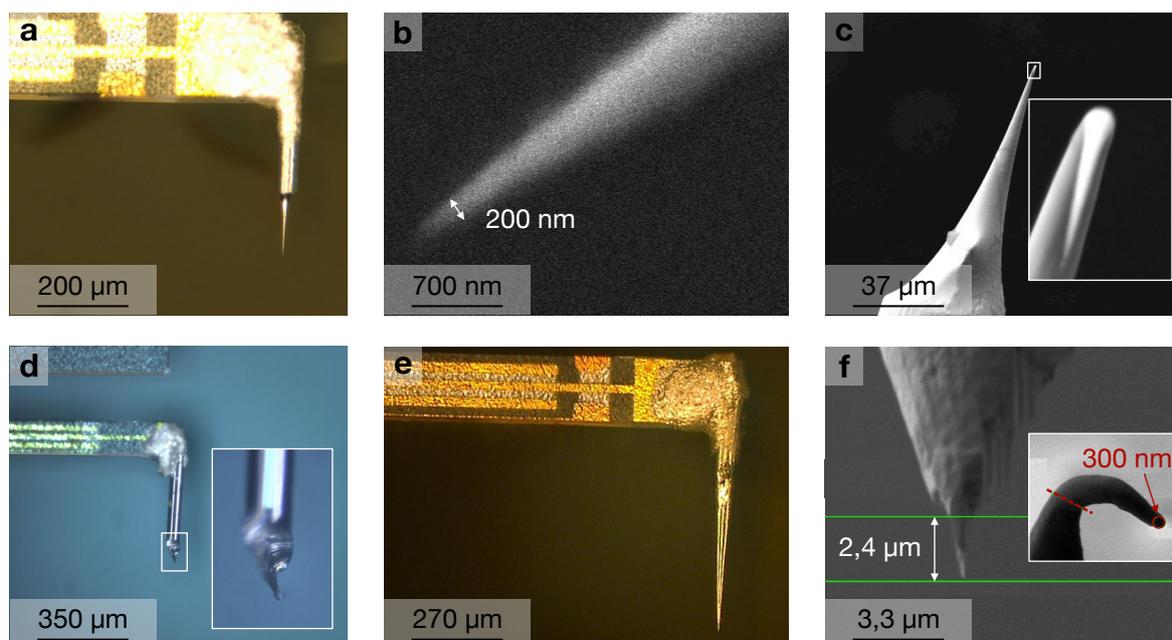
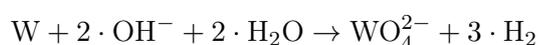
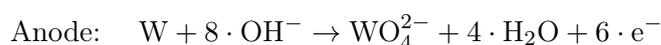
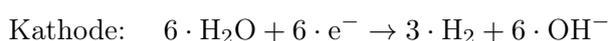


Abbildung 3.5.: Exemplarische Wolfram- und Platin-Iridium-Spitzen im Vergleich. (a) Elektrochemisch geätzte Wolframspitze. Der Durchmesser des ursprünglichen Wolframdrahtes ist $50\ \mu\text{m}$. (b) SEM-Aufnahme einer geätzten Wolframspitze am Auflösungslimit des Mikroskops. (c) Beim elektrochemischen Ätzvorgang aufgetretene Verzerrung der Spitze ist erst in der vergrößerten SEM-Aufnahme sichtbar. (d) qPlus Sensor mit geschnittener Platin-Iridium-Spitze. Der Durchmesser des Drahtes ist $50\ \mu\text{m}$. (e) qPlus Sensor mit elektrochemisch geätzter Platin-Iridium-Spitze. Der Durchmesser des ursprünglichen Drahtes ist $100\ \mu\text{m}$. (f) SEM-Aufnahme einer mit einer Ionenfeinstrahlanlage zugeschnittenen Spitze. Das kleinere Bild zeigt dabei die Spitze vor dem Schneiden, welche zuvor für AFM-Messungen verwendet wurde. In einem ersten Schritt wurde der gekrümmte Teil entlang der rot gestrichelten Linie abgeschnitten, um im Anschluss eine neue Spitze zu formen.

Gegenelektrode aus Eisen angelegt. Dabei läuft folgende Redoxreaktion ab [72, 93] :



An der Spitze, welche die Anode darstellt, bildet sich lösliches WO_4^{2-} und an der Gegenelektrode wird Wasser zu gasförmigem Wasserstoff umgesetzt. Das elektrochemische Ätzverfahren liefert dabei reproduzierbar scharfe Spitzen. Eine SEM-Aufnahme, nahe dem Auflösungsmaximum des verwendeten Elektronenmikroskops¹² ist in Abb. 3.5b gezeigt. Eine Markierung zeigt, dass der Spitzendurchmesser kleiner als $200\ \text{nm}$ ist. Oftmals wird die Qualität von Wolframspitzen nur im Lichtmikroskop evaluiert, um die reproduzierbare Form auf einer μm Skala zu kontrollieren.

¹²ZEISS EVO MA 10, Carl Zeiss Microscopy GmbH, 07745 Jena, Deutschland.

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

In Abb. 3.5c ist jedoch ein Beispiel einer nicht geradlinig spitz zulaufenden Spitze gezeigt, was erst im Elektronenmikroskop sichtbar wird. Die gezeigte Spitze weist dabei nach dem Ätzen einen Knick auf, womöglich durch eine bereits vor dem Ätzen vorhandene Spannung innerhalb des Wolframdrahtes. Mit den hier gezeigten elektrochemisch geätzten Wolframspitzen war es jedoch nicht möglich, direkt nach dem Ätzen Tunnelmikroskopie zu betreiben. Es wird angenommen, dass sich während des Ätzens, wie bereits in der Literatur erwähnt [95, 97, 98], u.a. auch WO_3 bildet und auf der Spitze anlagert. Die Spitze ist deshalb nach dem Ätzen von einer isolierenden Oxidschicht überzogen. Entfernt werden kann diese u.a. durch das Eintauchen in Flusssäure [99] oder durch Feldemission¹³ [93, 97, 100].

Eine Möglichkeit scharfe leitfähige Spitzen zu bekommen, ist das Schneiden einer Spitze. Häufig wird dabei eine Platin-Iridium-Legierung (Pt/Ir, hier 90 % Platin und 10 % Iridium) verwendet, da diese verglichen mit Wolfram edler ist und weniger oxidiert. In Abb. 3.5d ist ein Foto einer geschnittenen Platin-Iridium-Spitze (\varnothing 50 μm) zu sehen. Sie wurde erst nach dem Schneiden an den qPlus Sensor geklebt, um die empfindliche Zinke nicht beim Schneiden der Spitze zu beschädigen. Eine vergrößerte Ansicht der Spitze zeigt, dass sie zwar spitz zulaufend sein kann, jedoch beim Schneiden der Draht auch vornehmlich gequetscht wird. Platin-Iridium kann auch elektrochemisch geätzt werden. Ein Beispiel einer elektrochemisch geätzten Pt/Ir-Spitze ist in Abb. 3.5e gezeigt. Das hier verwendete Protokoll ist detailliert in den Ref. [101, 102] beschrieben. Geätzt wird die Spitze in einer $\text{CaCl}_2/\text{H}_2\text{O}/\text{Aceton}$ -Lösung¹⁴ mit einer sinusförmigen Wechselspannung ($V_{\text{pp}} = 40 \text{ V}$), welche zwischen dem zu ätzenden Pt/Ir-Draht und einer Gegenelektrode aus Graphit angelegt ist. In Ref. [103] wird beschrieben, dass sich beim elektrochemischen Ätzen mit derart hohen Spannungen, welche die Dissoziationsenergie von Wasser (1,23 V) überschreiten, sich neben PtCl_4^{2-} und PtCl_6^{2-} auch Wasserstoff und Sauerstoff an der Pt/Ir-Spitze bilden. Ferner wird in der Studie beschrieben, dass das elektrochemische Ätzen unter Umständen durch Mikroexplosionen unterstützt wird, falls Wasserstoff und Sauerstoff in Zwischenräume der Spitze diffundieren und sich ein reaktives Gemisch aus beiden bildet.

Eine weitere Möglichkeit der Kontrolle einer Spitzengeometrie ist das „Schneiden“ mit einer Ionenfeinstrahlanlage¹⁵ (engl.: focused ion beam, FIB). Eine derart geschnittene Pt/Ir-Spitze ist in Abb. 3.5f zu sehen. Der mit der FIB zugeschnittene Teil ist dabei nur 2,4 μm lang, um die Stabilität der Spitze nicht unnötig zu verringern. In diesem besonderen Fall wurde die Spitze vor dem Schneiden mit einem FIB bereits zum Messen im AFM verwendet. Elektrochemisch geätzte Spitzen können sehr fein zulaufen und ein gewollter oder ungewollter Kontakt mit der Probe kann schließlich dazu führen, dass die Spitze irreversibel gekrümmt wird. Das kleinere Bild in Abb. 3.5f zeigt die gekrümmte Spitze mit einem Spitzenradius von 300 nm.

¹³Als Feldemission bezeichnet man eine Methode des resistiven Heizens durch hohe Tunnelströme. Eine typische Vorgehensweise ist, eine Spannung von 200 V zwischen Probe und Spitze anzulegen und diese soweit zueinander anzunähern bis ein Tunnelstrom von $\sim 100 \mu\text{A}$ detektiert wird.

¹⁴Zum Ätzen von Pt/Ir wird 7 g CaCl_2 in 20 ml Wasser gelöst und mit 20 ml Aceton übersättigt.

¹⁵Bei einer Focused Ion Beam, auch Ionenfeinstrahlanlage genannt, werden z.B. Gallium-Ionen beschleunigt, um mit dem Ionenstrahl kontrolliert Material abtragen zu können.

Der gekrümmte Teil wurde dabei mit der FIB entlang der gestrichelten roten Linie abgetrennt. Nachdem soeben ein kurzer Überblick über die verwendeten Spitzen gegeben wurde, wird im anschließenden Abschnitt ein für die Messungen an Luft optimiertes Rasterkraftmikroskop-Design vorgestellt.

3.2. Aufbau eines Rasterkraftmikroskops mit optischem Zugang

*Ein Großteil der im Folgenden präsentierten Arbeit wurde bereits in *Review of Scientific Instruments* veröffentlicht. Folglich sind einige Textausschnitte, Bilder und Schlussfolgerungen identisch [104].*

Rasterkraftmikroskopie mit qPlus Sensoren wurde in der jüngeren Vergangenheit bereits erfolgreich an Luft durchgeführt. Atomare Auflösung wurde dabei bei einer Vielzahl von Proben erreicht. Dazu zählen u.a. KBr [9, 10], Calcit [13] und Graphen [14, 15]. Für die Messungen wurden in der Regel bereits bestehende Rasterkraftmikroskope verwendet, wobei diese zur Verwendung in Ultrahochvakuum-Kammern (UHV-Kammern) und bei tiefen Temperaturen (LT, engl.: low-temperatures) optimiert waren. Dies ist der Tatsache geschuldet, dass mit diesen Mikroskopköpfen langjährige Erfahrung gesammelt und zudem auch große wissenschaftliche Erfolge, wie das Erreichen von submolekularer [6] und subatomarer Auflösung [61, 105], gefeiert wurden. Ein Nachteil dieses Transfers von UHV-Mikroskopen in Umgebungsbedingungen ist, dass, bedingt durch die Bauweise, der Zugang und die Sicht auf die Spitze und den Sensor stark eingeschränkt sind. Der qPlus Sensor selbst bietet jedoch den Vorteil, dass er keine detektierende Optik wie die Silizium-Sensoren benötigt. Dadurch lässt sich ein Mikroskopdesign mit unverbautem Sensorzugang realisieren. Dies vereinfacht zum einen den Sensorwechsel, zum anderen ermöglicht es die Kombination mit Lichtmikroskopen hoher numerischer Apertur oder ultraschneller Optik. Im Rahmen dieser Arbeit sollen vor allem letztere von Bedeutung sein, mit dem Ziel, Lichtfeld-induzierte Prozesse auf kurzen Zeitskalen beobachten zu können (siehe Kap. 6). Im Folgenden wird der Aufbau im Detail erklärt.

In dem in Abb. 3.6 gezeigten AFM, welches den Status quo darstellt, wurde beispielsweise ein Mikroskopkopf verwendet, der in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Franz J. Gießibl für ein Tieftemperatur-Rasterkraftmikroskop entwickelt wurde [100]. Der Kopf selbst stellt dabei eine angepasste Variante eines von Pan *et al.* konzipierten Rastertunnelmikroskops dar, das in Ref. [106] erläutert ist. Dieses Design wird im Folgenden als Pan-Kopf bezeichnet und wird heutzutage bei den meisten qPlus AFMs verwendet. Zur Messung in Umgebungsbedingungen wurde schließlich der angepasste Pan-Kopf in ein Mikroskop eingesetzt, das für Ultrahochvakuum Messungen entworfen wurde [107]. Dabei wurde der alte STM-Kopf durch den neuen AFM-Pan-Kopf ersetzt. Dieser ist vertikal auf einer doppelt schwingungsentkoppelten Plattform montiert, welche in Abb. 3.6a gezeigt ist. Die doppelte Schwingungsentkopplung setzt sich

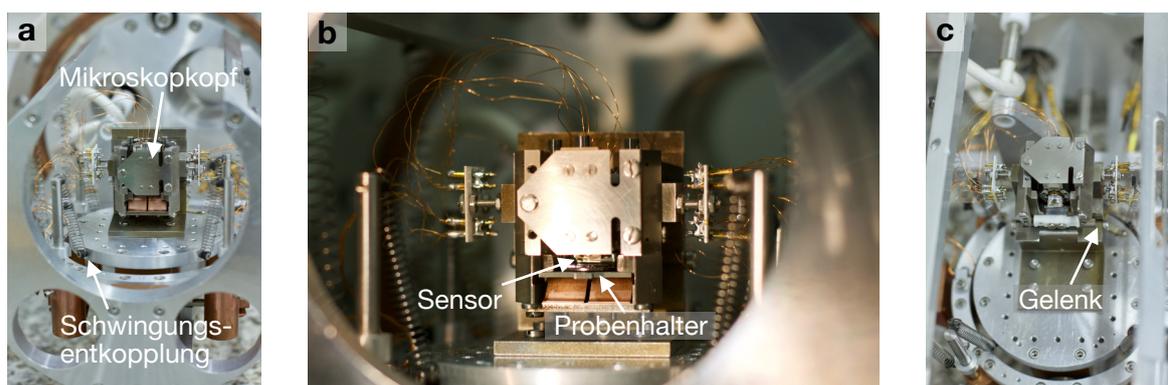


Abbildung 3.6.: Aufbau eines Rasterkraftmikroskops zur Messung an Luft und in Flüssigkeiten. Der Mikroskopkopf ist nahezu baugleich zu einem eigenentwickelten Tieftemperatur-Rasterkraftmikroskop. Der Kopf sitzt auf einer zweifach schwingungsentkoppelten Plattform. (a) Ansicht von vorne zeigt die an Federn aufgehängte Plattform mit dem Mikroskopkopf. (b) Vergrößerte frontale Ansicht des Mikroskopkopfes. Pfeile markieren den eingesetzten Probenhalter und den auf die Probe angenäherten qPlus Sensor. (c) Zum Probenwechsel ist der Kopf auf einem schwenkbaren Gelenk fixiert. In der Ansicht ist zudem der Probenhalter abmontiert, um einen Sensortransfer zu ermöglichen.

aus zwei an Federn aufgehängten Plattformen zusammen. Zudem sind Wirbelstrombremsen zwischen den Plattformen und dem Gehäuse verbaut. Es wurde ein vertikaler Aufbau gewählt, um Messungen in wässriger Umgebung zu ermöglichen, die im Kap. 4 genauer erläutert werden. Trotz der hervorragenden mechanischen Stabilität des AFMs wird der zuvor genannte Nachteil der auf Ultrahochvakuum ausgelegten Mikroskope in Abb. 3.6b deutlich. Die gezeigte Frontansicht des Mikroskopkopfes stellt den einzigen optischen Zugang zum Sensor und zur Probe dar. Zudem ist der Sensorwechsel erheblich erschwert. Zum einen muss der Kopf in eine horizontale Lage versetzt werden, hier gelöst durch eine Gelenkhalterung, und zum anderen muss der Probenhalter abgenommen werden, wie in Abb. 3.6c gezeigt.

Die Anforderung an eine Neuentwicklung des Mikroskopkopfes war deshalb, die Vorteile und Stabilität des Pan-Designs mit einem freien Zugang zum Sensor zu kombinieren. Des Weiteren sollte ein vertikaler Aufbau erhalten bleiben, um Messungen in Flüssigkeiten zu ermöglichen. Eine weitere Anforderung an das Mikroskop war, dass die Spitze an einem konstanten Ort gehalten werden soll. Denn um das AFM zur Detektion von Photo- oder Lichtfeld-induzierten Prozessen zu verwenden, wird ein Laser auf die Spitze fokussiert und eine sich verändernde Position würde deshalb einer aufwendigen Korrektur der fokussierenden Optik bedürfen. Aus diesen Gründen wurde ein Mikroskop entworfen, bei dem die Probe unter einer (lateral) fixierten Spitze rastert. Dies wird als Probenscanner bezeichnet. In Abb. 3.7a ist ein Überblick des Aufbaus anhand einer dreidimensionalen CAD (engl.: computer-aided design) Zeichnung zu sehen. Der Mikroskopkopf ist dabei auf einer eloxierten Metallplatte befestigt und setzt sich aus drei Hauptbestandteilen zusammen, die in den Bildabschnitten (d), (e) und (f) gezeigt sind. In Teilbild (b) ist zum besseren Verständnis des offenen Aufbaus die Frontansicht des

3.2. Aufbau eines Rasterkraftmikroskops mit optischem Zugang

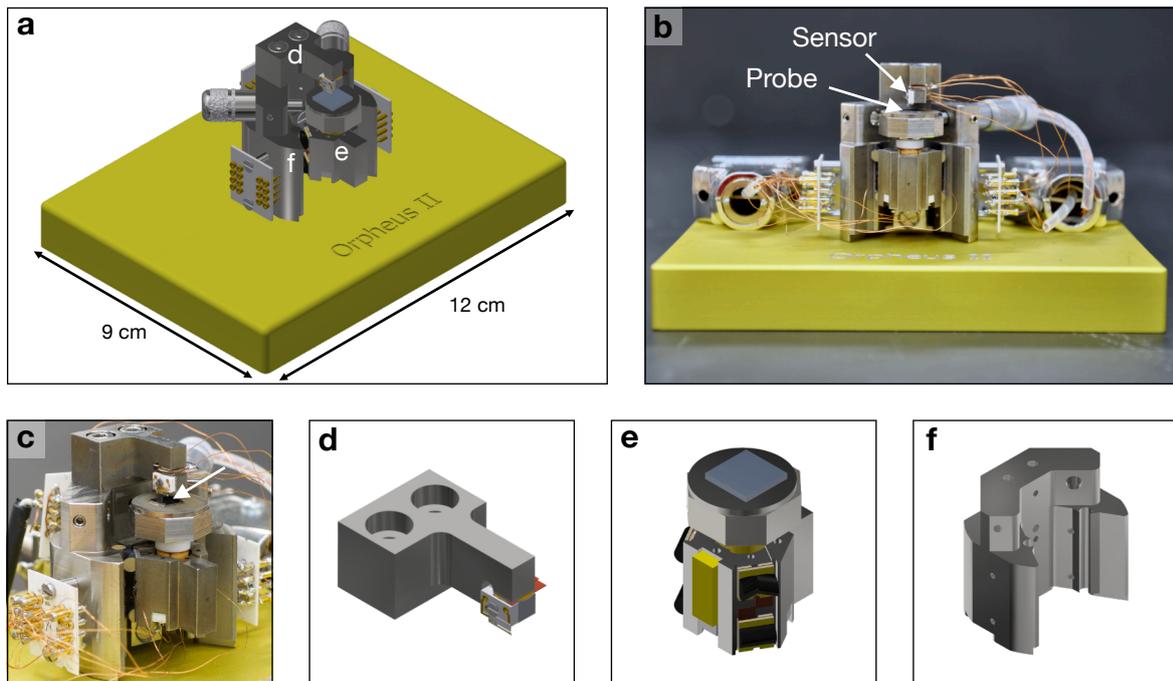


Abbildung 3.7.: Aufbau des eigenentwickelten Rasterkraftmikroskops mit optischem Zugang. (a) Dreidimensionale virtuelle CAD Zeichnung des Mikroskops. Die drei grundlegenden Bauteile aus (d), (e) und (f) sind mit den jeweiligen Buchstaben markiert. (b) Fotografie der Frontansicht des AFMs verdeutlicht den freien Zugang zu Sensor und Probe, auf welche mit Pfeilen hingewiesen wird. (c) Fotografie des AFM Kopfes aus einer seitlichen Perspektive. Ein Pfeil deutet auf die Spitze und Probe. (d) Sensorhalter mit montiertem qPlus Sensor. (e) Schlitten für die Grobannäherung. Eingesetzt in diesen ist der x/y/z-Scanner. (f) Gehäuse des Kopfes, das auch der Gegenpart des magnetisch gehaltenen Schlittens ist. Nach Pürckhauer *et al.*, Rev. Sci. Instrum. **91**, 083701 (2020), mit Erlaubnis von AIP Publishing.

Mikroskops gezeigt. Der Zugang zu Sensor und Probe, welche beide durch Pfeile markiert sind, ist kaum durch weitere Bauteile eingeschränkt. In Abb. 3.7c ist eine vergrößerte Aufnahme des Mikroskopkopfes dargestellt. In Abb. 3.7d ist der Sensorhalter gezeigt, der zudem einen Piezo zur mechanischen Anregung der Sensors enthält. In Abb. 3.7e ist der Schlitten zur Grobannäherung der Probe an den Sensor dargestellt. Im Inneren des Schlittens sitzt der x/y/z-Probenscanner zur Feinpositionierung. Die Abb. 3.7e zeigt wiederum das Gehäuse, in das der Schlitten (e) magnetisch eingesetzt wird. An den drei Seiten des Gehäuses sind AFM- und STM-Vorverstärker montiert, deren Schaltkreise im weiteren Verlauf erklärt werden, und eine Kontaktplatte zum Anlegen der Hochspannung an die Positioniereinheit ist seitlich befestigt.

Geringe thermische Drift ist ein wichtiges Kriterium, um atomare Auflösung bei Raumtemperatur zu erreichen. Deshalb wurde bei der Materialwahl auf einen geringen thermischen Ausdehnungskoeffizienten geachtet. Die Metallbauteile sind, ausgenommen der Schrauben,

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

aus KovarTM¹⁶ gefertigt. Die Legierung KovarTM setzt sich aus 53 % Eisen, 29 % Nickel und 17 % Cobalt zusammen und weist einen Temperaturexpansionskoeffizienten von $\alpha = 1 \times 10^{-6} \text{ K}^{-1}$ auf (bei Temperaturen zwischen 20°C und 100°C) [108].

Ein weiterer zu beachtender Aspekt beim Mikroskopbau ist, dass Klebeverbindungen möglichst steif sein sollten. Falls im Text nicht anders angegeben, wurde für nichtleitfähige Klebeverbindung der Epoxidkleber EPO-TEK[®] H70E verwendet. Er weist eine Shore-D-Härte¹⁷ von 83 auf und laut dem Datenblatt hat er eine exzellente Adhäsion mit KovarTM [109]. Leitfähige Klebeverbindungen wurden mit dem Epoxidkleber EPO-TEK[®] H20E durchgeführt, falls im Text nicht anders angegeben [89]. Es werden nun die zuvor erwähnten Basisbestandteile des Mikroskops inklusive der AFM- und STM-Vorverstärker ausführlich erklärt.

3.2.1. Sensorhalter und mechanische Anregung

Zum Anfang soll nun der Sensorhalter des Rasterkraftmikroskops erläutert werden. Als Sensorhalter wird das Bauteil bezeichnet, auf das der qPlus Sensor aufgeschraubt wird. Der Bau des Sensors selbst und das zugehörige Keramiksubstrat, auf das der Sensor geklebt wird, wurden bereits im Kap. 3.1.3 thematisiert. Es wurde dabei auch bereits erwähnt, dass zum Abgreifen der AFM- und STM-Signale der Sensor auf einem äquivalenten leeren Substrat festgeschraubt wird. Aus diesem Grund sind in die drei goldenen Hohlzylinder des leeren Substrats Kabel gelötet, die mit den Eingängen der Vorverstärker verbunden werden. Um eine bessere mechanische Stabilität zu erzielen, wird das leere Substrat mit den Kontaktkabeln auf ein Metallstück geklebt, das in Abb. 3.8a dargestellt ist. In das Metallstück sind Kabelkanäle gefräst, auf die in Abb. 3.9a mit drei gelben Pfeilen hingewiesen wird.

Um FM-AFM zu betreiben, muss der Sensor zum Schwingen angeregt werden. Eine Möglichkeit besteht darin, ihn mechanisch anzuregen. Als Aktuator wurde für dieses Mikroskop ein kreisförmiger Dickenschwinger¹⁸ verwendet, der in Abb. 3.8b zu sehen ist. Der Durchmesser beträgt 5 mm bei einer Dicke von 0,25 mm und auf beiden Seiten befindet sich eine Kontaktelektrode, deren Oberfläche in Abb. 3.8b eine goldene Farbe hat. Die Resonanzfrequenz des Dickenschwingers beträgt 8 MHz und ist folglich weit genug entfernt von der Resonanzfrequenz der ersten und zweiten Biegemode eines qPlus Sensors. Kontaktiert wird der Aktuator durch auf beiden Seiten aufgeklebte Kupferplatten, die eine hervorstehende Zunge haben. Diese Kupferplatten sind in Abb. 3.8b rötlich dargestellt. Zudem sind in der Graphik Keramikplatten (weiß) zu sehen, die zur Isolierung auf die Kupferplatten geklebt werden.

Befestigt werden Aktuator und qPlus Sensor an einem Metallarm, der in Abb. 3.8c gezeigt ist. Die Abmessungen sind in der Graphik eingezeichnet. Da es sich bei dem Design nicht um eine geschlossene Geometrie handelt, kann angenommen werden, dass thermische Effekte

¹⁶KovarTM ist ein Handelsname der CRS Holdings Inc., Delaware, USA. Bezogen wurde das Material von OSNABRUEGGE GmbH & C. KG, Pforzheim, Deutschland.

¹⁷Die Shore-D-Härte wird durch das Messen der Eindringtiefe eines Prüfstifts in das zu untersuchende Material bestimmt. Höhere Werte entsprechen einer größeren Härte.

¹⁸Typ PRYY+0398 von PI GmbH & Co. KG, 07589 Lederhose, Deutschland.

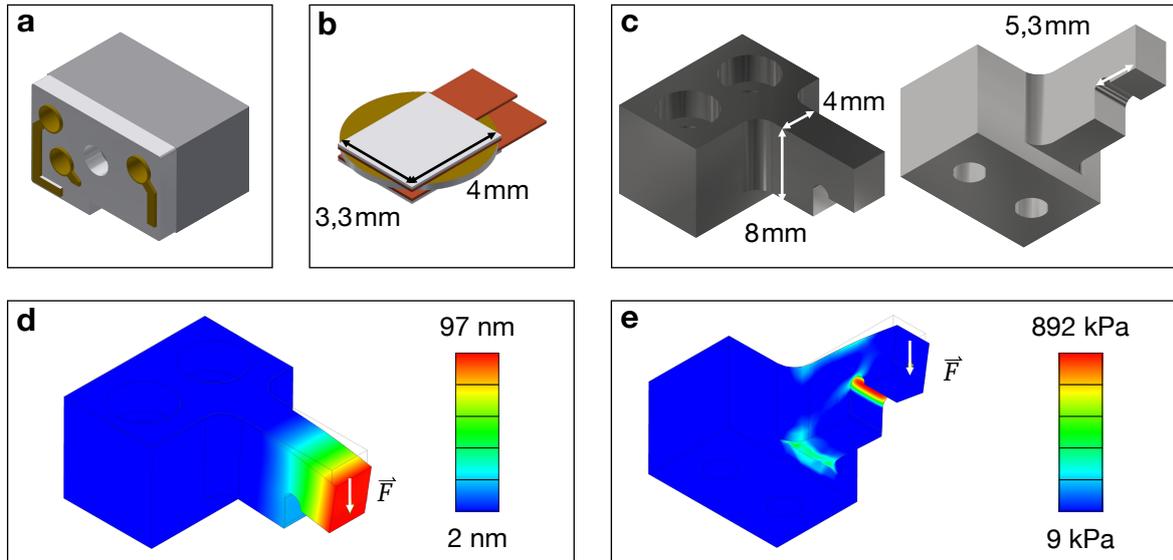


Abbildung 3.8.: Aufbau des Sensorhalters für den qPlus Sensor mit inkludierter mechanischer Anregung. (a) Leeres Keramiksubstrat eines qPlus Sensors, das zur Stabilisierung auf einem Metallstück aufgeklebt wird. Der qPlus Sensor wird mit einer Schraube auf das Bauteil geschraubt. (b) Aktuator bestehend aus einem piezoelektrischen Dickschwinger (golden) zur mechanischen Anregung des Sensors. Dünne Keramikscheiben (weiß) sollen die Kupfer-Kontaktplatten (rot) vom restlichen Mikroskop isolieren. (c) Metallarm an dessen Ende der Aktuator und der qPlus Sensor geklebt werden. (d) Auslenkung des Metallarms, wenn mit einer Kraft $|\vec{F}| = 1 \text{ N}$ am Balken gezogen wird. (e) Von-Mises-Spannung bei einer vertikalen Kraft von $|\vec{F}| = 1 \text{ N}$. Nach Pürckhauer *et al.*, Rev. Sci. Instrum. **91**, 083701 (2020), mit Erlaubnis von AIP Publishing.

verstärkt auftreten können und der Balken zudem zum Schwingen angeregt werden kann. Zur Quantifizierung der Eigenmoden und Resonanzfrequenzen des Metallarms wurde eine Spannungsanalyse, basierend auf der Methode der finiten Elemente, in Autodesk Inventor¹⁹ durchgeführt. Es zeigt sich, dass die Resonanzfrequenz $f_{\text{Metallarm}} = 34,0 \text{ kHz}$ beträgt. Damit ist diese nahe der Resonanzfrequenz der ersten Biegemode der qPlus Sensoren. Um das Ergebnis zu validieren, wurde zunächst die Steifigkeit des Balkens mit Hilfe der Spannungsanalyse in Autodesk Inventor bestimmt. Hierzu wurde mit $\vec{F} = 1 \text{ N}$ in vertikaler Richtung am Balken gezogen. Daraus resultierte eine vertikale Auslenkung von bis zu $z_{\text{Auslenkung, max.}} = 97 \text{ nm}$ am Ende des Balkens, wie der Abb. 3.8d anhand der Falschfarbendarstellung entnommen werden kann. Nach dem hookeschen Gesetz beträgt die Steifigkeit deshalb $k_{\text{Metallarm}} = 10,3 \text{ MN/m}$. Die lokale Distribution der von-Mises-Spannung [110] in Abb. 3.8e offenbart, dass der Bereich größter Spannung in der Kerbe des Ausschnitts für den qPlus Sensor und den Aktuator liegt. Nähert man die Schwingung des Metallarms mit einem harmonischen Oszillator, so lässt sich die Resonanzfrequenz mit $f_{0, \text{Metallarm}} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k_{\text{Metallarm}}}{m^*}}$ berechnen, wobei m^* die effektive Masse ist. Für rechteckige Balken beträgt die effektive Masse näherungsweise ein Viertel (genauer das

¹⁹Autodesk Inventor ist eine 3D-CAD Software der Firma Autodesk, San Rafael, CA 94903, USA.

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

0,2427-fache) der totalen Masse [76]. Zu beachten ist, dass die in Abb. 3.8d gezeigte Auslenkung des Balkens nur am Ende des Balkens signifikant ist. Dies ist der Bereich des Ausschnittes für den qPlus Sensor. Es wird deshalb angenommen, dass nur der vordere Teil schwingt. Die totale Masse dieses Bereichs ergibt sich aus $m = V \cdot \rho = 0,105 \text{ cm}^3 \cdot 8,16 \text{ g/cm}^3 \approx 0,856 \text{ g}$ mit dem Volumen V und der Massendichte ρ . Setzt man die effektive Masse $m^* = 0,215 \text{ g}$ in die Gleichung des harmonischen Oszillators ein, so ergibt sich eine Resonanzfrequenz von 34,8 kHz. Dies entspricht in guter Näherung dem Wert aus der dynamischen Simulation. Trotz der Nähe der Resonanzfrequenz des Metallarms zur Resonanzfrequenz des qPlus Sensors konnte bisher keine störende Wechselwirkung beobachtet werden. Zudem oszilliert der Balken, dessen Steifigkeit 10,3 MN/m beträgt, durch thermische Anregung (bei 300 K) mit lediglich $A_{\text{th,RMS}} = 20 \text{ fm}$. Es ist jedoch bekannt, dass bei LT-UHV Bedingungen die Resonanzfrequenzen eines Mikroskops signifikante Einflüsse auf die Dämpfung der Sensorschwingung haben. Ursächlich ist die bei LT-UHV sehr hohe Güte der Resonanzen mit Halbwertsbreiten $< 1 \text{ Hz}$. So sind beispielsweise in Fig. 1 aus Ref. [111] schmale Peaks in der Dissipation zu sehen. Diese sind Artefakte, welche verursacht sind durch Resonanzen des Mikroskops. Eine weitere Studie zeigte, dass bei UHV bereits eine Temperaturerhöhung von $T = 77 \text{ K}$ auf $T = 300 \text{ K}$ die Güte der Resonanzen deutlich verringert [112]. Das hier beschriebene Mikroskop wird überdies an Luft betrieben und es wird erwartet, dass die Klebeverbindungen noch eine weitere Verringerung der Güte verursachen. Folglich sind Anpassungen des Sensorhalters bisher nicht vonnöten gewesen, auch da die qPlus Sensoren über einen großen Frequenzbereich zuverlässig angeregt werden konnten. Nichtsdestotrotz ist eine genaue Kenntnis der Eigenmoden eines Rasterkraftmikroskops hilfreich.

Der finale Zusammenbau der Komponenten des Sensorhalters ist in Abb. 3.9a dargestellt. Zunächst wird der Aktuator (siehe Abb. 3.8b) auf den Metallarm (siehe Abb. 3.8c) geklebt und im Anschluss der qPlus Halter. Zum Abschluss kann noch der qPlus Sensor aufgeschraubt werden.

Bedingt durch die hinzugefügten Massen kann sich die Resonanzfrequenz des finalisierten Sensorhalters deutlich von der des bloßen Metallarms unterscheiden. Eine Simulation unter der Vernachlässigung von Klebeverbindungen zeigt, dass mehrere Eigenmoden existieren. Diese sind in Abb. 3.9b-d dargestellt. Es gilt jedoch zu beachten, dass die Ergebnisse nicht notwendigerweise quantitativ sind, da u.a. die Klebestellen einen starken Einfluss auf die Steifigkeit und deshalb auch auf die Resonanzfrequenzen haben. Die Simulation errechnete, vor allem bedingt durch die hinzugefügte Masse, für die entlang der z -Achse schwingende Mode eine im Vergleich zum bloßen Metallarm deutlich niedrigere Resonanzfrequenz von 17,8 kHz. Die relative Verschiebung entlang der vertikalen z -Achse ist in Abb. 3.9 anhand der Falschfarbendarstellung ersichtlich. Ferner offenbarte die Simulation eine weitere Eigenfrequenz bei 30,4 kHz. Sie beschreibt eine parabelförmige Schwingung des auf den Metallarm aufgeklebten qPlus Halters (inkl. Aktuator) entlang der x -Achse. Bilder in Falschfarbendarstellung der z -Verschiebung an den beiden Umkehrpunkten sind in Abb. 3.9c gezeigt. Überdies konnte die

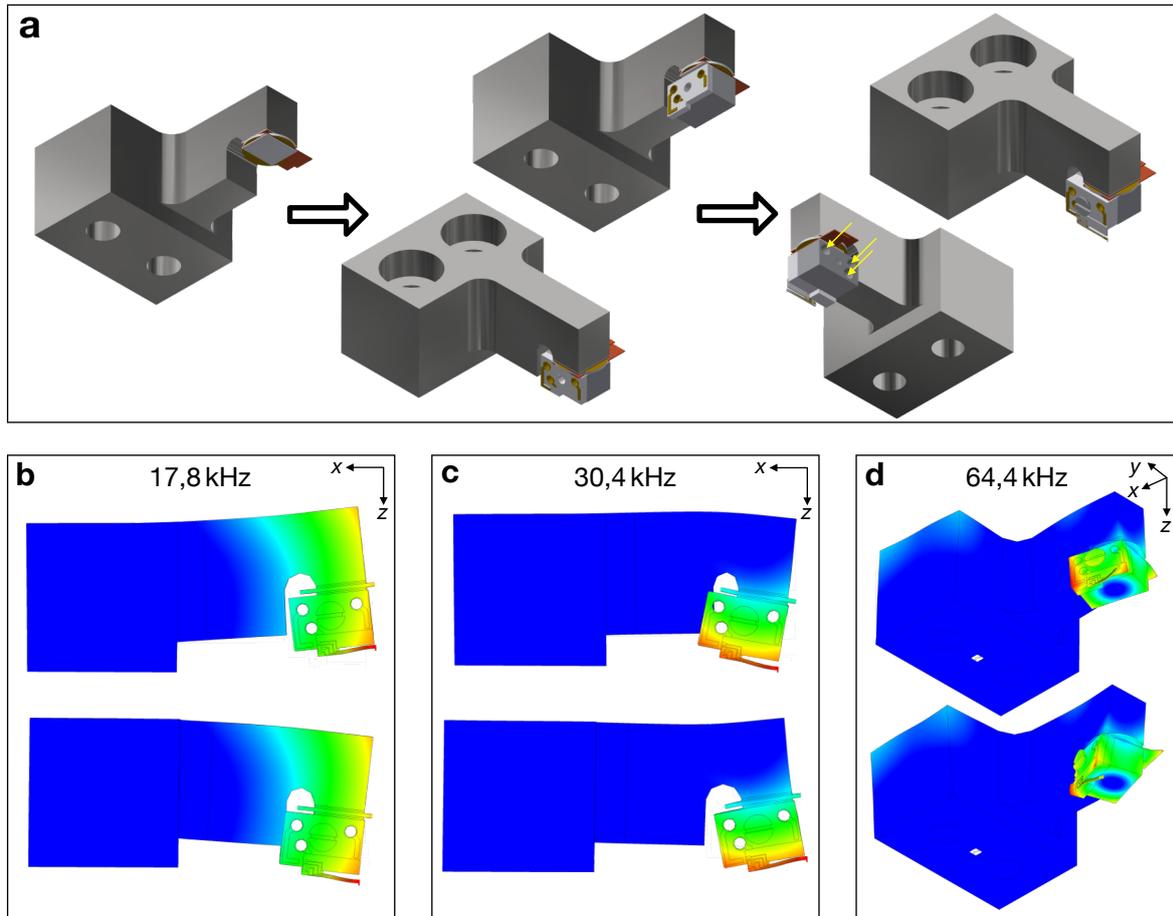


Abbildung 3.9.: Zusammenbau des Sensorhalters und Simulation der Eigenmoden. (a) Schrittweise Illustration des Zusammenbaus. Anfänglich mit dem Aufkleben des Aktuators und anschließend des qPlus Halters. Auf diesen wird zum Abschluss der qPlus Sensor aufgeschraubt. Gelbe Pfeile deuten auf die Kabelkanäle zur Kontaktierung des Sensors. (b)-(d) Simulation zur Bestimmung der Eigenmoden. Die Falschfarbendarstellung zeigt die relativen Positionsveränderungen des Sensorhalters bei den Eigenfrequenzen 17,8 kHz (b), 30,4 kHz (c) und 64,4 kHz (d). Nach Pürckhauer *et al.*, Rev. Sci. Instrum. **91**, 083701 (2020), mit Erlaubnis von AIP Publishing.

Simulation eine weitere Mode bei 64,4 kHz bestimmen. Diese Eigenmode ist eine Torsionsmode, was anhand der Bilder in Abb. 3.9d deutlich wird. Außerdem wurde analog zur Bestimmung der Steifigkeit des Metallarms eine Kraft von $|\vec{F}| = 1 \text{ N}$ simuliert und die Auslenkung des qPlus Halters entlang der x-Achse und entlang der y-Achse beobachtet. Ausgehend davon ergibt sich eine Steifigkeit von 22,6 MN/m für die laterale Mode (c) und eine Steifigkeit von 4,75 MN/m für die Torsionsmode (d).

3.2.2. Probenscanner und Feinpositionierung

In diesem Abschnitt wird der Aufbau des Probenscanners beschrieben. Als Probenscanner bezeichnet man eine Einheit zur Feinpositionierung der Probe in der lateralen x/y-Ebene. Die

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

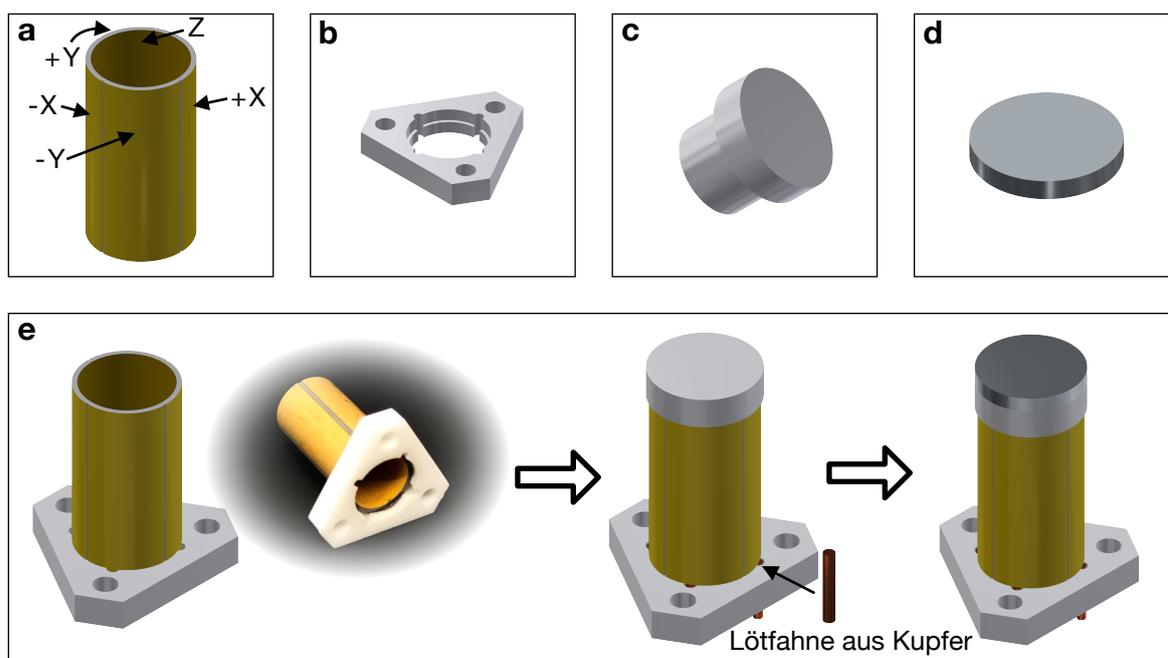


Abbildung 3.10.: Aufbau des Probenscanners zur Feinpositionierung. (a) Röhrenpiezo mit vier Elektroden an der Außen- und einer an der Innenseite. (b) Dreieckiges Keramikstück zur Montierung des Piezos im Schlitten der Grobannäherung. (c) Abstandshalter aus Keramik, der zur Isolierung der Hochspannung von der Probe dient. (d) Magnet, der die Probe auf dem Probenscanner fixiert. (e) Zusammenbau der Bauteile (a)-(d). Zusätzlich ist das Aufkleben von Lötfaehnen aus Kupfer, in die Kerben des inneren Lochs, beispielhaft an einer Position gezeigt. Diese sind zur Kontaktierung der Elektroden des Röhrenpiezos gedacht. Nach Pürckhauer *et al.*, Rev. Sci. Instrum. **91**, 083701 (2020), mit Erlaubnis von AIP Publishing.

laterale Position der Spitze bleibt hingegen unverändert. Das hier gezeigte Design verwendet einen Röhrenpiezo des Typs EBL #4²⁰ [113]. Dieser ist ein piezoelektrischer Hohlzylinder mit vier Elektroden an der Außenfläche und einer Elektrode an der Innenfläche. Die äußeren dienen zur Positionierung in der horizontalen x/y-Ebene und die innere zur Höhenregelung, wie in Abb. 3.10a mit Beschriftungen veranschaulicht ist. An den $\pm X$ und $\pm Y$ Elektroden werden bis zu ± 150 V angelegt. Dies erlaubt die laterale Feinpositionierung in einer $3,2 \mu\text{m} \times 3,2 \mu\text{m}$ großen Ebene. An der inneren Z-Elektrode werden bis zu $+400$ V angelegt und daraus resultiert eine maximale Höhenänderung von $1,2 \mu\text{m}$. Aus diesem Grund wird eine weitere Positioniereinheit zur groben Annäherung der Probe an die Spitze benötigt. Sie wird im anschließenden Abschnitt behandelt. Das Bauteil in Abb. 3.10b zeigt ein dreieckiges Keramikteil, in das der Röhrenpiezo geklebt wird. Dies ist der erste Schritt, der in Abb. 3.10e illustriert ist. Die Löcher an den Ecken dienen später dazu, den Röhrenpiezo mit Schrauben im Schlitten zur Grobannäherung zu fixieren. Das Design sieht vor, dass Proben magnetisch auf dem Röhrenpiezo fixiert werden.

²⁰Verwendet wurde eine EBL #4 mit einer Goldbeschichtung der Elektroden und den Dimensionen $6,35 \text{ mm} \times 0,51 \text{ mm} \times 1,27 \text{ cm}$ (Außendurchmesser \times Wandstärke \times Länge). EBL Products Inc., East Hartford, CT 06108, USA.

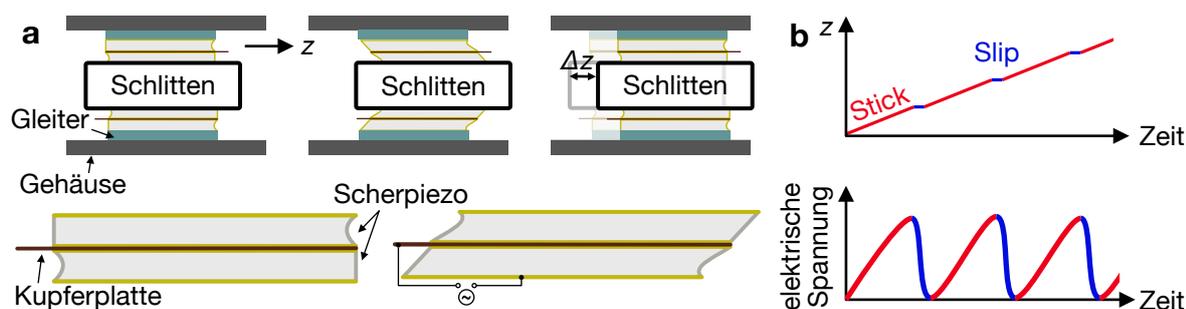


Abbildung 3.11.: Vereinfachte Darstellung der Umsetzung einer Grobannäherung mittels Stick-Slip-Effekt. (a) Zwei Scherpiezos sind zu einem Stapel kombiniert, um eine größere Auslenkung zu erreichen. Es wird eine Sägezahnspannung an die Piezos angelegt, sodass nach der langsameren Auslenkung der Piezos schnell wieder die ursprüngliche Form angenommen wird. Ein skizzierter Schlitten bewegt sich entlang der z -Achse. Ferner ist die zurückgelegte Fahrstrecke des Schlittens Δz veranschaulicht. (b) Unten: Sägezahnspannung im zeitlichen Verlauf. Oben: Änderung der z -Position in Abhängigkeit von der Zeit.

Dazu muss der Magnet (siehe Abb. 3.10d) vom Piezo isoliert werden. Hierzu wird im zweiten Schritt ein Abstandshalter aus Keramik (siehe Abb. 3.10c) in den Piezo eingesetzt. Zur Kontaktierung des Piezos werden Lötflansen aus einem Kupferblech ausgeschnitten und in die kleinen Löcher des dreieckigen Keramikteils gesteckt und mit leitfähigem Kleber mit den Elektroden verbunden. Auf die Position einer Kupferflanke ist exemplarisch in Abb. 3.10e mit einem Pfeil hingewiesen. Erst im letzten Schritt wird der Magnet auf den Abstandshalter geklebt²¹, da bei dem Aushärten der zuvor verwendeten Kleber (EPO-TEK[®] H20E und H70E) die Curie-Temperatur von 80°C überschritten wird.

3.2.3. Grobannäherung und finaler Zusammenbau

Aufgrund des geringen Hubs von 1,2 μm des zur Feinpositionierung verwendeten Röhrenpiezos ist eine automatisierte Grobannäherung an die Probe unerlässlich. Eine Möglichkeit ist das Verwenden eines piezoelektrischen Trägheitsmotors. Dessen Prinzip wird in Abb. 3.11 genauer erläutert. Piezoelektrische Scheraktoren können sich, wie in Abb. 3.11a gezeigt, durch das Anlegen einer Spannung verzerren. In Abb. 3.11a wird anhand des skizzierten Schlittens illustriert, wie dieser im Gehäuse entlang der z -Achse bewegt werden kann. Im Falle des hier gezeigten Mikroskops sind zudem zwei Scherpiezos zu einem Stapel (engl.: stack) vereint, um einen größeren z -Hub zu erreichen. Die Innenseiten des Piezo-Stapels können durch eine dazwischen geklebte Kupferplatte, mit einer hervorstehenden Fahne, kontaktiert werden. Zudem ist, um den Gleitwiderstand zu verringern, ein sogenannter Gleiter auf dem Piezostapel aufgeklebt, der wiederum auf dem Schlitten aufgeklebt ist. Legt man nun eine Sägezahnspannung an die Scherpiezos an, so werden die Piezos zunächst langsam verzerrt und anschließend wieder schnell kontrahiert. In Abb. 3.11b sind die Veränderung der z -Position und die angelegte elek-

²¹Mit J-B Weld[™] geklebt, da dieser auch bei Raumtemperatur innerhalb von 24 Stunden aushärtet.

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

trische Spannung im zeitlichen Verlauf gezeigt. Während des langsamen Ausdehnungsprozesses dominiert zunächst die Haftreibung. Da der Gleiter weiterhin am Gehäuse haftet und sich nur der Schlitten relativ in der Mitte verschiebt, wird dies als „Stick“ (dt. Kleben) bezeichnet. Während der schnellen Kontraktion hingegen wird die Haftreibung aufgrund der Trägheit überwunden und es dominiert die Gleitreibung. Der Gleitprozess wird schließlich als „Slip“ (dt. Gleiten) bezeichnet. Kommt es zum zyklischen Wechsel zwischen Haft- und Gleitreibung wird der Prozess als Stick-Slip-Bewegung bezeichnet. Der Schlitten aus Abb. 3.11a hat also nach einem Zyklus seine z -Position um Δz verschoben. Es hat sich gezeigt, dass optimale Ansteuerungsparameter eine Frequenz von 2 kHz bei einer Spannungsamplitude von 200 V sind. Der Vorschub (pro Schritt) nach oben (entgegen der Gewichtskraft) beträgt in diesem Fall etwa 300 nm.

Eine Fotografie des fertig montierten Mikroskops in Abb. 3.12a soll die Umsetzung des Konzepts der groben Annäherung veranschaulichen. Der Röhrenpiezo zur Feinpositionierung sitzt in dem Schlitten, der die Einheit (inkl. der Probe) in Richtung der Spitze schieben kann. Ein weißer Pfeil deutet sowohl auf die Perspektive der folgenden Zeichnung (b) als auch auf die Richtung der Annäherung zur Spitze. Die Illustration der Perspektive von unten auf den Schlitten in (b) zeigt das dreiecksförmige Design des Schlittens. Mit Hilfe des soeben erläuterten piezoelektrischen Trägheitsmotors mittels Scherpiezos (d) kann dieser auf definierten Kontaktpunkten entlang der z -Achse gleiten. In Teilbild (c) ist die Basis des Schlittens abgebildet. Der Metallkörper hat dabei ein Griffstück, um ihn leichter mit der Hand aus dem Gehäuse entnehmen zu können. Es zeigt in (b) in die negative y -Richtung und ist mit „c“ beschriftet. Die in (d) gezeigten Piezostapel bestehen aus zwei kombinierten $5\text{ mm} \times 5\text{ mm}$ großen Scherpiezos²². Die Kerbe in den gelb dargestellten Scherpiezos weist auf die Richtung der Polarisierung hin. Je nach Polarität der angelegten elektrischen Spannung kann der Schlitten nach oben oder unten bewegt werden. Die Haftreibung zwischen dem Schlitten und dem zugehörigen Gehäuse (e) wird dabei durch einen Magneten (f) erreicht. Um möglichst gute Gleiteigenschaften und wenig Abnutzung zu erreichen, gleitet der Schlitten auf Wolframcarbid-Stücken, die sowohl auf die Piezo-Stapel als auch in das Gehäuse geklebt sind. Wolframcarbid (WC) ist ein extrem hartes Material mit einer Mohs-Härte zwischen 9 und 9,5 [86] (siehe auch Tab. 3.2 im Kap. 3.1.3). Ferner wurde eine Lösung mit vier Auflagepunkten gewählt, da sich gezeigt hat, dass drei Auflagepunkte zu einer geringeren Stabilität während der Annäherung führen. In unserer Hypothese liegt dies an der starken Beschleunigung, die eine Rotation um den einzelnen Kontaktpunkt nach sich zieht. In Abb. 3.12d sind zwei Varianten von Piezo-Stapeln gezeigt. Auf drei der verwendeten Piezos ist, wie rechts oben dargestellt, ein halber Wolframcarbid-Zylinder aufgeklebt. Auf dem vierten sind hingegen zwei Wolframcarbid-Stücke so aufgeklebt, dass diese ein „V“ bilden, wie links unten im Bild (d) dargestellt. Dies hat zur Folge, dass der Schlitten an diesem Punkt wohl-definiert aufliegt. An diesem Punkt kann deshalb nur eine Rotation um die z -Achse des Wolframcarbid-Stabes, welcher in das Gehäuse

²²Material PIC255, PI GmbH & Co. KG, 07589 Lederhose, Deutschland.

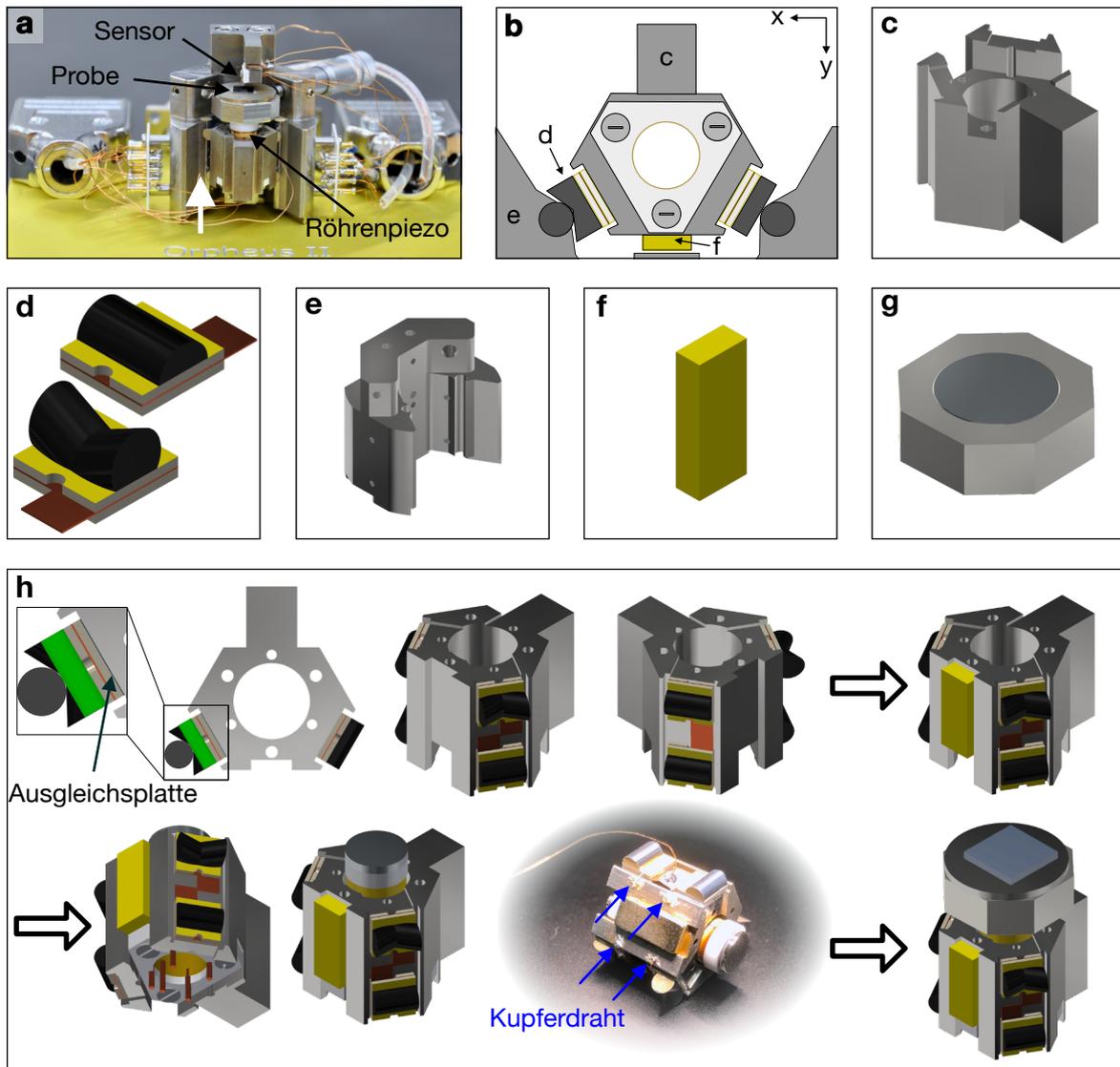


Abbildung 3.12.: Aufbau des Schlittens zur Grobannäherung. (a) Fotografie des finalen Mikroskops. (b) Schematische Zeichnung der Perspektive von unten auf den Schlitten, der magnetisch im Gehäuse gehalten wird. Die einzelnen Bauteile sind mit dem jeweiligen Buchstaben der Teilabbildung markiert. (c) Basis des Schlittens, in den der Piezo-Scanner eingesetzt wird. (d) Piezo-Stapel aus jeweils zwei Scherpiezos zur Bewegung des Schlittens mittels des Stick-Slip-Effekts. Der Piezo-Stapel rechts oben hat als Gleitfläche einen halbierten Wolframcarbid-Zylinder und der links unten hat V-förmig angeordnete Wolframcarbid-Stücke. (e) Gehäuse des Schlittens. (f) Magnet, der an den Metallkörper des Schlittens (c) geklebt wird. (g) Probenhalter, der auch als Abstandshalter fungiert und in den ein Magnet eingesetzt ist. (h) Bebilderte Beschreibung des Zusammenbaus des Schlittens. In diesen wird zum Abschluss der Röhrenpiezo eingesetzt. Nach Pürckhauer *et al.*, *Rev. Sci. Instrum.* **91**, 083701 (2020), mit Erlaubnis von AIP Publishing.

geklebt ist, erfolgen. Dies wird eingängig, wenn in der schematischen Zeichnung in Teilbild (b) der Auflagepunkt links (V-Form) mit dem rechten (flache Form) verglichen wird. Um eine

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

Balance zwischen zu vielen und zu wenigen Freiheitsgraden zu erreichen, weist nur einer der vier Piezo-Stapel eine V-Konfiguration auf. Dieser wird zudem die obere Position, welche näher zur Probe ist, einnehmen. Eine mögliche Ursache von Instabilitäten kann dennoch eine variierende Dicke der Ausgangsmaterialien oder der Klebeverbindungen sein. Dies kann zum Teil durch das Präparieren von mehr als vier Piezo-Stapeln und das anschließende Auswählen der bestmöglichen Kombinationen, die nur um wenige Mikrometer voneinander abweichen, kompensiert werden. In Abb. 3.12h ist links oben ein Fall gezeigt, in dem es nötig war, eine Ausgleichsplatte auf einen Piezo-Stapel mit einem flachen Wolframcarbid-Stück (grün eingefärbt) zu kleben, um die Dicke um ca. 0,1 mm zu erhöhen. Andernfalls wäre der Schlitten auf einer Seite nicht plan im Gehäuse aufgelegt.

Aufgrund des kompakten Design reicht bei flachen Proben der Fahrweg der Grobannäherung nicht aus. In diesem Fall wird ein zusätzlicher Probenhalter aufgesetzt, der den restlichen Fahrweg überbrückt. Er ist in Abb. 3.12g gezeigt und hat eine achteckige Form. In diesen Probenhalter ist ein weiterer Magnet zur Fixierung der Probe eingesetzt.

Eine Schritt-für-Schritt-Anleitung der Montage des Schlittens ist anhand von 3D-CAD Zeichnungen in Abb. 3.12h abgebildet. Folgende Schritte werden dabei abgehandelt:

- (i) Die Piezo-Stapel werden auf den Metallkörper des Schlittens geklebt. Falls nötig, kann eine Korrektur der Dicke durch eine Ausgleichsplatte erfolgen. Die Sicht von beiden Seiten zeigt den Aufbau mit vier Piezo-Stapeln, wovon einer eine V-förmige Anordnung von Wolframcarbid-Stücken hat. Dieser Piezo-Stapel wird auf die Position aufgeklebt, welche näher zur Probe ist.
- (ii) Der Magnet wird auf den Metallkörper aufgeklebt. Er hält später den Schlitten im Gehäuse.
- (iii) Der Piezo-Scanner zur Feinpositionierung wird in den Schlitten eingesetzt. Das dreieckige Keramikstück (siehe Abb. 3.10b), in das der Röhrenpiezo geklebt ist, wird hierzu mit drei Schrauben fixiert. Die Ansicht von schräg unten (siehe Abb. 3.12h unten links) auf den Schlitten veranschaulicht dies. Zusätzlich sind die Kupferbahnen zur Kontaktierung der Elektroden des Röhrenpiezos sichtbar.
- (iv) Kontaktierung der Scherpiezos. Ein Kupferkabel wird an die in der Mitte der Piezostapel platzierte Kupferplatte gelötet. Um eine Potentialdifferenz an den Scherpiezos anzulegen zu können, muss zudem die äußere Seite mit dem entsprechenden Referenzpotential des restlichen Mikroskops verbunden werden. Über die leitfähigen Wolframcarbid-Stücke ist dies für die äußeren Elektroden der Fall. Die zum Schlitten hin gewandte Seite wird mit leitfähigem Epoxidkleber aufgeklebt. Folglich ist es durch kleine Kupferdrähte möglich, den Schlitten, sowie die fehlenden Elektroden, mit dem Referenzpotential zu verbinden. Die Position dieser kleinen Kupferdrähte ist durch blaue Pfeile gezeigt.
- (v) Der Probenhalter mit eingesetztem Magneten wird auf den Piezo-Scanner aufgesetzt.

3.2. Aufbau eines Rasterkraftmikroskops mit optischem Zugang

Im Bild ist zudem eine auf einem runden Probenhalter platzierte Probe (graublau) zu sehen.

Der finale Zusammenbau aller Bauteile ist in Abb. 3.13a abgebildet. Dabei werden folgende Schritte durchgeführt:

- (i) In das Gehäuse aus Abb. 3.12e werden die beiden Wolframcarbid-Stäbe (Durchmesser von 3 mm) geklebt. Auf diesen gleitet der Schlitten. Anschließend wird das Gehäuse auf eine 9 cm × 12 cm große eloxierte Metallplatte (golden) aufgeschraubt.
- (ii) Zwei Mikrometerschrauben werden eingesetzt und erlauben eine grobe laterale Positionierung der Probe.
- (iii) Falls eine Instabilität des Schlittens auftritt, kann der Abstand zwischen dem Magneten und dem Gehäuse verringert werden. Dies geschieht durch ein austauschbares Abstandsblech (variabler Dicke), auf das ein Pfeil hinweist.
- (iv) Vorverstärker für AFM (rechts) und STM (hinten) werden montiert und ebenso ein Steckbrett für die Hochspannungsverbindungen zum Röhrenpiezo. Die Positionen sind in den Bildern (c) und (d) nochmals gesondert gezeigt.
- (v) Der Schlitten wird in das Metallgehäuse eingesetzt und zum Abschluss wird der Sensorhalter auf dem Gehäuse aufgeschraubt.

In den Abb. 3.13b-e sind Fotos des fertigen Rasterkraftmikroskops aus unterschiedlichen Perspektiven gezeigt. In den Bildern (b) und (c) sind Vogelperspektiven zu sehen, die zum einen die Sicht auf die Probe und Spitze ermöglichen (b) als auch die kompakten Dimensionen des Mikroskops und der damit einhergehenden kurzen Kabelwege zeigen (c). Letzteres ist ein wichtiges Kriterium, um parasitäre Kapazitäten gering zu halten. Überdies hat es sich als wichtig herausgestellt, dass die Kabel zum Anlegen der Hochspannung räumlich getrennt zu den AFM und STM Signalkabeln sein müssen. Aus diesem Grund gibt es zwei 9-polige D-Sub (engl.: D-Subminiature) Stecker. In der rückwärtigen Ansicht des Mikroskops in Abb. 3.13e sind diese deutlich zu erkennen. Da an den in Bild (e) rechts zu sehenden Adapter die Hochspannung angelegt wird, ist dieser Adapter in der männlichen Ausführung auf dem Mikroskop montiert. Der anzuschließende Adapter ist folglich weiblich und dient damit der Sicherheit, denn er verhindert einen versehentlichen Kontakt mit einer offenen Hochspannung. Der in Abb. 3.13e links zu sehende D-Sub Adapter dient u.a. der Spannungsversorgung der Vorverstärker und dem Anlegen einer Potentialdifferenz zwischen Probe und Spitze, falls beispielsweise ein Tunnelstrom gemessen werden soll. Wie bereits zuvor angedeutet, sind die männliche und weibliche Ausführung, im Vergleich zu der Hochspannungsversorgung, vertauscht. Dies verhindert einen Anschluss der Hochspannung an den Verstärker. Die ausgehenden Signale der Vorverstärker werden jeweils getrennt über abgeschirmte Koaxialkabel zur Regeleinheit übertragen. Eine ausführliche Beschreibung der elektrischen Bauteile und Filter wird im anschließenden Abschnitt gegeben.

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

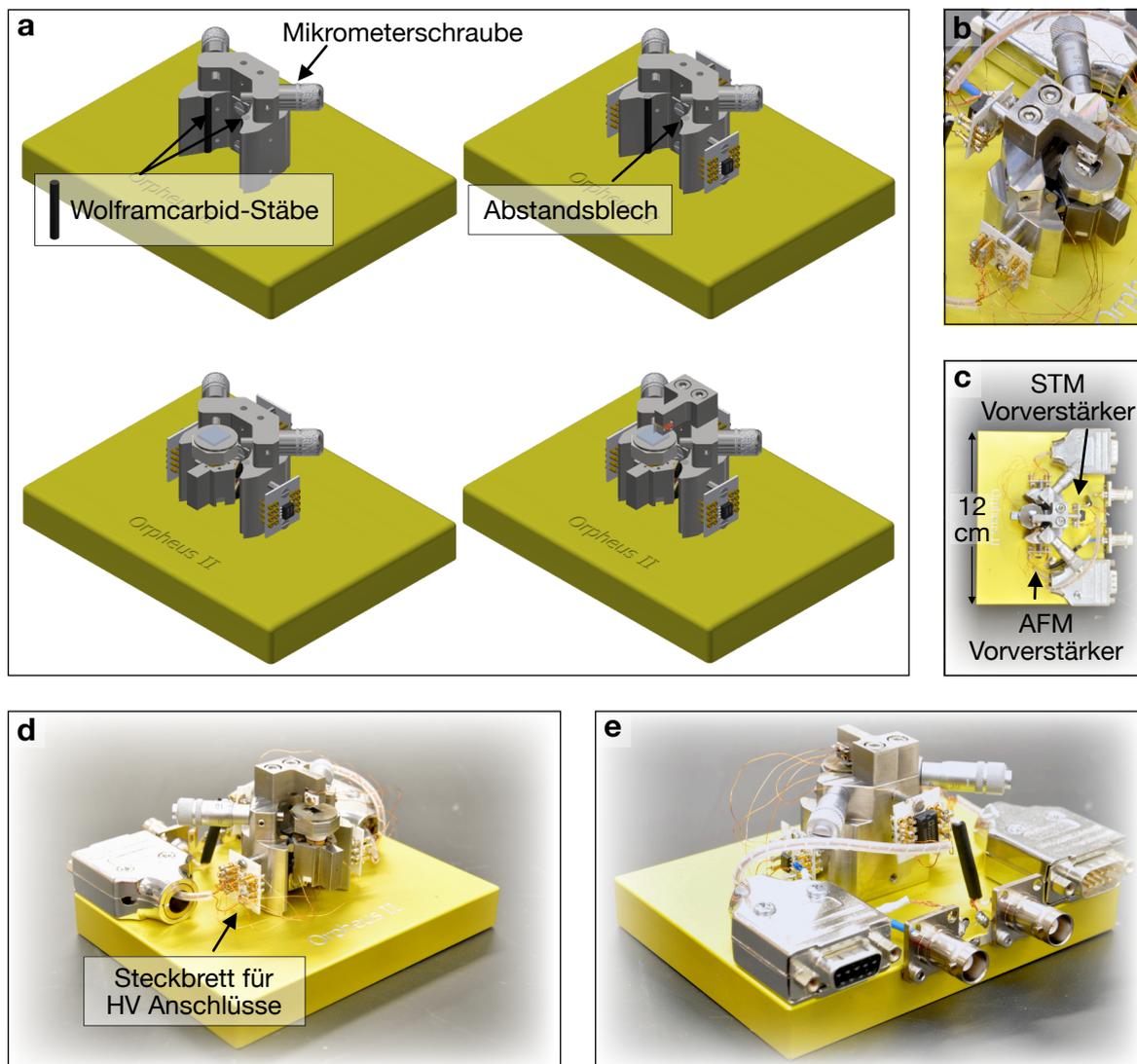


Abbildung 3.13.: Finale Montage des Rasterkraftmikroskops. (a) Bebilderte Anleitung zum Zusammenbau der Komponenten. Dies umfasst das Aufkleben von Wolframcarbid-Stäben in das Gehäuse, das Aufsetzen des Gehäuses auf eine goldene Metallplatte, das Einsetzen von Mikrometerschrauben zur lateralen Probenpositionierung, das Einsetzen des Proben-Schlittens und final das Aufschrauben des Sensorhalters. (b) Fotografie des Schlittens aus einer Vogelperspektive. Der sichtbare Abstand zwischen Schlitten und Gehäuse kann durch ein auswechselbares Abstandsblech angepasst werden. (c) Sicht von oben mit markierten Positionen der AFM- und STM-Vorverstärker. (d) Frontansicht des Mikroskops. Gekennzeichnet ist das sichtbare Steckbrett für die Hochspannungsversorgung (HV) der Grob- und Feinpositioniereinheit. (e) Perspektive von hinten. Sie zeigt die verwendeten Adapter der Signalwege. Die AFM und STM Signale werden über Koaxialkabel übertragen. Der Anschluss der Spannungen erfolgt über 9-polige D-Sub Steckverbindungen. Nach Pürckhauer *et al.*, Rev. Sci. Instrum. **91**, 083701 (2020), mit Erlaubnis von AIP Publishing.

3.2.4. Vorverstärker und Signalfilter

Wie bereits erwähnt, ist ein Vorteil des qPlus Sensors die einfache Detektion der Auslenkung des Federbalkens durch die piezoelektrischen Eigenschaften von Quarz. In Bezug auf das elektrische Rauschen spielt, neben der Sensitivität des Sensors, auch der Vorverstärker eine entscheidende Rolle. Substanzielle Fortschritte konnten durch die Verwendung eines differenziellen Verstärkers (OPA657U [114] mit einem $10\text{ G}\Omega$ oder einem $20\text{ G}\Omega$ Rückkopplungswiderstand) erzielt werden. Eine detaillierte Beschreibung befindet sich in Ref. [115]. In dem hier gezeigten Mikroskop ist zudem ein Vorverstärker für Tunnelmikroskopie verbaut. Es wurde ein Aufbau gewählt, der das gleichzeitige Messen eines Stroms über die Spitze und das Anlegen eines Potentials an die Spitze erlaubt. Im Speziellen wurde dieser Aufbau gewählt, da er zur Detektion von elektrochemischen Strömen verwendet werden kann und deshalb die Variabilität des Mikroskops erhöht. Bei derartigen Messungen spricht man von elektrochemischer Rastermikroskopie (SECM, engl.: scanning electrochemical microscopy), deren Durchführbarkeit in dieser Arbeit ebenso demonstriert wird. Um ein kompaktes Mikroskop beizubehalten, wurde der Chip AD823 [116] verwendet, da er zwei Verstärker beinhaltet.

Unabhängig von der Wahl des Operationsverstärkers ist eine rauscharme Spannungsversorgung entscheidend, um ein geringes elektrisches Rauschen zu erzielen. Eine Möglichkeit besteht darin, Batterien zu verwenden. Ein Nachteil von diesen ist jedoch, dass sie regelmäßig gewechselt werden müssen. Eine andere Möglichkeit stellt die Nutzung der $\pm 15\text{ V}$ Gleichspannungsquelle der verwendeten NanonisTM²³ Steuereinheit dar. Zum einen benötigt der OPA657U eine Spannung von $\pm 5\text{ V}$. Zum anderen hat sich herausgestellt, dass die Gleichspannungsquelle der NanonisTM rauschbehaftet ist. Aus diesem Grund wurde ein Spannungsregler, wie er im Datenblatt des LM137 & LM337-N²⁴ beschrieben ist [117], aufgebaut. Ein Tiefpassfilter mit einer Grenzfrequenz von ungefähr $6,5\text{ Hz}$ sorgt für die Verringerung des höher frequenten Rauschens. Der gesamte Schaltkreis ist in Abb. 3.14a gezeigt. Diese gefilterte Gleichspannung betreibt die beiden Vorverstärker, welche in Abb. 3.14b (AFM) und Abb. 3.14c (STM/SECM) abgebildet sind. Beim differenziellen AFM-Vorverstärker ist zu beachten, dass nach dem Operationsverstärker OPA657U ein $R_2 = 2\text{ k}\Omega$ Ausgangswiderstand geschaltet ist. Dieser verhindert Instabilität beziehungsweise ein Überschwingen des Verstärkers wegen der kapazitiven Last des angeschlossenen Kabels [114, 115]. Der STM- und SECM-Vorverstärker, der in Abb. 3.14c illustriert ist, hat einen zweigeteilten Aufbau. Zunächst wird die Schaltung eines Strom-Spannungswandlers, auch Transimpedanzverstärker genannt, mit einem Rückkopplungswiderstand $R_3 = 0,1\text{ G}\Omega$ verwendet. Wird an den nicht-invertierenden (positiven, +) Eingang eine Spannung V_B angelegt, so beträgt die Ausgangsspannung im idealen Fall $V'_a = -R_3 \cdot I + V_B$. Dabei ist I der zu messende Tunnel-/SECM-Strom (angeschlossen an den invertierenden Eingang). Deshalb wird nach dem Transimpedanzverstärker noch ein Differenzverstärker (hier als Subtrahierer) geschaltet. Die Ausgangsspannung V_a eines idealen

²³SPECS Surface Nano Analysis GmbH, 13355 Berlin, Deutschland.

²⁴Texas Instruments Inc., Dallas, TX 75243, USA.

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

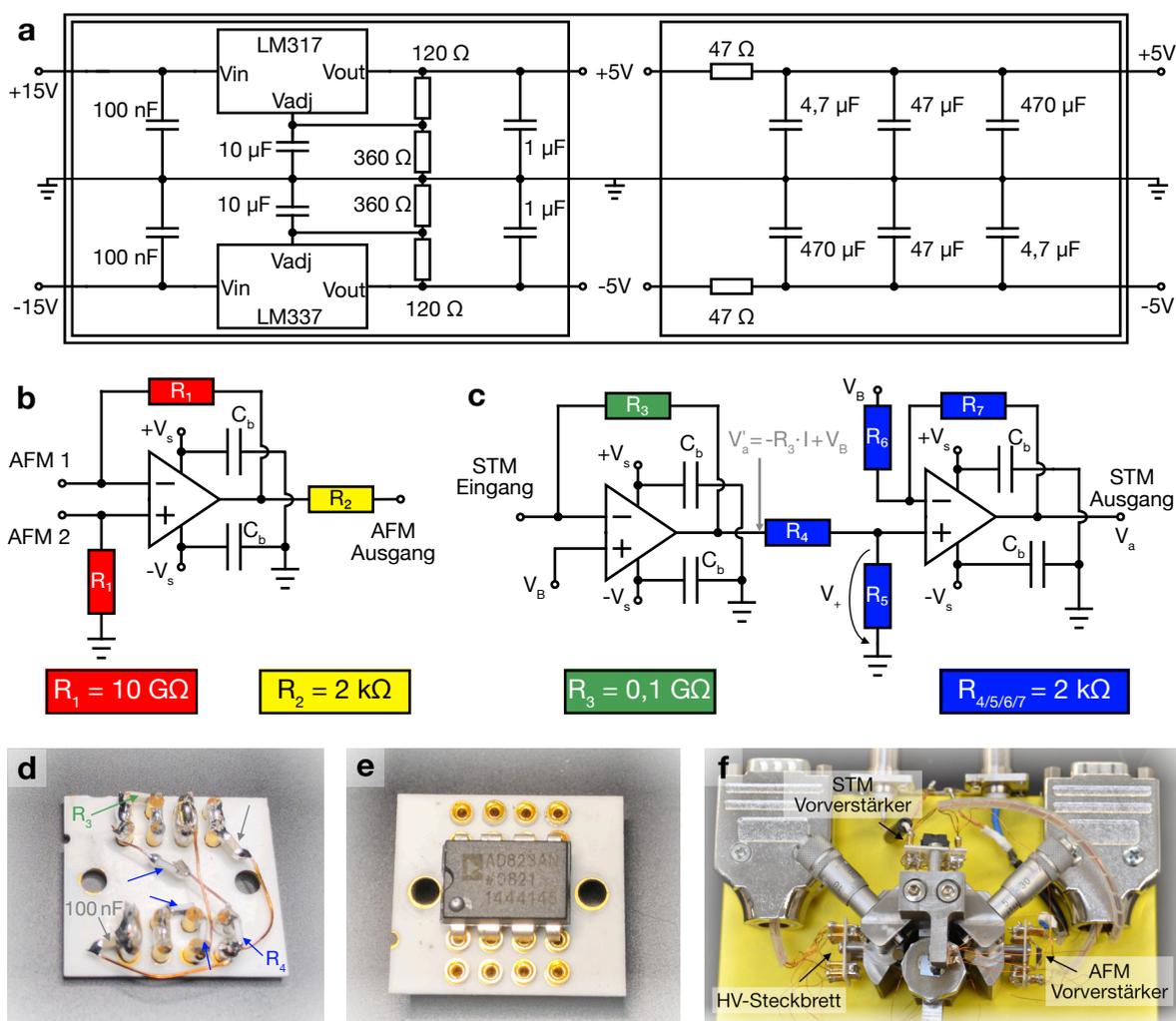


Abbildung 3.14.: Vorverstärker für AFM und STM und zugehörige Filter. (a) Spannungsregler von $\pm 15 \text{ V}$ auf $\pm 5 \text{ V}$ mit sich anschließendem Tiefpassfilter. Diese gefilterte Gleichspannung dient als Versorgungsspannung für die Operationsverstärker. (b) Differenzieller Vorverstärker auf Basis des Operationsverstärkers OPA657U [114] mit einem Rückkopplungswiderstand $R_1 = 10 \text{ G}\Omega$ und einem Ausgangswiderstand $R_2 = 2 \text{ k}\Omega$. (c) Auf einem Potential V_B schwebender STM-Vorverstärker mit anschließendem Subtrahierer. Verwendet ist ein AD823 [116], da er 2 Verstärker in einem Chip beinhaltet. Der Transimpedanzverstärker hat einen Rückkopplungswiderstand $R_3 = 0,1 \text{ G}\Omega$ und an den nicht-invertierenden Eingang wird V_B angelegt. Das Ausgangssignal des ersten Verstärkers ist $V'_a = -R_3 \cdot I + V_B$. Die angelegte Spannung V_B wird im Anschluss durch das subtrahierende Element wieder abgezogen. Dazu werden vier gleich große Widerstände $R_{4/5/6/7} = 2 \text{ k}\Omega$ verwendet. (d) Fotografie der Rückseite des STM-Vorverstärkers. In die Platine aus Aluminiumoxid sind goldene Steckkontakte eingesetzt und außerdem ist sie mit Widerständen und Kondensatoren bestückt. Die Positionen der Bauteile ist im Foto gezeigt. (e) Fotografie der Vorderseite des STM-Vorverstärkers. Die acht Beine des AD823 sind dabei in die beiden inneren Reihen der Steckverbindungen eingesetzt. (f) Fotografie von oben auf das Rastersondenmikroskop zeigt die kurzen Kabelwege zu den markierten Vorverstärkern. Nach Pürckhauer *et al.*, Rev. Sci. Instrum. **91**, 083701 (2020), mit Erlaubnis von AIP Publishing.

Differenzverstärkers ist [118]

$$V_a = V'_a \cdot \frac{R_5}{R_4 + R_5} \cdot \frac{R_6 + R_7}{R_6} - \frac{V_B}{R_6} \cdot R_7 \quad (3.14)$$

und falls $R_4 = R_5 = R_6 = R_7$ dann gilt für die Ausgangsspannung V_a :

$$V_a = V'_a \cdot \frac{R_4}{R_4 + R_4} \cdot \frac{R_4 + R_4}{R_4} - \frac{V_B}{R_4} \cdot R_4 = \underbrace{-R_3 \cdot I + V_B}_{V'_a} - V_B = -R_3 \cdot I. \quad (3.15)$$

Da eine geringe Fehlertoleranz der Widerstände R_4 vonnöten ist, um eine perfekte Subtraktion zu gewährleisten, wurden $2\text{ k}\Omega$ Widerstände mit einer Toleranz von 1% verwendet. In dem hier gezeigten Mikroskop werden sowohl der AFM als auch der STM-Vorverstärker mit der gefilterten $\pm 5\text{ V}$ Spannung versorgt, wobei diese nochmals mit Kondensatoren $C_b = 100\text{ nF}$ gegenüber der Masse gepuffert werden. Der Rückkopplungswiderstand $R_3 = 0,1\text{ G}\Omega$ in Kombination mit $\pm 5\text{ V}$ Spannung erlaubt eine Detektion von Strömen bis zu $\pm 50\text{ nA}$. In den Abb. 3.14d und 3.14e sind die Rück- und Vorderseite des STM-Vorverstärkers gezeigt. Als Platinen für die Vorverstärker werden Platten aus Aluminiumoxid verwendet, um die Leckströme möglichst gering zu halten. In die Platine sind goldene Steckverbindungen eingesetzt. Auf der Rückseite werden die goldenen Stifte verkabelt, wie in Abb. 3.14d zu sehen ist. Gekennzeichnet sind zudem der Rückkopplungswiderstand $R_3 = 0,1\text{ G}\Omega$ (grüner Pfeil), die vier Widerstände $R_4 = 2\text{ k}\Omega$ (blaue Pfeile) und die beiden Kondensatoren $C_b = 100\text{ nF}$ (graue Pfeile). Der Operationsverstärker AD823 wird in die inneren Reihen der Steckverbindungen eingesetzt, wie die Sicht von oben auf den Vorverstärker in Abb. 3.14e zeigt. Eine weitere Ansicht aus der Vogelperspektive auf das Mikroskop soll nochmals verstärkt auf die kurzen Kabelwege hindeuten. Diese kurzen Wege sollen die parasitären Kapazitäten der Kabel möglichst gering halten.

Weitere Rausch- oder Störquellen können eliminiert werden, indem die Hochspannungversorgung (HV) ebenfalls gefiltert wird. Da der Röhrenpiezo, an den die Spannung angelegt wird, bereits als Kondensator agiert, reichen zwischengeschaltete Widerstände aus, um einen RC-Tiefpass zu erzeugen. Der Aufbau ist in Abb. 3.15 dargestellt. Auf der linken Seite der Graphik ist zur Veranschaulichung die Elektrodenanordnung im Querschnitt des Röhrenpiezos gezeigt. Da die Kapazitäten zwischen den äußeren Elektroden selbst vernachlässigbar sind ($< 0,1\text{ nF}$), ist einzig die Kapazität zu der Innenelektrode ($1,2\text{ nF}$) relevant. Zwischen HV-Quelle und den $\pm X$ und $\pm Y$ Elektroden werden $27\text{ k}\Omega$ Widerstände eingesetzt, womit der Tiefpass eine Grenzfrequenz von $4,9\text{ kHz}$ aufweist. Für Z wird ein Widerstand von $6,7\text{ k}\Omega$ verwendet, um eine zu den $\pm X$ und $\pm Y$ Elektroden äquivalente Grenzfrequenz von $4,9\text{ kHz}$ zu erreichen.

3.2.5. Diskussion der Stabilität und experimentelles Auflösungsvermögen

Das Auflösungsvermögen eines Rasterkraftmikroskops ist zum einen begrenzt durch das elektrische Rauschen und zum anderen durch die mechanische Stabilität. Eine Möglichkeit

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

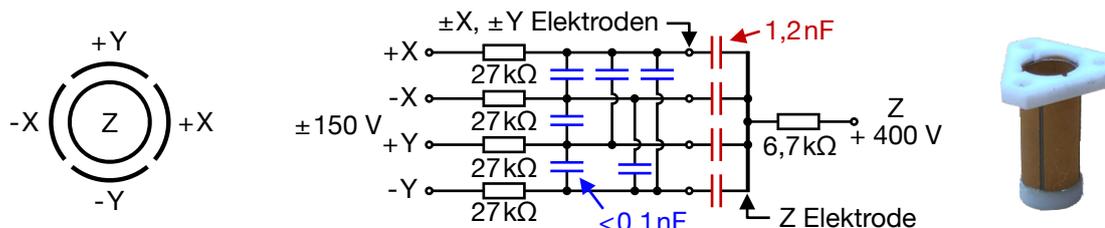


Abbildung 3.15.: Schaltung des Tiefpassfilters, welcher zwischen der Hochspannungsversorgung und dem Mikroskop verwendet wird. Auf der rechten Seite zeigt ein Foto den Röhrenpiezo, an den die Spannung angelegt wird. Ein Querschnitt des Röhrenpiezos ist auf der linken Seite skizziert und zeigt dessen Elektrodenanordnung. Die äußeren Elektroden ($\pm X$ und $\pm Y$) haben dabei eine Kapazität von $1,2 \text{ nF}$ bezüglich der Innenelektrode. Um einen RC-Tiefpass mit einer Grenzfrequenz von $4,9 \text{ kHz}$ zu erzeugen, werden bei den $\pm X$ und $\pm Y$ Elektroden $27 \text{ k}\Omega$ Widerstände und bei Z ein $6,7 \text{ k}\Omega$ Widerstand verwendet. Nach Pürckhauer *et al.*, Rev. Sci. Instrum. **91**, 083701 (2020), mit Erlaubnis von AIP Publishing.

das elektrische Rauschen zu quantifizieren, ist das Bestimmen des minimal detektierbaren Kraftgradienten $\delta\langle k_{ts} \rangle_{\min}$. Dieser setzt sich, wie im Kap. 2.2.2 beschrieben, aus dem thermischen Rauschen, dem Detektorrauschen und dem Oszillatorrauschen zusammen. Neben der Temperatur T spielen auch die Sensorparameter wie Resonanzfrequenz f_0 , Steifigkeit k , die Güte Q und die Auslenkungsrauschdichte n_q eine Rolle. Letztere beeinflusst linear das insbesondere bei tiefen Temperaturen dominierende Detektorrauschen. Mit der im Kap. 3.1.1 vorgestellten Methode wurde mittels eines thermischen Leistungsspektrums eine Auslenkungsrauschdichte von $n_q = 17 \text{ fm}/\sqrt{\text{Hz}}$ für den AFM-Vorverstärker gemessen. Eine weitere experimentell zugängliche Größe ist die Güte Q der Sensorschwingung. Sie ist invers proportional zum Energieverlust pro Oszillationszyklus. Bei den hier verwendeten Sensoren lag die Güte in der Regel zwischen 3500 und 5500. Daraus lässt sich auch nochmals schließen, dass die Eigenfrequenzen des Sensorhalters keine signifikanten Auswirkungen auf die Sensorschwingung haben. Auf die Möglichkeit den minimal detektierbaren Kraftgradienten $\delta\langle k_{ts} \rangle_{\min}$ (siehe Kap. 2.2.2) zu berechnen, soll an dieser Stelle verzichtet werden. Dieser wird jedoch im Kap. 4 an entsprechender Stelle nochmals vertieft für ein qPlus AFM aufgegriffen. Es soll nun stattdessen die mechanische Stabilität des vorgestellten Mikroskops experimentell bestimmt werden und außerdem gezeigt werden, dass atomare Auflösung sowohl mit AFM als auch STM erreicht werden kann. Überdies werden noch erste Messungen elektrochemischer Signale vorgestellt, die zudem das volle Potential des Vorverstärkers demonstrieren.

Stabilität und thermische Drift

Es ist bekannt, dass die thermische Drift eine kritische Rolle bei AFM und STM Messungen bei Raumtemperatur einnimmt. Die laterale Drift kann durch Kreuzkorrelation von aufeinanderfolgenden Messungen bestimmt werden. Die Höhendrift kann zudem durch Langzeitmessungen an einer konstanten lateralen Position bestimmt werden. Als Probe wurde hierzu ein Test-

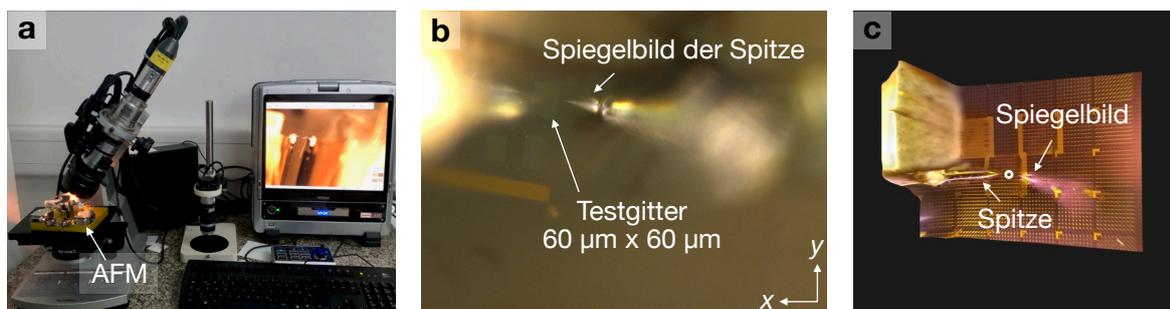


Abbildung 3.16.: Positionierung der Spitze auf einer zu untersuchenden Probe. (a) Foto des gewählten Aufbaus. Ein um einen Winkel von ca. 30° verkipptes Objektiv des Digitalmikroskops ist auf die Spitze des darunter positionierten AFMs fokussiert. (b) Vergrößerte Ansicht zeigt das $60\ \mu\text{m} \times 60\ \mu\text{m}$ große Testgitter. Deutlich sichtbar ist das Spiegelbild der Spitze. (c) Dreidimensionale Aufnahme einer Spitze, die auf einer $200\ \mu\text{m} \times 200\ \mu\text{m}$ großen Probe positioniert wird. Ein Kreis deutet auf den Mittelpunkt zwischen Spitze und Spiegelbild.

gitter mit $200\ \text{nm} \times 200\ \text{nm}$ großen und $40\ \text{nm}$ hohen Quadraten verwendet. Die Reihen der Quadrate auf dem Siliziumsubstrat sind dabei alternierend aus Gold und Siliziumdioxid. Da der Bereich des Testgitters nur $60\ \mu\text{m} \times 60\ \mu\text{m}$ misst, musste die Spitze auf der Probe mit Hilfe eines Lichtmikroskops positioniert werden. In Abhängigkeit von der numerischen Apertur des gewählten optischen Mikroskops mag es notwendig sein, mit einem schräg einfallenden Winkel auf die Spitze und Probe zu schauen. Das verwendete Digitalmikroskop²⁵ kann hierzu um eine Achse geschwenkt werden, wie dies in Abb. 3.16a der Fall ist. Zur Bestimmung der genauen Position der Spitze auf der Probe (im angenäherten Zustand) kann der Mittelpunkt zwischen Spitze und deren Spiegelbild verwendet werden. Zunächst wird die Probe entlang der x-Achse positioniert, wie in Abb. 3.16b zu sehen. Sobald der Mittelpunkt zwischen Spitze und Spiegelbild liegt, wird das Mikroskop um 90° gedreht und anschließend die Position der Probe entlang der y-Achse äquivalent angepasst. In Abb. 3.16c ist eine dreidimensionale Darstellung der Positionierung der Spitze auf einer $200\ \mu\text{m} \times 200\ \mu\text{m}$ großen Probe zu sehen. Das 3D-Bild wurde mittels der im Digitalmikroskop integrierten Software aus Einzelbildern berechnet. Auf diesem errechneten Bild sind die Spitze und deren Spiegelbild deutlich erkennbar. Der Mittelpunkt ist zudem mit einem weißen Kreis markiert.

Ferner ist bei der Auswertung der Stabilität und der thermischen Drift jedoch zu beachten, dass das Auslenkungsverhalten des Röhrenpiezos aus PZT (Blei-Zirkonat-Titanat) aufgrund extrinsischer Domänenanteile einen stark nichtlinearen und hysteresebehafteten Verlauf nimmt. Die Ursache soll anhand von Illustrationen in Abb. 3.17 erklärt werden. Die Abb. 3.17a zeigt eine mögliche Perowskitstruktur von PZT. Liegt die Temperatur oberhalb der Curie-Temperatur T_c von 300°C [119], so sitzen an den Ecken des kubischen Gitters die Bleiionen, an den Seitenflächen die Sauerstoffionen und im Zentrum das Titan- Ti^{4+} oder Zirkonium-Ion Zr^{4+} . Ist die Temperatur jedoch $< T_c$, so kommt es zu einer spontanen Ionenbindung zwischen dem

²⁵VHX-600, Keyence Corp., Osaka, Japan.

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

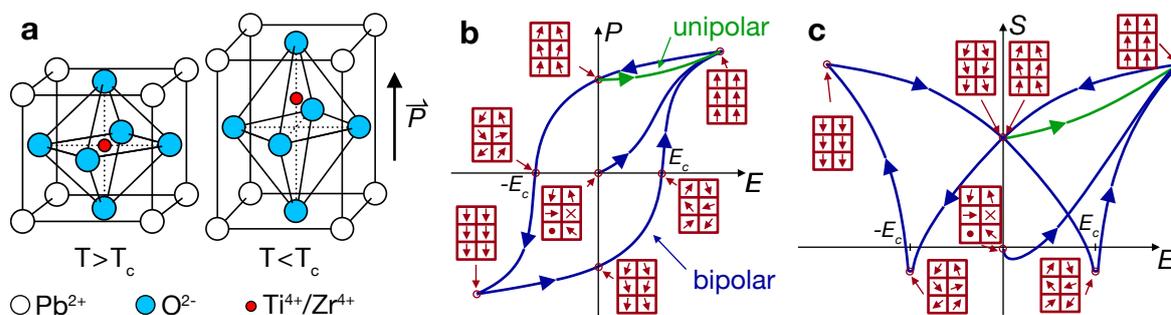


Abbildung 3.17.: Auslenkungsverhalten der piezoelektrischen Keramik PZT (Blei-Zirkonat-Titanat). (a) Gitterstruktur von PZT über und unterhalb der Curie-Temperatur $T_c = 300\text{ °C}$. (b) Hysteresebelasteter Verlauf der Polarisation P bei Veränderung des angelegten elektrischen Feldes E . (c) Schmetterlingskurve der Dehnung S gegenüber dem Anlegen und Verändern der elektrischen Feldstärke E . Bild in Anlehnung an Ref. [121].

Titan- bzw. Zirconium-Ion mit einem der sechs Sauerstoffionen. Das Titan- oder Zirconium-Ion ist deshalb innerhalb der verzerrten Elementarzelle verschoben, was zu einer Polarisation führt [120]. Benachbarte Einheitszellen beeinflussen sich dabei gegenseitig und bilden Domänen aus. Im Ausgangszustand ist der makroskopische Kristall jedoch nicht polarisiert, da die Domänen nicht gerichtet sind. In Abb. 3.17b ist schematisch erklärt wie sich die Polarisation P beim Anlegen eines elektrischen Feldes verhält. Zu Beginn sind die Domänen willkürlich polarisiert. Ein Pfeil weist dabei auf den Verlauf der Polarisation, wenn die elektrische Feldstärke E kontinuierlich erhöht wird. Die maximale Polarisation wird erreicht, wenn alle Dipolmomente die selbe Richtung aufweisen. In Analogie zu ferromagnetischen Materialien bleibt auch bei einer Abschaltung des elektrischen Feldes eine remanente Polarisation P_r bestehen. Aus diesem Grund folgt die Polarisation einer Hysterese und so wird erst bei der negativen Koerzitivfeldstärke E_c eine makroskopisch neutrale Polarisation erreicht. Die Hysterese und deren Verhalten in rückwärtiger Richtung sind in Abb. 3.17b ersichtlich. Eine Möglichkeit die Hysterese zu verringern, ist das Anlegen eines unipolaren elektrischen Feldes. Der Verlauf einer solchen Kurve ist in grüner Farbe ergänzt. Nachteilig ist die verringerte Ausdehnung bei einer unipolaren Ansteuerung. Deshalb wird beim hier gezeigten Mikroskop einzig an die Z-Elektrode eine unipolare Spannung angelegt. Die Abb. 3.17c zeigt das Verhalten der longitudinalen Dehnung S , welche bedingt durch die Hysterese der Polarisation eine Schmetterlingsform hat. Der Verlauf für ein unipolares elektrisches Feld ist erneut in grün eingezeichnet. Ein weiterer Effekt, ebenso hervorgerufen durch die extrinsischen Domänenanteile, ist die Auslenkungs-Drift, wobei hier in der Regel von Kriechen gesprochen wird. Als solches wird die sich ändernde Auslenkung bei einer konstanten Ansteuerspannung bezeichnet. Die Kriechgeschwindigkeit verringert sich dabei logarithmisch mit der Zeit [121].

Bei der Auswertung von AFM Daten, insbesondere wenn mehrere verglichen werden sollen, ist es deshalb nötig die Nichtlinearität, Hysterese und das Kriechen des Röhrenpiezos zu berücksichtigen. Zur Bestimmung der thermischen Drift wurde eine Serie von FM-AFM-

3.2. Aufbau eines Rasterkraftmikroskops mit optischem Zugang

Bildern des zuvor erwähnten Testgitters aufgezeichnet, welche in Abb. 3.18 gezeigt sind. In Abb. 3.18a sieht man die erste Aufnahme, die direkt nach dem Annähern von Probe und Spitze gestartet wurde. Die Probe wurde dabei, relativ gesehen, von der Spitze von oben nach unten und von links nach rechts abgerastert. Die ersten paar Zeilen dieser Messung weisen dabei eine sichtbare Verzerrung auf. Im Bild ist als Hinweis ein weißer Pfeil eingezeichnet. Mögliche Ursachen können das zuvor geschilderte Kriechen oder eine temporäre thermische Instabilität sein. Aufgrund der zuvor beschriebenen Auslenkungseigenschaften können nur FM-AFM-Aufnahmen der selben Orientierung verglichen werden. Deshalb zeigen die beiden Abbildungen 3.18b und 3.18c FM-AFM-Aufnahmen, die mit einem Zeitunterschied von ca. 4,5 Stunden aufgenommen wurden. Zieht man beide Topographien voneinander ab, so ergibt sich das Differenzbild in Abb. 3.18d. Durch den Höhenunterschied von 40 nm zwischen dem Substrat und den Quadraten entsteht ein starker Kontrast in der Falschfarbendarstellung, wenn die beiden Bilder zueinander verschoben sind. Aus dem gezeigten Differenzbild ist es zudem möglich, die Höhenverschiebung an einem Punkt auf dem Substrat abzulesen. An dem in Abb. 3.18d eingezeichneten Punkt ist die Höhe um 30 nm zwischen den Messungen verschoben. Dies entspricht einer Netto-Driftgeschwindigkeit von 113 pm/min. Die laterale Drift wird durch Kreuzkorrelation bestimmt. Der Ort der maximalen Korrelation gibt an, um wie viele Pixel das Bild gedriftet ist. Um eine Driftgeschwindigkeit angeben zu können, wurde zunächst die Anzahl der verschobenen Pixel mit der Größe eines Pixels multipliziert und anschließend durch die Zeitdifferenz dividiert. Typischerweise wird ein AFM-Bild zunächst von oben nach unten (\downarrow) zeilenweise abgerastert und anschließend von unten nach oben (\uparrow). Zudem wird jede Zeile zunächst sowohl von links nach rechts (FW, engl.: forward) als auch von rechts nach links (BW, engl.: backward) aufgezeichnet, bevor zur nächsten Zeile gewechselt wird. Deshalb werden zyklisch Bilder in vier unterschiedlichen Orientierungen aufgenommen. Der zeitliche Unterschied zwischen zwei identischen Orientierungen beträgt die bereits zuvor erwähnten 4,5 Stunden. Die über einen Zeitraum von ca. 43 Stunden aufgenommenen Daten wurden entsprechend ihrer Orientierung ausgewertet und sind in Abb. 3.18g als Driftgeschwindigkeit in x- und y-Richtung dargestellt. Die vier Orientierungen (\downarrow FW, \downarrow BW, \uparrow FW, \uparrow BW) sind zu einem Datenpunkt zusammengefasst und mit Fehlerbalken versehen. Der Fehlerbalken gibt die Standardabweichung innerhalb der vier Messungen an. Nach etwa 22 Stunden wurde die Pixeldichte der aufgezeichneten Daten von anfänglichen 85,32 pixel/ μm auf 641,0 pixel/ μm erhöht. In Abb. 3.18h ist der simultan aufgezeichnete Verlauf von Temperatur und Luftfeuchtigkeit gezeigt, da Schwankungen dieser Werte einen großen Einfluss haben können. In dem hier gezeigten Fall kann aufgrund der relativ konstanten Werte kein besonderer Rückschluss gezogen werden.

Zur Demonstration der Hysterese und des Kriechens ist in Abb. 3.18e eine \downarrow FW-Messung mit einer \uparrow FW-Messung mittels eines Differenzbilds verglichen und in Abb. 3.18f eine \downarrow FW-Messung mit einer \downarrow BW-Messung. Abb. 3.18e zeigt also den Vergleich in der langsamen Messrichtung (\downarrow vs. \uparrow). Abb. 3.18f offenbart die Hysterese in der schnellen Messrichtung,

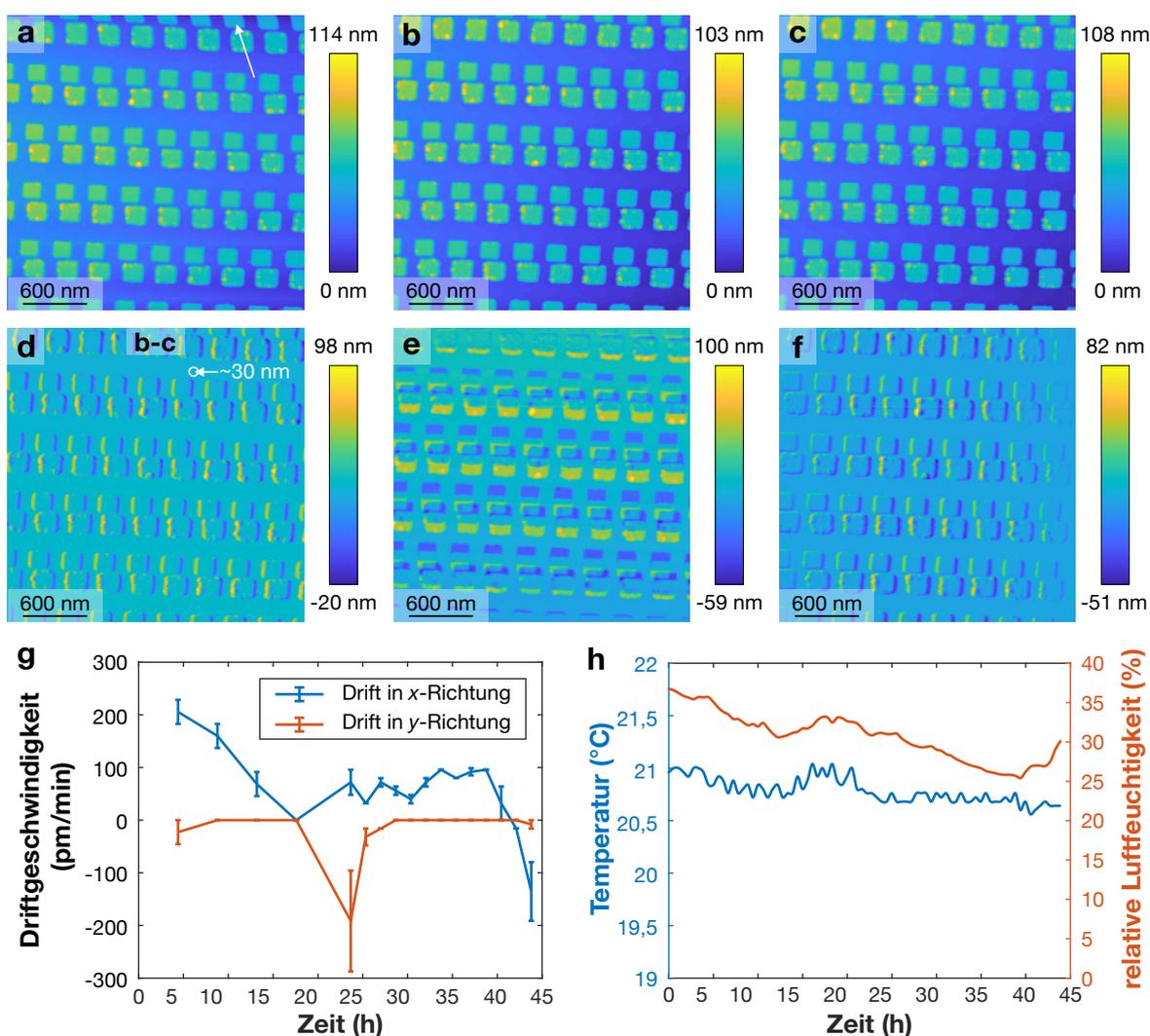


Abbildung 3.18.: Analyse der thermischen Drift anhand einer Serie von AFM-Messungen eines Testgitters bestehend aus Siliziumdioxid- und Gold-Quadraten auf einem Silizium-Substrat. Die Quadrate sind $200\text{ nm} \times 200\text{ nm}$ groß und 40 nm hoch. Abbildungsparameter: $f_0 = 38,8\text{ kHz}$, $k = 3,5\text{ kN/m}$, $\Delta f = 8\text{ Hz}$ und $A = 500\text{ pm}$. (a) Erste Aufnahme nach dem Annäherungsprozess. Ein weißer Pfeil deutet auf die ersten Linien, die verzerrt sind. (b) Nach 17:40 h aufgezeichnete Topographie. Die Spitze hat dabei die Probe relativ von oben nach unten und von links nach rechts abgerastert. (c) Mit einer Zeitverschiebung von 4:25 h. aufgenommenes Bild, in der identischen Orientierung wie (b). (d) Höhendifferenz zwischen den Bildern (b) und (c), wobei (c) von (b) subtrahiert wurde. Die Drift in z kann dabei direkt im Bild abgelesen werden und betrug $\sim 30\text{ nm}$. (e) Differenz zwischen einem von oben nach unten und einem umgekehrt aufgenommenem Bild. (f) Differenz zwischen einer Aufnahme von links nach rechts und einer entgegengesetzten Aufnahme. (g) Driftgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Zeit, aufgetragen für beide laterale Richtungen x (blau) und y (rot). (h) Simultan zu den AFM-Messungen aufgezeichnete Temperatur und relative Luftfeuchtigkeit. Nach Pürckhauer *et al.*, Rev. Sci. Instrum. **91**, 083701 (2020), mit Erlaubnis von AIP Publishing.

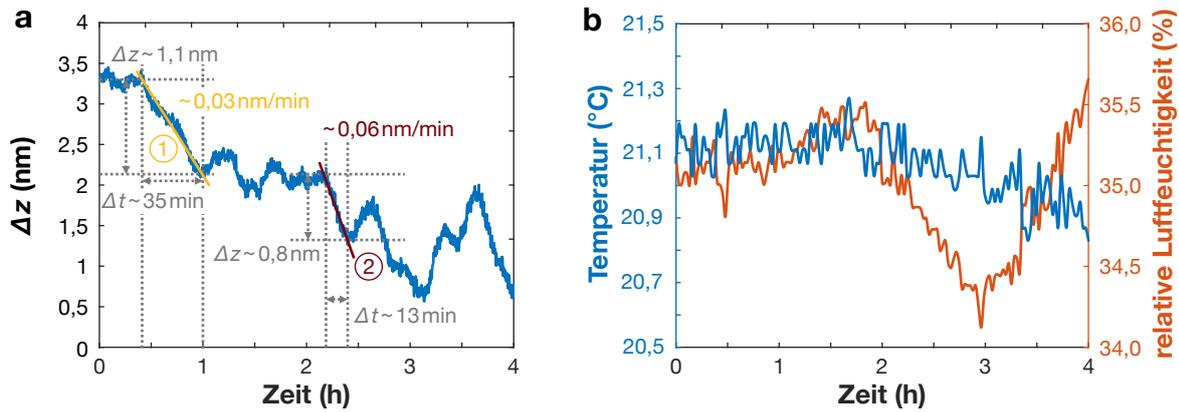


Abbildung 3.19.: Änderung der z -Position im zeitlichen Verlauf. (a) Aufzeichnung der Höhenposition z an einem konstanten Ort über einen Zeitraum von 4 Stunden. Die Driftgeschwindigkeit kann im Bereich 1 (gelb) linear genähert werden und beträgt $\sim 0,03$ nm/min. Im Bereich 2 ergibt eine lineare Näherung eine Driftgeschwindigkeit von $\sim 0,06$ nm/min (rot). Abbildungsparameter: Wolframspitze, $f_0 = 38,8$ kHz, $k = 3,5$ kN/m, $\Delta f = 10$ Hz und $A = 500$ pm. (b) Simultan zur FM-AFM-Messung aufgezeichnete Temperatur und relative Luftfeuchtigkeit.

welche deutlich weniger ausgeprägt ist. Die stärkere Hysterese in der langsamen Messrichtung ist durch das Kriechen des Röhrenpiezos erklärbar, wobei der thermischen Drift durch den zeitlichen Unterschied auch eine Rolle zukommen kann.

Drift in z -Richtung kann zudem auch durch eine Langzeitmessung an einem konstanten lateralen Ort auf der Probe bestimmt werden. Es wurde $\Delta f = 10$ Hz konstant gehalten und die Höhe z über einen Zeitraum von vier Stunden aufgezeichnet. Die gewonnenen Daten sind in Abb. 3.19a gezeigt. Dabei zeigt sich deutlich, dass die Driftgeschwindigkeit über den gezeigten Zeitraum nicht konstant ist. Symbolisch sind zwei Bereiche linear genähert. Bereich 1 ist gelb markiert und aus der Steigung ergibt sich eine Driftgeschwindigkeit von $\sim 0,03$ nm/min. Die Steigung von Bereich 2 (rot) ist mit $\sim 0,06$ nm/min signifikant größer. Über die vier Stunden betrachtet hat sich die z -Position der Probe dabei relativ um $\sim 2,61$ nm nach unten verschoben. In Abb. 3.19b sind Temperatur und relative Luftfeuchtigkeit gezeigt. Beide zeigen dabei eine deutlich langsamere Oszillation als die Höhendrift. Es kann dabei nicht ausgeschlossen werden, dass der Schlitten auch durch die Gewichtskraft langsam nach unten rutscht. Ausgehend von der beobachteten geringen Driftgeschwindigkeit sind bisher keine Änderungen an der Stärke der magnetischen Aufhängung vorgesehen.

Experimenteller Nachweis des Auflösungsvermögens

Ferner wurden auch AFM und STM Messungen auf verschiedenen Proben durchgeführt, um zu prüfen, ob atomar aufgelöste Bilder aufgenommen werden können. Die erste abgebildete Probe ist hochorientiertes pyrolytisches Graphit (HOPG, engl.: highly oriented pyrolytic graphite). Die Kohlenstoffatome bilden dabei eine hexagonale Kristallstruktur. Wie in Abb. 3.20a

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

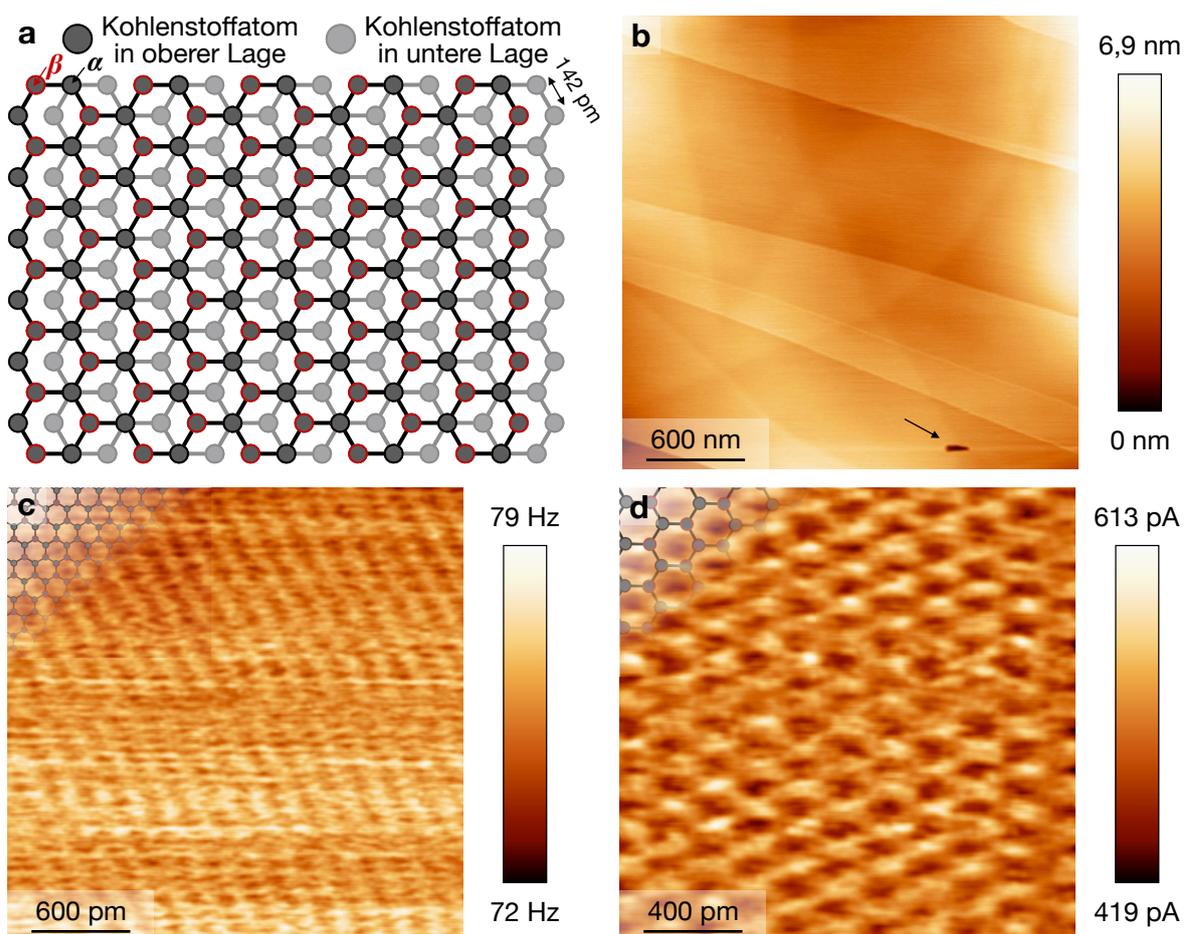


Abbildung 3.20.: FM-AFM and STM Aufnahmen von Graphit (HOPG, engl.: highly oriented pyrolytic graphite). (a) Skizzierte Struktur von Graphit (0001). Die beiden Basisatome in der oberen Schicht (dunkelgrau) unterscheiden sich aufgrund der darunter liegenden Schicht (hellgrau). Sie werden deshalb als α (schwarz umrandet) und β (rot umrandet) bezeichnet, da durch die AB Stapelung der Schichten nur unter den α -Atomen benachbarte Atome sitzen. (b) Großflächige FM-AFM-Aufnahme von HOPG zeigt mehrere mono- und diatomare Stufen. Ein künstlich erzeugtes Loch ist mit einem Pfeil markiert. Abbildungsparameter: Wolframspitze, $f_0 = 38,8 \text{ kHz}$, $k = 3,5 \text{ kN/m}$, $\Delta f = 10 \text{ Hz}$ und $A = 500 \text{ pm}$. (c) FM-AFM-Aufnahme eines $3 \text{ nm} \times 3 \text{ nm}$ großen Bereichs auf atomarer Skala. Links oben ist die Aufnahme mit der Struktur von Graphit überlagert. Abbildungsparameter: Platin-Iridium-Spitze, konstante Höhe, $f_0 = 18,2 \text{ kHz}$, $k = 1,8 \text{ kN/m}$ und $A = 90 \text{ pm}$. (d) STM Aufnahme von HOPG mit atomarer Auflösung. Links oben ist die Oberflächenstruktur überlagert und zeigt, dass nur die β Atome abgebildet werden. Abbildungsparameter: Platin-Iridium-Spitze, quasi-konstante Höhe, $V_B = 150 \text{ mV}$, $I_{\text{set}} = 500 \text{ pA}$ und $A = 0 \text{ pm}$. Nach Pürckhauer *et al.*, Rev. Sci. Instrum. **91**, 083701 (2020), mit Erlaubnis von AIP Publishing.

illustriert, setzt sich HOPG aus versetzten Lagen zusammen, die vornehmlich durch Van-der-Waals-Kräfte zusammengehalten werden. Jedes zweite Atom hat dabei einen Nachbar in einer unteren Lage und wird deshalb als α bezeichnet. Diese sind in Abb. 3.20a schwarz umrandet. Hat das Kohlenstoffatom keinen direkten Nachbar darunter, wird es als β bezeichnet.

3.2. Aufbau eines Rasterkraftmikroskops mit optischem Zugang

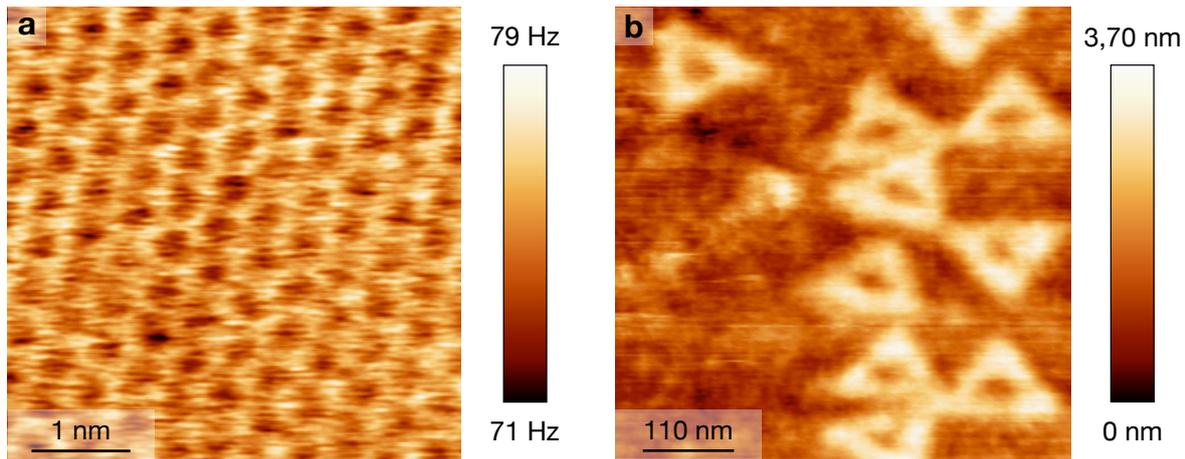


Abbildung 3.21.: FM-AFM-Aufnahmen von Muskovit und DNA-Origami (a) Atomare Auflösung der Honigwabenstruktur von Muskovit. Abbildungsparameter: Saphirspitze, quasi-konstante Höhe, $f_0 = 32,45$ kHz, $k = 1,8$ kN/m, $\Delta f = 75$ Hz und $A = 550$ pm. (b) Topographie von dreieckigen DNA-Origami, die auf einem Silizium-Substrat immobilisiert sind. Abbildungsparameter: Bimodale Messung mit Höhenregelung durch die Frequenzverschiebung der zweiten Biegemode Δf_{2nd} , Wolframspitze, $f_{0,1st} = 22,6$ kHz, $f_{0,2nd} = 158,3$ kHz, $k_{1st} = 1,8$ kN/m, $k_{2nd} \sim 72$ kN/m, $\Delta f_{2nd} = 15$ Hz, $A_{1st} = 10$ pm und $A_{2nd} = 97$ pm. Nach Pürckhauer *et al.*, Rev. Sci. Instrum. **91**, 083701 (2020), mit Erlaubnis von AIP Publishing.

Diese Atome sind in Abb. 3.20a rot umrandet. Der Abstand der einzelnen Lagen beträgt 334,8 pm [122]. Eine frische, nicht verunreinigte, Oberfläche kann durch das Abziehen der obersten Lagen mit Hilfe eines Klebestreifen präpariert werden. Die Abb. 3.20b zeigt eine AFM-Aufnahme eines $3\ \mu\text{m} \times 3\ \mu\text{m}$ großen Bereichs, der eine Vielzahl von Stufen aufweist. Deren Höhenunterschied beträgt in der Regel ein oder zwei Atomlagen. Zur Präparation der Spitze wurde diese vor der Messung an einer Stelle in die Probe gestochen. Das erzeugte Loch ist ebenso ersichtlich und mit einem schwarzen Pfeil markiert. In Abb. 3.20c ist eine hochaufgelöste FM-AFM-Aufnahme von HOPG gezeigt. Mit der hier verwendeten geätzten Platin/Iridium-Spitze konnte jedoch nicht die Auflösungsqualität der mit Saphir- oder Silizium-Spitzen aufgenommenen Daten in Ref. [14] erreicht werden. Aufgenommen wurde das Bild in konstanter Höhe, weshalb der Kontrast in Δf gegeben ist. Die erwartete Struktur ist in der linken oberen Ecke zur Orientierung überlagert. Aufgrund der Leitfähigkeit von Graphit kann darauf auch Rastertunnelmikroskopie (STM) durchgeführt werden. In Ref. [122] wurde gezeigt, dass die Ladungsträgerdichte beim Fermi-Niveau bei den β Atome höher ist, weshalb bei STM Messungen typischerweise nur die β Atome detektiert werden und deshalb ein dreieckiges Gitter beobachtet wird. In Abb. 3.20d ist die mit STM aufgenommene atomare Struktur zu sehen, welche in der Tat nur jedes zweite Atom zeigt. Erneut ist die Messung in der linken oberen Ecke mit der Struktur von Graphit überlagert.

Weitere AFM-Messungen mit Saphirspitzen wurden auf einer frisch gespaltenen Probe des Minerals Muskovit aus der Glimmergruppe durchgeführt. Die Struktur der Probe wird im

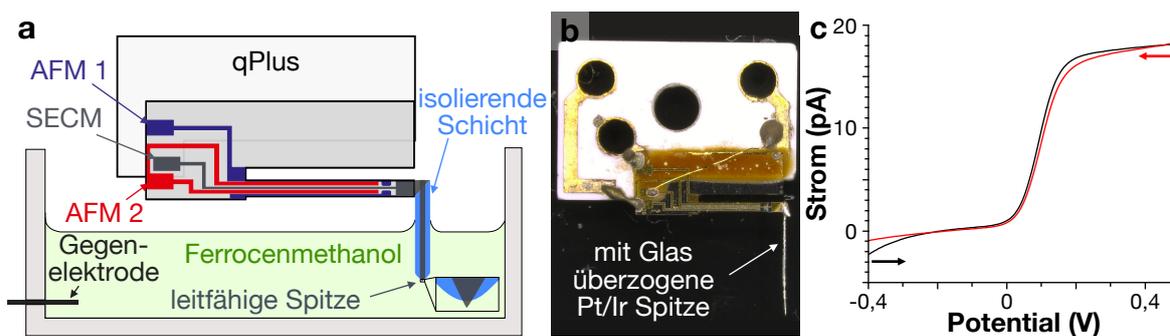


Abbildung 3.22.: Elektrochemische Rastermikroskopie (SECM) mit einem qPlus AFM/STM. (a) Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus. Ein qPlus Sensor hat als Spitze eine Ultramikroelektrode (UME) und ist in eine Mediatorlösung (Ferrocenmethanol) eingetaucht. (b) Foto eines qPlus Sensors, dessen UME aus einem geätzten Platin-Iridium-Draht besteht, der mit einem Glasmantel umgeben ist. Der vorderste Teil der Spitze ist jedoch nicht bedeckt. (c) Diagramm einer Cyclovoltammetrie, welche mit dem qPlus Sensor aus (b) in Ferrocenmethanol aufgezeichnet wurde. Die Messung demonstriert, dass elektrochemische Diffusionsströme im Pikoampere-Bereich detektiert werden können. Nach Pürckhauer *et al.*, Rev. Sci. Instrum. **91**, 083701 (2020), mit Erlaubnis von AIP Publishing.

Kap. 4.1 nochmals genauer behandelt. Die Honigwabenstruktur von Muskovit konnte aufgelöst werden und ist in Abb. 3.21a gezeigt. Die Messung wurde in einer quasi-konstanten Höhe aufgezeichnet. Deshalb ist hier der Kontrast in der Frequenzverschiebung zu sehen. Des Weiteren wurde eine DNA-Origami-Probe ausgewählt, um eine biologische Probe abzubilden. Diese Messung soll zeigen, dass geringe Kräfte zwischen Spitze und Probe kontrolliert werden können oder in anderen Worten schwache Kräfte detektiert werden können. Im anschließenden Kap. 4 wird die Abbildung von biologischen Proben ausführlich diskutiert. In der in Abb. 3.21b gezeigten FM-AFM-Messung sind dreieckige DNA-Origami zu sehen, welche im Kap. 4.2 detailliert behandelt werden. Eine Besonderheit ist, dass die Messung im bimodalen Betrieb aufgenommen wurde. Das heißt, dass die erste und zweite Biegemode simultan angeregt wurden, wobei die Höhenregelung auf der Frequenzverschiebung der zweiten Biegemode Δf_{2nd} stattfand. Die zweite Biegemode ist hierbei ungefähr 40 mal steifer als die erste Biegemode. Trotz einer Steifigkeit von $k_{2nd} \sim 72 \text{ kN/m}$ ist dennoch keine destruktive Wirkung der Spitze auf die Probe ersichtlich.

Ausblick auf elektrochemische Rastermikroskopie

Das elektrische Rauschen des STM-Vorverstärkers kann durch ein FFT-Spektrum bestimmt werden. Der Gleichstrom-Anteil war $< 1 \text{ pA}$ und die spektrale Rauschdichte lag bei ungefähr $10 \text{ fA}/\sqrt{\text{Hz}}$.

Das Auflösungsvermögen soll anhand von experimentellen Daten nachgewiesen werden. Hierzu wurden elektrochemische Messungen durchgeführt, die zudem auch das Potential in diesem Bereich aufzeigen. Der Versuchsaufbau ist schematisch in Abb. 3.22a illustriert. Die

3.3. Erweiterung eines Rasterkraftmikroskops zur Abbildung in Flüssigkeiten

SECM-Messung erfolgt dabei in einer Mediatorlösung, welcher elektrochemisch umgesetzt wird. Der qPlus Sensor wird mit einer langen Spitze versehen, die in die Mediatorlösung eintaucht. In diesem Versuch wurde Ferrocenmethanol (FcMeOH) verwendet und in eine Wanne aus Teflon™ gegeben. Wird ein Potential an die Spitze im Bezug auf die Referenz- und Gegenelektrode angelegt, so kann FcMeOH ab einem bestimmten Potential zu FcMeOH^+ oxidiert werden. Um jedoch lokale Reaktionen beobachten zu können, muss im Idealfall die Spitze bis auf die Frontatome isoliert sein. In Abb. 3.22b ist ein Foto eines Sensors gezeigt, dessen SECM Sonde aus einem geätzten Platin-Iridium-Draht besteht, der mit einer dünnen Glasschicht überzogen wurde. Häufig bleibt bei dieser Methode, möglicherweise aufgrund der Krümmung, der vorderste Teil frei. Eine weitere Möglichkeit wäre beispielsweise das Isolieren mit Wachs [123]. Eine derartige Spitze oder Sonde wird wegen ihrer kleinen Dimension auch als Ultramikroelektrode (UME) bezeichnet. Zur Demonstration von elektrochemischen Messungen wurde eine Cyclovoltammetrie durchgeführt. Bei dieser wird an die Spitze, welche hier die sogenannte Arbeitselektrode darstellt, ein linear ansteigendes Potential und anschließend ein linear abfallendes Potential angelegt. Die aufgezeichneten Daten sind in Abb. 3.22c dargestellt. Ab einem charakteristischem Potential steigt der gemessene Strom stark an, da an der Spitze FcMeOH zu FcMeOH^+ oxidiert wird. Da die Moleküle zur Spitze diffundieren, spricht man auch von einem Diffusionsstrom. Dieser steigt nicht linear mit dem Potential, sondern erreicht einen sogenannten „Steady-State-Zustand“, da es zu einer lokalen Verarmung der zu oxidierenden FcMeOH Moleküle und somit zu einer Hemmung der Diffusion neuer Moleküle kommt. Außerdem zeigt das aufgezeichnete Cyclovoltogramm, dass mit dem gezeigten Vorverstärker Ströme im Pikoampere-Bereich detektiert werden können.

3.3. Erweiterung eines Rasterkraftmikroskops zur Abbildung in Flüssigkeiten

Die Abbildung von biologischen Proben mit dem Rasterkraftmikroskop bedarf häufig einer physiologischen Umgebung. Dies trifft beispielsweise auf die Doppellipidschichten zu, deren Untersuchungsergebnisse im sich anschließenden Kapitel vorgestellt werden. Um in Flüssigkeiten messen zu können, ist zum einen eine horizontale Lage der Flüssigkeitszelle nötig sowie zum anderen ein Probenhalter, der Flüssigkeiten aufnehmen kann. Das in der Studie verwendete Mikroskop wurde bereits in Abb. 3.6, am Anfang des Kapitels, gezeigt. Es unterscheidet sich von dem soeben geschilderten AFM mit optischem Zugang zum einen durch die Schwingungsentkopplung und zum anderen durch die Halterung des Schlittens im Gehäuse. Im Gegensatz zur magnetischen Halterung wird hier eine Feder verwendet, um den Schlitten in das Gehäuse zu pressen. Der Messkopf ist in Abb. 3.23 nochmals genauer gezeigt. Die frontale Sicht auf den Schlitten in Abb. 3.23a zeigt deutlich die Analogie zum zuvor gezeigten Design, mit dem Unterschied der Federklemmung. Um Instabilitäten aufgrund unterschiedlich dicker Piezostapel zu verringern, ist das Federblech auf der rechten Seite oben

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

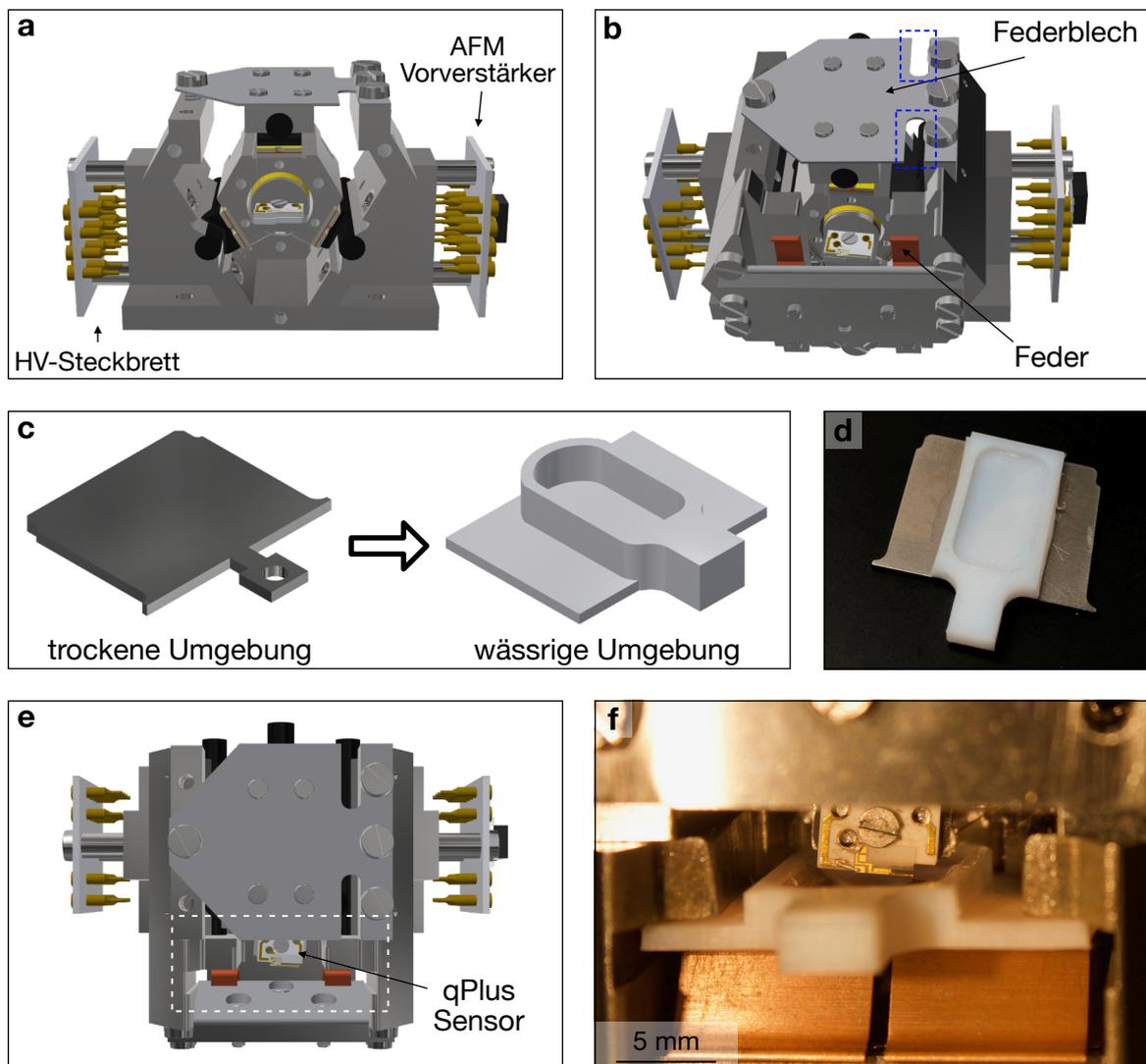


Abbildung 3.23.: Erweiterung und Anpassung eines LT-AFM Mikroskopkopfes zur Messung in wässrigen Umgebungen. (a) Ansicht zeigt den Schlitten, der mit einem Federblech in das Gehäuse geklemmt wird. Links befindet sich das HV-Steckbrett und rechts der AFM-Vorverstärker. (b) Ansicht mit montiertem Probenhalter. Die Probe wird durch eine Feder fixiert. (c) Das Probenplättchen aus Kovar™, welches bei Messungen an Luft verwendet wird, wurde um eine Wanne für Messungen in Flüssigkeiten erweitert. (d) Fotografie eines Probenplättchens aus Kovar™ auf das eine Teflon™-Wanne geklebt ist. (e) Ansicht des vertikal montierten Mikroskopkopfes mit Sicht auf den qPlus Sensor. (f) Fotografie des in (e) markierten Bereichs mit eingesetzter Flüssigkeitszelle. Aus dieser Perspektive wird auch die Annäherung gestartet. Es ist ein M4 Sensor mit langer Saphirspitze zu sehen, welche bereits deutlich in die Flüssigkeit eintaucht. Teilbild (f) Nach Ref. [124], Springer Nature, lizenziert unter CC BY 4.0.

und unten eingeschnitten. Die Einschnitte sind in Abb. 3.23b mit einem blau gestrichelten Rahmen markiert und sorgen dafür, dass das Federblech eine gewisse Torsion erlaubt. Auf dieses Bauteil wird der Probenhalter montiert, der die Probe mit zwei kupferfarbenen Federn

3.3. Erweiterung eines Rasterkraftmikroskops zur Abbildung in Flüssigkeiten

gegen ein Metallstück presst. Da das Design des Mikroskopkopfes nahezu identisch ist zu der Eigenentwicklung eines Tieftemperatur-Rasterkraftmikroskops (siehe Ref. [100]), werden die Proben typischerweise auf dem selben Halter aufgeklebt. Ein Vorteil besteht darin, dass eine Probe mit unterschiedlichen Mikroskopen untersucht werden kann. Für wässrige Umgebungen wurden die Dimensionen des Halters beibehalten und in diesen eine Wanne inkludiert, welche aus Polytetrafluorethylen²⁶ (PTFE, Teflon™) besteht. Dies ist in Abb. 3.23c anhand von CAD-Zeichnungen illustriert. Das Material Teflon™ ist vorteilhaft, wenn biologische Proben verwendet werden, da es äußerst inert ist [125] und somit keine Reaktionen mit den biologischen Proben oder den Lösungen zu erwarten sind. Verglichen mit einem Probenplättchen aus Kovar™ sind der hohe thermische Ausdehnungskoeffizient $\alpha = 79 \times 10^{-5} \text{ K}^{-1}$ (im Temperaturbereich von 20°C bis 25°C) und die elastische Verformung nachteilig [126]. Es hat sich gezeigt, dass das Fertigen des kompletten Bauteils aus Teflon™ eine hohe Drift erzeugt. Es wird angenommen, dass durch die Federklemmung des Probenhalters eine Verformung des Teflon™ stattfindet und sich diese Verformung über die Zeit verändert. Der Problematik kann entgegen gewirkt werden, wenn einzig die Wanne aus Teflon™ besteht und die Wanne anschließend auf einen Probenhalter aus Kovar™ aufgeklebt wird. In Abb. 3.23d ist ein Foto eines verwendeten Probenhalters mit einer aufgeklebten Flüssigkeitszelle aus Teflon™ gezeigt. Zur Messung elektrochemischer Signale kann zudem noch eine Gegenelektrode (beispielsweise aus Platin-Iridium) in die Wanne geklebt werden. In Abb. 3.23e ist eine dreidimensionale Zeichnung des vertikal positionierten Mikroskopkopfes dargestellt. In Abb. 3.23f ist eine Fotografie des in Abb. 3.23e markierten Bereichs zu sehen. Dabei ist deutlich sichtbar, dass der qPlus Sensor nicht selbst in die Flüssigkeit eintaucht, sondern nur die Spitze. Dies soll einen Kurzschluss der Elektroden auf dem qPlus Sensor in leitfähigen Flüssigkeiten verhindern. In dem gezeigten Foto ist ein in den Probenhalter eingesetzter Probenhalter mit Flüssigkeitszelle zu erkennen, welcher komplett aus Teflon™ gefertigt ist. Da die Flüssigkeitszelle nicht abgedeckt ist, spielt die Verdunstung eine Rolle. Um diese zu charakterisieren, wurden drei äquivalente Wannen mit $\sim 150 \mu\text{l}$ Flüssigkeit gefüllt und das Volumen durch Wiegen in Abhängigkeit von der Zeit bestimmt. Die gewonnenen Daten sind in Abb. 3.24a gezeigt. Aus diesen Daten konnte eine mittlere Änderung von $0,39 \mu\text{l}/\text{min}$ bestimmt werden. Die Grundfläche der Wanne beträgt 85 mm^2 . Vernachlässigt man die Ausbildung eines Meniskus und nimmt eine plane Wasseroberfläche an, so ergibt sich eine relative Höhenänderung von $4,6 \mu\text{m}/\text{min}$. Nimmt man für die Aufnahme einer AFM-Messung eine Dauer von 30 Minuten an, so würde sich die Eindringtiefe der Spitze um $138 \mu\text{m}$ verringern.

Eine zukünftige Möglichkeit zur Verringerung der Verdunstung ist die Abdeckung der Wanne. In Abb. 3.24b ist ein neues Design gezeigt, das in Zukunft Anwendung finden wird. In der gezeigten Wanne ist bereits eine Muskovit Probe eingeklebt und zudem eine Gegenelektrode aus Platin an einem goldenen Steckkontakt angebracht, um elektrochemische Messungen durchführen zu können. Zu beachten ist, dass in den Deckel ein Loch für die Spitze geschnitten

²⁶Polytetrafluorethylen ist bekannt unter dem Handelsnamen Teflon™ der Firma DuPont, Wilmington, USA.

3. Experimenteller Aufbau und Methoden

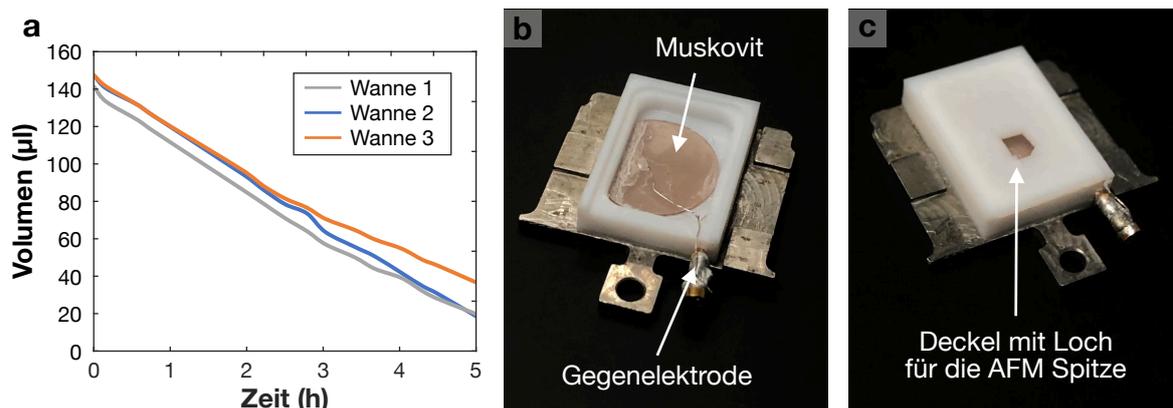


Abbildung 3.24.: Evaluierung der möglichen Messzeit in Flüssigkeiten beim Verwenden einer Flüssigkeitszelle. (a) Verdunstung von Wasser in einer Wanne mit einer Grundfläche von 85 mm^2 . Die Verdunstung von $\sim 150 \mu\text{l H}_2\text{O}$ (bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 40%) wurde durch Wiegen für drei äquivalente Wannen in periodischen Zeitabständen aufgezeichnet. (b) Ausblick auf eine Flüssigkeitszelle mit abnehmbarem Deckel. Es ist zudem eine Gegenelektrode aus Platin vorhanden, um elektrochemische Signale aufzeichnen zu können. (c) Fotografie der erweiterten Flüssigkeitszelle mit aufgesetztem Deckel. In diesen ist ein Loch für die AFM-Spitze geschnitten.

werden muss, wie in Abb. 3.24c anhand eines Fotos gezeigt ist. Dies erschwert jedoch den Annäherungsprozess durch die verdeckte Sicht auf Spitze und Probe. Eine Möglichkeit dem entgegenzuwirken, ist die laterale und vertikale Positionierung vor dem Aufsetzen des Deckels. Anschließend wird der Schlitten grob angenähert und nach dem Aufsetzen der Abdeckung wird, unter Beachtung der Hysterese, der Schlitten wieder soweit grob angenähert bis die automatisierte Annäherung in einer adäquaten Zeit stattfinden kann.

Im nächsten Kapitel wird die soeben erläuterte Flüssigkeitszelle Anwendung finden. Das Kapitel wird nicht nur allgemein die Besonderheiten bei Messungen in Flüssigkeiten erläutern sondern auch zeigen, dass biologische Proben in wässriger Umgebung mit qPlus Sensoren abgebildet werden können.

4. Atomare und molekulare Auflösung in biologisch-relevanten Umgebungen

Ein Großteil der im Folgenden präsentierten Arbeit wurde bereits in Scientific Reports veröffentlicht. Folglich sind einige Textausschnitte, Bilder und Schlussfolgerungen identisch [124].

Ein von Grund auf bestehendes Interesse ist es, den menschlichen Körper und in der Folge auch die fundamentalen biologischen Prozesse besser erfassen zu können. In diesem Zusammenhang spielt das Verständnis der molekularen Struktur von biologischen Proben eine elementare Rolle. Dahingehend wurde die Wichtigkeit der Abbildung biologischer Proben mit der Vergabe des Chemie Nobelpreises im Jahr 2017 an Dubochet, Frank und Henderson für die Entwicklung der Kryo-Elektronenmikroskopie hervorgehoben [127].

Dieses Kapitel zielt darauf ab, Rasterkraftmikroskopie mit qPlus Sensoren als Werkzeug zur hochaufgelösten Abbildung biologischer Proben zu etablieren. Ein Alleinstellungsmerkmal der Rasterkraftmikroskopie ist, dass Proben sowohl an Luft als auch in Flüssigkeiten abgebildet werden können [8, 37]. Dies ermöglicht Proben, welche eine wässrige Umgebung erfordern, in einer physiologischen Umgebung zu untersuchen. Zu diesen Proben zählen beispielsweise Doppellipidschichten, da ihre Struktur an Luft nicht stabil ist.

Eine Herausforderung beim Abbilden biologischer Proben mit einem Rasterkraftmikroskop ist, die Wechselwirkung zwischen Spitze und Probe möglichst gering zu halten. Andernfalls besteht die Gefahr, die sensitive Probe zu beschädigen. Die Kraft, die bei der Messung auf die Probe ausgeübt wird, soll 100 pN nicht überschreiten [57, 58]. Typischerweise werden biologische Proben deshalb im Tapping-Modus (siehe Kap. 2.2.3) mit einem Silizium-Federbalken, der vollständig in einer Flüssigkeitszelle eingetaucht ist, abgerastert. Ein solches Szenario ist in Abb. 4.1 skizziert. Die Steifigkeit dieser Sensoren liegt typischerweise zwischen 0,1 und 10 N/m. Die geringe Steifigkeit der Silizium-Federbalken bietet im Tapping-Modus den Vorteil, dass sowohl reversible als auch irreversible Deformationen der Probe verringert werden [79, 128, 129].

Im Rahmen dieser Arbeit wird nun gezeigt, dass Frequenzmodulations-Rasterkraftmikroskopie (FM-AFM) im Nicht-Kontakt-Modus mit steifen qPlus Sensoren ($k > 1 \text{ kN/m}$) geeignet ist, um biologische Proben in wässrigen Umgebungen mit molekularer Auflösung abzubilden, ohne dabei die sensitive Probe zu zerstören. Bei FM-AFM ist, wie im Kap. 2.2.1 erklärt, die Frequenzverschiebung, welche abhängig vom Kraftgradienten ist, die Messvariable. Folglich ist der Schlüssel zur höchstmöglichen Auflösung und nicht-destruktiven Abbildung der minimal

4. Atomare und molekulare Auflösung in biologisch-relevanten Umgebungen

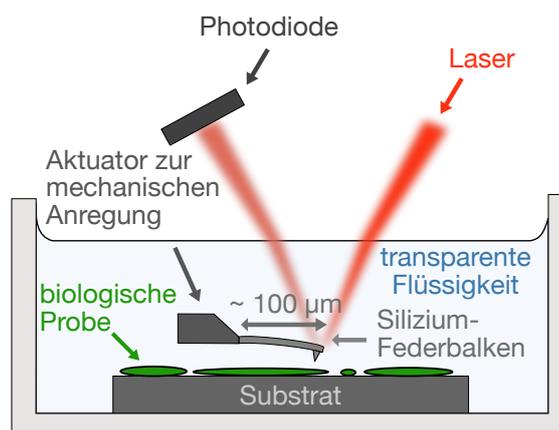


Abbildung 4.1.: Darstellung der Untersuchung von biologischen Proben mit Hilfe eines AFMs, basierend auf einem Silizium-Sensor. Die Detektion der Auslenkung des Federbalkens erfolgt hierbei optisch mittels eines Lasers und einer Photodiode. Nach Ref. [124], Springer Nature, lizenziert unter CC BY 4.0.

detektierbare Kraftgradient und nicht zwangsläufig die verwendete Steifigkeit des Sensors. Im Kap. 2.2.2 wurde bereits erläutert, dass das Rauschen bei FM-AFM durch den minimal detektierbaren Kraftgradienten $\delta(k_{ts})_{\min}$ gegeben ist. Dieser ist unter anderem abhängig von der Güte Q des Systems, welche die im Federbalken gespeicherte Energie in Relation zu dem Energieverlust pro Oszillationszyklus setzt. Wird der Federbalken in die Flüssigkeit eingetaucht, führt dies zu einem Energieverlust durch Dämpfung und einer Verringerung der Güte. Dies ist insbesondere für die weichen Silizium-Sensoren problematisch, da sie vollständig eingetaucht werden. In der Literatur werden Güten im Bereich von 1-30 beschrieben [130, 131]. Eine Möglichkeit die Güte Q bei Messungen in Flüssigkeiten zu erhöhen, ist das Verwenden von steiferen Sensoren, wie beispielsweise den qPlus Sensor.

Bei den meisten Rasterkraftmikroskopen wird der Sensor mechanisch in Oszillation versetzt. Im Kap. 2.2.1 wurde bereits gezeigt, dass ein Sensor als harmonischer Oszillator betrachtet werden kann. Außerdem sind für den FM-AFM Betrieb eine einzelne Resonanzspitze und eine monotone Phase essenziell. Beobachtungen zeigen, dass ein Rasterkraftmikroskop mit weichen Silizium-Sensoren ungewollte Spitzen nahe der Resonanzfrequenz aufweist, welche durch das mechanische Treiben der Schwingung in Flüssigkeiten verursacht werden. Dieses Phänomen ist als „forest of peaks“ (dt.: Wald aus Spitzen) bekannt [132]. Zudem ist die Phase nicht mehr monoton, was eine stabile Frequenzmodulation schwierig gestaltet. Ein Lösungsansatz, um den „forest of peaks“ und eine nicht-monotone Phase zu vermeiden, ist eine direkte Anregungsmethode, wie beispielsweise magnetische Anregung [133, 134] oder photothermische Anregung [135, 136]. Eine andere Möglichkeit ist, erneut einen steiferen Sensor zu verwenden, da bei gleicher Amplitude eine höhere Schwingungsenergie erreicht und so eine bessere Stabilität erzielt wird.

Wie bereits in den vorherigen Kapiteln erwähnt, besteht der Vorteil eines steiferen Sensors, wie ihn der qPlus Sensor darstellt, zudem darin, dass kleine Amplituden (<100 pm) stabil

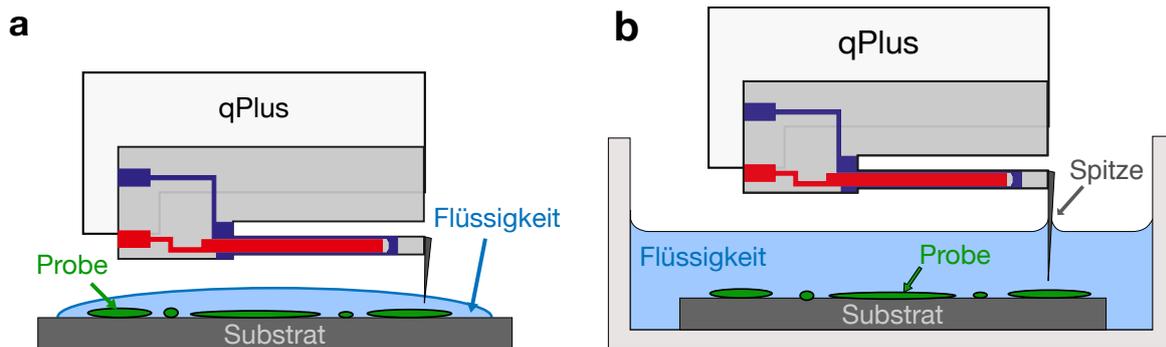


Abbildung 4.2.: Schematische Darstellungen der Möglichkeiten zur Abbildung in Flüssigkeiten mit einem qPlus AFM. Die zu untersuchende Probe ist dabei auf einem Substrat immobilisiert. (a) Abbildung in einem Flüssigkeitstropfen, dessen kleines Volumen zu einer schnellen Verdunstung führt. (b) Abbildung in einer Flüssigkeitswanne. Aufgrund des erhöhten Flüssigkeitsvolumens ermöglicht sie eine längere Messdauer. Nach Ref. [124], Springer Nature, lizenziert unter CC BY 4.0.

kontrolliert werden können. Mit diesen kann eine höhere Sensitivität zu kurzreichweitigen Kräften erreicht werden [5, 65]. Kleine Amplituden sind mit weichen Silizium-Federbalken im Nicht-Kontakt-Modus kaum realisierbar, denn falls die attraktiven Kräfte zwischen Spitze und Probe größer sind als die Rückstellkraft des Federbalkens, so kommt es zum bekannten „jump-to-contact“ Problem [59].

Auch Versuche an Luft können als biologisch-relevant erachtet werden. Bedingt durch die Luftfeuchtigkeit sind Proben an Luft mit einem Wasserfilm bedeckt [53]. Es wurde gezeigt, dass steife qPlus Sensoren geeignet sind, um atomare Auflösung in Luft auf verschiedenen Probensystemen wie z.B. Kaliumbromid, Graphit und Calcit zu erreichen [9, 13, 14]. Da qPlus Sensoren die Auslenkung der Stimmgabel elektrisch detektieren, darf der Sensorbalken nicht in eine leitfähige Flüssigkeit eingetaucht werden. Die Gefahr eines Kurzschlusses besteht insbesondere bei biologisch-relevanten Pufferlösungen, da deren Salzgehalt in der Regel sehr hoch ist. Die ersten Messungen in Flüssigkeiten mit qPlus Sensoren wurden deshalb in einem kleinen Tropfen von Flüssigkeit gemacht, wie in Abb. 4.2a illustriert [63]. In einer ebensolchen Konfiguration wurde von Ichii *et al.* bereits atomare Auflösung erreicht [16]. Ein entscheidender Nachteil dieser Methode ist die limitierte Messzeit aufgrund der schnellen Verdunstung des kleinen Flüssigkeitstropfen ($\sim 20 \mu\text{l}$). Jedoch ist für eine höher aufgelöste Abbildung eine längere Messdauer unverzichtbar. Deshalb wurde in dieser Arbeit ein Probenhalter mit einer inkludierten Flüssigkeitswanne, bestehend aus Teflon™, konstruiert, welcher im vorherigen Kapitel 3.3 im Detail beschrieben wurde. In Abb. 4.2b ist eine AFM-Messung in der Flüssigkeitszelle illustriert. Wegen des größeren Flüssigkeitsvolumens werden entsprechend lange Spitzen benötigt, um die Probe zu erreichen ohne dabei den Federbalken mit Flüssigkeit zu benetzen. Eine Herausforderung ist hierbei, ausreichend scharfe Saphirspitzen einer Länge größer als 1 mm zu finden. Geätzte Wolframspitzen haben in diesem Bezug den Vorteil, dass ihre Länge während des Ätzvorgangs beliebig gewählt werden kann. In der Regel wurden die

4. Atomare und molekulare Auflösung in biologisch-relevanten Umgebungen

Messungen jedoch mit Saphirspitzen durchgeführt, da sie, wie schon im Kap. 3.4 beschrieben, chemisch inert, äußerst stabil und zudem sehr leicht sind.

Wie bereits am Anfang des Kapitels erwähnt, kann das Rauschen durch den minimal detektierbaren Kraftgradienten $\delta\langle k_{ts}\rangle_{\min}$ quantifiziert werden. Im Vergleich zu Messungen an Luft wirkt sich die in Flüssigkeiten geringere Güte Q negativ auf $\delta\langle k_{ts}\rangle_{\min}$ aus. Die Erwartung an Messungen mit qPlus Sensoren mit langen Spitzen war, dass trotz der großen Eindringtiefe der Spitze aufgrund der hohen Steifigkeit $> 1,8 \text{ kN/m}$ die Güte größer ist als bei völlig eingetauchten weichen Silizium-Sensoren. Zur Charakterisierung wurden deshalb Resonanzkurven in verschiedenen Flüssigkeitstiefen aufgenommen. Hierzu wurde ein mit einer Flüssigkeitswanne kombinierter Probenhalter mit Wasser gefüllt und ein qPlus Sensor mit einer langen (ca. $700 \mu\text{m}$) Saphirspitze ausgestattet. Wie in Abb. 4.3a dargestellt, wurde der Sensor nun so lange angenähert bis eine Frequenzverschiebung von $\Delta f = -7 \text{ Hz}$ auftrat. Von dieser Referenzhöhe aus wurde im Anschluss, mit Hilfe der Grobpositionierung des Schlittens, die Spitze tiefer in das Wasser getaucht und an den jeweiligen Positionen Kurven aufgezeichnet. Die maximale Tiefe ist durch die Spitzenlänge limitiert, was ebenso in Abb. 4.3a demonstriert ist. Die Resonanzkurven wurden bei konstanter Anregungsstärke aufgezeichnet und sind in Abb. 4.3b gezeigt. Ausgehend von einer Schwingungsamplitude von $1,6 \text{ nm}$ an Luft, wird die Amplitude kontinuierlich mit der Eindringtiefe gedämpft. Bei der in $700 \mu\text{m}$ Tiefe gemessenen Resonanzkurve war die Amplitude auf $12,5\%$ des ursprünglichen Wertes abgefallen. Die zugehörigen Phasenverläufe sind in Abb. 4.3c gezeigt. Aus dem Graphen ist ersichtlich, dass die Phase stets ihre monoton fallende Form behält. Da die Phase als Regelparameter dient, bedeutet dies, dass FM-AFM in Flüssigkeiten mit ausreichend steifen Sensoren stabil zu betreiben sein sollte.

Die für den minimal detektierbaren Kraftgradienten $\delta\langle k_{ts}\rangle_{\min}$ relevante Größe Q kann ebenso aus den tiefenabhängigen Resonanzkurven bestimmt werden, wie im Kap. 2.2.1 erklärt. Insbesondere ermöglicht die Auswertung der Güte auch einen Vergleich mit den etablierten Silizium-Rasterkraftmikroskopen. Trägt man die gewonnenen Q -Werte gegen die Tiefe auf, so ergibt sich der in Abb. 4.4a gezeigte Graph. Bei der Schwingung an Luft lag die Güte bei etwa 1600 . Wird die Spitze eingetaucht, so sinkt die Güte kontinuierlich mit der Penetrationstiefe der Spitze, wobei Q sich hier einem Wert von ungefähr 300 angenähert hat. Aus den Daten ist auch erkenntlich, dass Güten von über 1000 in Flüssigkeiten möglich sind, falls die Spitze nur wenig in die Flüssigkeit eintaucht. Die Abhängigkeit der Güte von der Eintauchtiefe führt in der Folge auch dazu, dass sich Q ändert, wenn Flüssigkeit verdunstet. Im Kap. 3.3 wurde beschrieben, wie zur Bestimmung der Verdunstungsrate (bei 40% relativer Luftfeuchtigkeit) mit Wasser gefüllte Flüssigkeitszellen gewogen wurden. Es ergab sich eine Evaporationsrate von $0,39 \mu\text{l}/\text{min}$. Deshalb kann bei einer durchschnittlichen Messdauer von 30 Minuten pro Bild von einer Volumenänderung von $11,7 \mu\text{l}$ ausgegangen werden. Bei einer Grundfläche der Flüssigkeitswanne von $A_{\text{cell}} = 85 \text{ mm}^2$ folgt somit eine Höhendifferenz von $138 \mu\text{m}$. Bei einer Tiefe von ursprünglich $600 \mu\text{m}$ würde sich, bedingt durch die Höhenänderung, die Güte nach

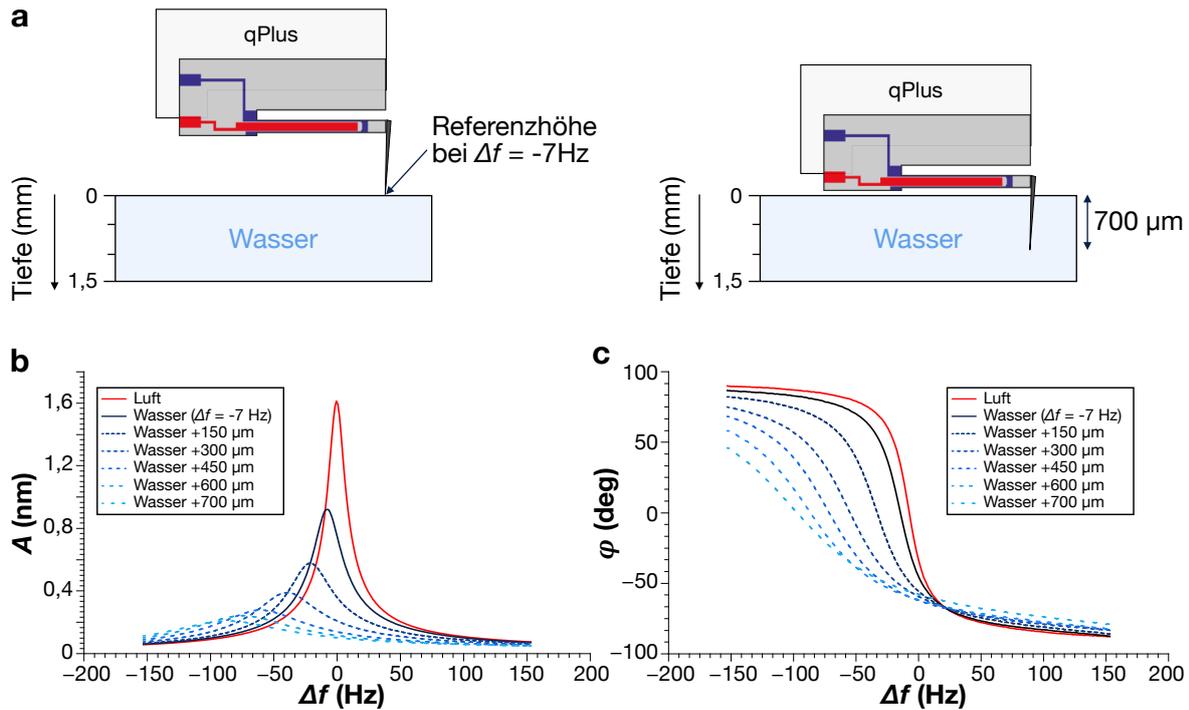


Abbildung 4.3.: Charakterisierung des Verhaltens eines steifen qPlus Sensors, wenn dieser in verschiedenen Eintauchtiefen oszilliert. (a) Illustration des Messaufbaus. Links: Annäherung der Spitze zur Probe bis $\Delta f = -7$ Hz erreicht ist. Dies ist die Referenzhöhe $z = 0$. Rechts: Skizze zur Veranschaulichung der maximal möglichen Tiefe aufgrund einer definierten Spitzenlänge. (b) Resonanzkurven in verschiedenen Tiefen, welche farblich kodiert dargestellt sind. Die Kurve an Luft ist in rot gezeigt und die Kurven in Wasser in verschiedenen Blautönen. Die zugehörigen Phasen sind in (c) mit der selben Farbkodierung gezeigt. Die Phase bleibt dabei bei allen Tiefen monoton. Der zur Messung verwendete qPlus Sensor hatte an Luft eine Resonanzfrequenz von $f_0 = 23,41$ kHz und eine Steifigkeit von $k = 1800$ N/m. Nach Ref. [124], Springer Nature, lizenziert unter CC BY 4.0.

30 Minuten von 300 auf 350 verbessern.

Da sich der Kraftgradient aus thermischem Rauschen, Detektorrauschen und Oszillatorrauschen zusammensetzt, sind in Abb. 4.4b die einzelnen Beiträge gegen die Güte Q aufgetragen. Zur Berechnung wurden die Parameter eines neueren qPlus Sensors vom Typ M4 verwendet. Die einzelnen Werte sind hierzu in Tab. 4.1 aufgeführt. Es zeigt sich, dass beim verwendeten qPlus AFM (bei $T = 300$ K) das thermische Rauschen $\delta k_{ts,th}$ (rot, Volllinie) dominant ist, welches proportional zu $1/\sqrt{Q}$ ist. Das Oszillatorrauschen $\delta k_{ts,osz}$ (blau, Strichpunktlinie) ist proportional zu $1/Q$ und vor allem bei Güten < 200 von signifikanter Bedeutung. Das von der Güte unabhängige Detektorrauschen $\delta k_{ts,det}$ (gelb, Strichlinie) wird beim hier verwendeten System letztlich erst bei Güten > 400 nicht mehr von den beiden anderen Termen dominiert. Um einen Vergleich des Rauschens mit etablierten Silizium-AFM's zu ziehen, ist zunächst wichtig zu erwähnen, dass der größte Unterschied der Sensoreigenschaften bei der Steifigkeit k und der Resonanzfrequenz f_0 besteht. Das Verhältnis k/f_0 geht in den

Parameter	qPlus Sensor M4 (S1.0)	Silizium-Sensor
f_0 (kHz)	56,6 (23,4)	136
k ($\frac{\text{N}}{\text{m}}$)	1800	42
A (pm)	100	240
n_q ($\text{fm}/\sqrt{\text{Hz}}$)	25	17
B (Hz)	100	1000
Q	150 - 1600	1 - 30

Tabelle 4.1.: Vergleich der Sensorparameter, welche den minimal detektierbaren Kraftgradienten $\delta\langle k_{ts}\rangle_{\min}$ beeinflussen. Die Werte für den Silizium-Sensor sind der Ref. [7] entnommen. Für die qPlus Sensoren M4 und S1.0, welche sich einzig in der Resonanzfrequenz unterscheiden, sind typische Werte von verwendeten Sensoren angegeben.

minimal detektierbaren Kraftgradienten $\delta\langle k_{ts}\rangle_{\min}$ ein. Die in der Tab. 4.1 angegebenen Werte eines typischen Silizium-Sensors sind entnommen aus Ref. [7]. Für die Messungen wurden zwei unterschiedliche Typen von qPlus Sensoren verwendet, wobei sich diese einzig in der Resonanzfrequenz unterscheiden. Die Resonanzfrequenz des Silizium-Sensors ist dabei um den Faktor 2,4 größer (im Vergleich zum M4 Sensor) und die Steifigkeit um den Faktor 42,9 geringer, wie der Tab. 4.1 entnommen werden kann. In welchem Maße die Nachteile eines qPlus Sensors bei wässrigen Umgebungen durch die höheren Güten ausgeglichen werden, soll ein Vergleich von $\delta\langle k_{ts}\rangle_{\min}$ klären. In Abb. 4.4c ist $\delta\langle k_{ts}\rangle_{\min}$ der drei genannten Sensoren in Abhängigkeit von der Güte Q aufgetragen. Hierbei ist $\delta\langle k_{ts}\rangle_{\min}$ jeweils beschränkt auf den relevanten Gütenbereich. Bei den qPlus Sensoren beträgt er 150 bis 1600 und beim exemplarischen Silizium-Sensor ist der Gütenbereich von 1 bis 30 gewählt.

Typischerweise wird bei einem Silizium-Sensor basierten Rasterkraftmikroskop relativ schnell gemessen, was eine höhere Bandbreite erfordert. Da das Detektorrauschen bei FM-AFM proportional zu $B^{3/2}$ ist (siehe Gl. 2.2.2), steigt dies entsprechend an und wird bei einem qPlus Sensor ab einer Bandbreite von ca. 300 Hz größer als das bei Raumtemperatur üblicherweise dominierende thermische Rauschen. Zur Illustration sind in Abb. 4.5a die einzelnen Rauschbeiträge in Abhängigkeit von der Bandbreite B gezeigt. In Abb. 4.5b ist $\delta\langle k_{ts}\rangle_{\min}$ in Abhängigkeit von B dargestellt. Bei Silizium-Sensoren ist das Detektorrauschen deutlich geringer und so steigt $\delta\langle k_{ts}\rangle_{\min}$ im Vergleich mit qPlus Sensoren deutlich geringer mit B an, wie aus Abb. 4.5b hervorgeht. Deshalb muss beim hier verwendeten qPlus System deutlich langsamer ($B \approx 100$ Hz) gemessen werden, um ein ähnliches Signal-zu-Rausch-Verhältnis zu erreichen. Zur Berechnung wurden für den qPlus Sensor eine Güte von 700 und für den Silizium-Sensor eine Güte von 10 angenommen.

Aus diesem Grund wurde, um einen besseren Vergleich von $\delta\langle k_{ts}\rangle_{\min}$ zwischen einem qPlus und einem Silizium-Sensor zu ermöglichen, beim Silizium-Sensor $\delta\langle k_{ts}\rangle_{\min}$ sowohl für eine Bandbreite von 1000 Hz (schwarz, Volllinie) als auch für eine Bandbreite von 100 Hz (schwarz,

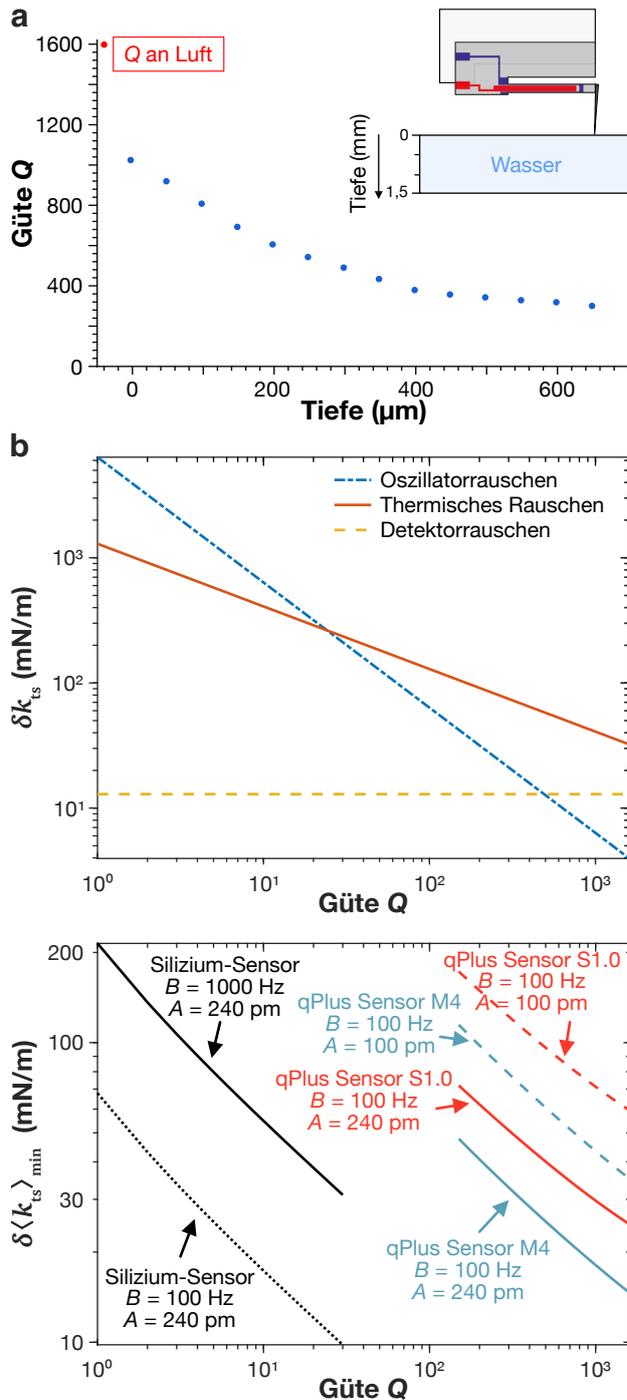


Abbildung 4.4: Untersuchung der Abhängigkeit des FM-AFM-Rauschens von der Güte Q bei Messungen in Flüssigkeiten. (a) Güte Q bei verschiedenen Eintauchtiefen der Spitze in Wasser. Eine Skizze zeigt den Messaufbau. Der Referenzwert der Güte an Luft beträgt 1597 und ist rot markiert. (b) Beiträge des totalen minimal detektierbaren Kraftgradienten $\delta \langle k_{ts} \rangle_{\min}$ in Abhängigkeit von der Güte Q . Thermisches Rauschen $\delta k_{ts,th}$ (rot, Volllinie), Oszillatorrauschen $\delta k_{ts,osz}$ (blau, Strichpunktlinie) und Detektorrauschen $\delta k_{ts,det}$ (gelb, Strichlinie). Zur Berechnung sind die Werte des qPlus M4 Sensors (siehe Tab. 4.1) verwendet worden. (c) Vergleich des totalen minimal detektierbaren Kraftgradienten $\delta \langle k_{ts} \rangle_{\min}$ für qPlus und Silizium-Sensor in Abhängigkeit von der Güte Q . Für den Silizium-Sensor wurden $\delta \langle k_{ts} \rangle_{\min}$ neben den in Ref. [7] angegebenen Werten ($A = 240 \text{ pm}$, $B = 1 \text{ kHz}$, schwarze Volllinie) auch für eine geringere Bandbreite $B = 100 \text{ Hz}$ (schwarze Strichlinie) bestimmt. Für die beiden qPlus Sensoren M4 (blau) und S1.0 wurde $\delta \langle k_{ts} \rangle_{\min}$ wiederum bei einer Bandbreite von $B = 100 \text{ Hz}$ für zwei verschiedene Amplituden $A = 100 \text{ pm}$ (Strichlinie) und $A = 240 \text{ pm}$ (Volllinie) berechnet. Nach Ref. [124], Springer Nature, lizenziert unter CC BY 4.0.

Punktlinie) berechnet. Beide sind in Abb. 4.4c gezeigt. Überdies geht $\delta \langle k_{ts} \rangle_{\min}$ linear mit der Amplitude einher. Da zugleich die kleinen Amplituden auch ein stärkeres Signal, aufgrund höherer Sensitivität zu kurzreichweitigen Kräften, ermöglichen, soll dies ebenso Berücksichtigung finden. Deshalb wurde $\delta \langle k_{ts} \rangle_{\min}$, bei beiden verwendeten qPlus Sensoren vom Typ M4 (blau) und S1.0 (rot), sowohl für $A = 240 \text{ pm}$ (Volllinie), welche identisch zu der verwendeten Amplitude des Silizium-Sensors ist, als auch für $A = 100 \text{ pm}$ (Strichlinie) berechnet. Der

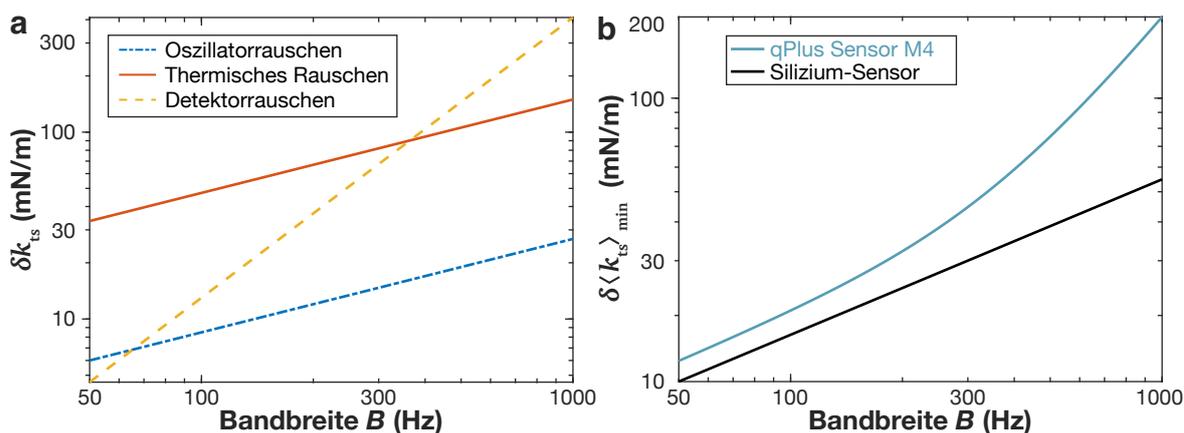


Abbildung 4.5.: Abhängigkeit des Rauschens von der Bandbreite. (a) Rauschbeiträge des Kraftgradienten aufgetragen in Abhängigkeit von der Bandbreite. Oszillatorrauschen $\delta k_{ts,osz}$ (blau, Strichpunktlinie), thermisches Rauschen $\delta k_{ts,th}$ (rot, Volllinie) und Detektorrauschen $\delta k_{ts,det}$ (gelb, Strichlinie). (b) Vergleich des minimal detektierbaren Kraftgradienten von einem qPlus (blau) und einem Silizium-Sensor (schwarz).

Vergleich von $\delta \langle k_{ts} \rangle_{\min}$ in Abb. 4.4c lässt darauf schließen, dass bei Messungen in Flüssigkeiten ein qPlus-AFM bereits ein ähnliches Rauschverhalten aufweist wie ein Silizium-AFM. Als Zwischenfazit folgt, dass sich in der Theorie ein qPlus System hauptsächlich durch die Möglichkeit zur Verwendung von sehr kleinen Amplituden und durch die Einschränkung auf langsame Messgeschwindigkeiten von einem Silizium-Sensor basierten AFM im Tapping-Modus unterscheidet.

In den folgenden Abschnitten sollen nun die experimentellen Ergebnisse der Messungen in Flüssigkeiten vorgestellt werden. Begonnen wird mit dem Nachweis, dass atomare Auflösung mit dem gegebenen Aufbau nicht nur an Luft, sondern auch in unterschiedlichen biologisch-relevanten Flüssigkeiten erreicht werden kann. Darauf folgen eine Einführung in die Präparation von biologischen Proben und die Vorstellung von Abbildungen von DNA-Origami, die an Luft und bei tiefen Temperaturen gemessen wurden. Zum Abschluss werden die Messungen von Doppellipidschichten diskutiert. Hier wird sich zeigen, dass mit FM-AFM im Nicht-Kontakt-Modus und unter Verwendung der neu konstruierten Flüssigkeitswanne erstmals molekulare Auflösung von Lipiden aus einem Eigelb möglich wird.

4.1. Abbildung von Muskovit an Luft und in wässrigen Umgebungen

Zur Demonstration des Auflösungsvermögens des um die Flüssigkeitszelle erweiterten qPlus AFMs wurde Muskovit¹ $KAl_2(OH,F)_2(AlSi_3O_{10})$ abgerastert. Dies wird häufig als Substrat zur Immobilisierung von DNA [19, 137–139], Lipiden [140–142] und Membranproteinen [143–

¹Muskovit wurde von Plano GmbH in der höchsten verfügbaren Qualitätsstufe V1 gekauft.

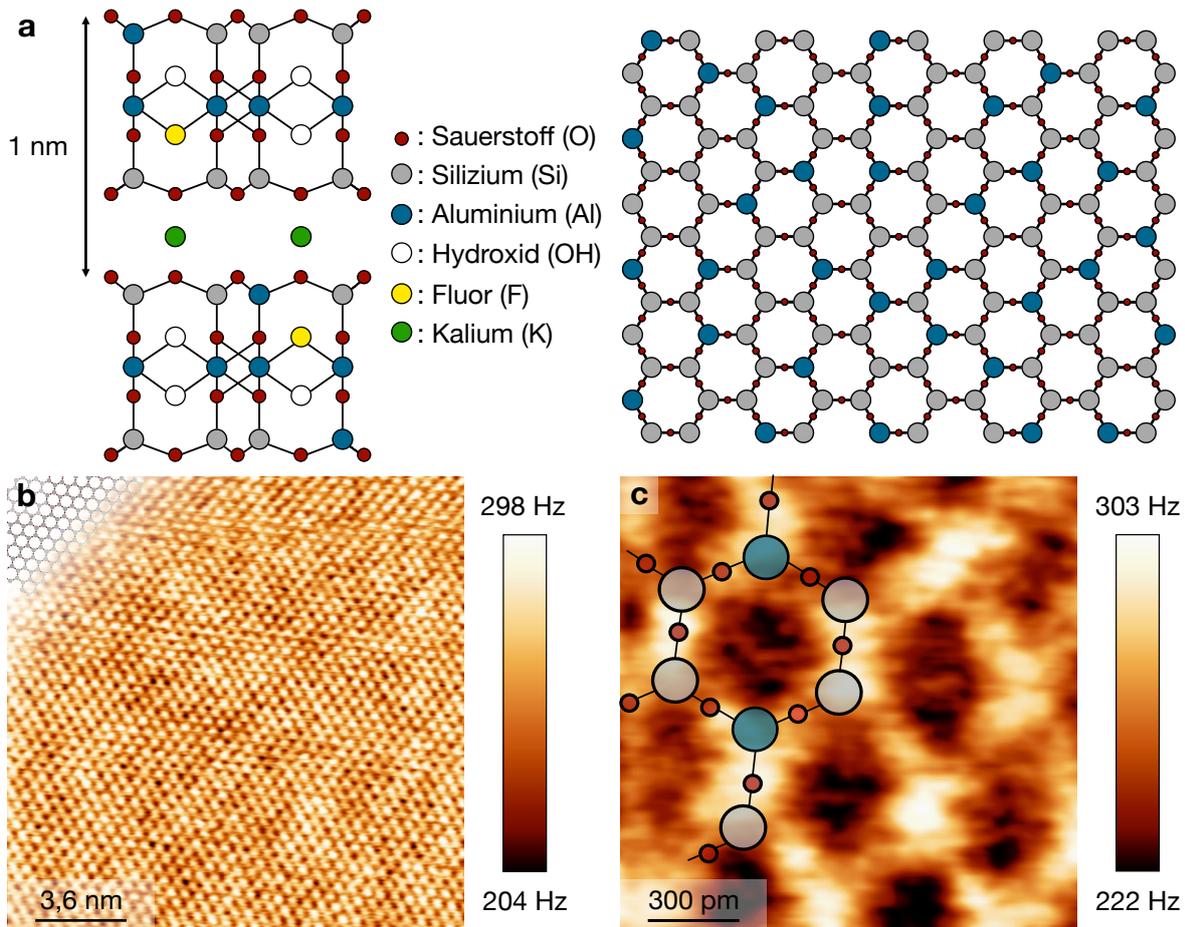


Abbildung 4.6.: Abbildung der Muskovit Struktur mit atomarer Auflösung an Luft. Abbildungsparameter: Saphirspitze, quasi-konstante Höhe, $f_0 = 31,3 \text{ kHz}$, $k = 1,8 \text{ kN/m}$, $\Delta f = +257 \text{ Hz}$ und $A = 78 \text{ pm}$. (a) Vereinfachte Darstellung der Muskovit Struktur in der (010)-Projektion (links, nach Ref. [7]) und in der (001)-Projektion (rechts), deren Oberfläche abgerastert wird. (b) FM-AFM-Aufnahmen eines $18 \text{ nm} \times 18 \text{ nm}$ großen Ausschnitts der Muskovit Oberfläche mit möglicher überlagerter Struktur. (c) FM-AFM-Aufnahme eines $1,5 \text{ nm} \times 1,5 \text{ nm}$ großen Bereichs. Eine mögliche Anordnung der Muskovit-Struktur ist eingezeichnet. Nach Ref. [124], Springer Nature, lizenziert unter CC BY 4.0.

145] verwendet. Muskovit zählt zu den Schichtsilikaten und eine Schicht besteht aus einem Aluminiumoxid (AlO_6) Oktaeder, der eingebettet ist zwischen zwei Siliziumoxid (SiO_4) Tetraedern [7, 146–148]. Die SiO_4 Tetraeder weisen in der (001)-Projektion eine hexagonale Struktur auf und die einzelnen Schichten werden durch Kaliumionen zusammengehalten. Der Summenformel kann bereits entnommen werden, dass ein Viertel aller Si^{4+} durch Al^{3+} ersetzt ist. Diese isomorphe Substitution führt zu einer negativ geladenen Oberfläche, wenn man das Schichtsilikat entlang der (001)-Ebene spaltet. In den in Abb. 4.6a dargestellten (010)- und (001)-Projektionen wurde zudem noch in jeder Schicht eine Hydroxidgruppe (OH) durch ein Fluor (F) ersetzt, da der Einschluss davon ebenso in der Strukturformel festgehalten ist. Das Spalten von Muskovit erfolgt mit einem Streifen Klebeband, wobei angenommen wird, dass

4. Atomare und molekulare Auflösung in biologisch-relevanten Umgebungen

auf einer frisch gespalteten Oberfläche die Hälfte der Kaliumionen zurückbleibt [149].

Messungen mit dem Rasterkraftmikroskop an Luft zeigen, dass nach dem Spalten atomar-flache Oberflächen zurückbleiben. Insbesondere konnten bei den hier durchgeführten Messungen keine Stufen von Muskovit beobachtet werden. Dadurch ist es möglich, atomare Auflösung eines verhältnismäßig großen Bereichs von $18 \text{ nm} \times 18 \text{ nm}$ zu erzielen, wie er in Abb. 4.6b gezeigt ist. Die Oberflächenstruktur von Muskovit ist deutlich in der vergrößerten Aufnahme in Abb. 4.6c erkennbar. Zur Veranschaulichung ist eine mögliche Struktur überlagert. Die Periodizität von $0,52 \text{ nm}$ stimmt mit den Literaturwerten überein [146]. Beide Aufnahmen wurden in quasi-konstanter Höhe aufgenommen. Dabei wird die Höhenkontrolle so langsam eingestellt, dass lediglich die langsame Drift kompensiert wird.

Im Anschluss wurden Messungen in einer Varietät von biologisch-relevanten Flüssigkeiten durchgeführt, um zu überprüfen, ob AFM-Aufnahmen beispielsweise durch eine hohe Salzkonzentration qualitativ beeinflusst werden und ob diese gegebenenfalls sogar eine atomare Auflösung verhindern. Zur Messung in Flüssigkeiten wurde eine Muskovit-Probe in die neue Flüssigkeitswanne geklebt. Für den ersten Versuch wurden direkt im Anschluss an das Spalten $60 \mu\text{l}$ Reinstwasser² in die Wanne gegeben. In Abb. 4.7a ist der Versuchsaufbau skizziert und in Abb. 4.7b ist eine Fotografie der in das Wasser eingetauchten Saphirspitze zu sehen. Die Güte des verwendeten qPlus Sensors ($k = 1,8 \text{ kN/m}$) sank von 1777 (an Luft) auf 714, wenn die Spitze nahe zum Kontakt mit der Probe war. Das Ziel einer atomaren Auflösung in Flüssigkeiten wurde erreicht, wie in Abb. 4.7c zu sehen ist. Bei dieser Messung wurde eine Amplitude von $A = 210 \text{ pm}$ verwendet, da sie hier den besten Kontrast lieferte. Als weiteres Test-Medium wurde die Pufferlösung³ Tris-HCl⁴ gewählt. Der pH-Wert wurde durch Zugabe von Salzsäure (HCl) auf 8,0 eingestellt. Atomare Auflösung von Muskovit konnte ebenso in der Pufferlösung erreicht werden und ist in Abb. 4.7d anhand eines $20 \text{ nm} \times 20 \text{ nm}$ großen Ausschnitts gezeigt.

Zum Abschluss wurde in einem Zellkulturmedium, genannt HAM⁵, gemessen. Zellkulturmedien sind in der Biologie von besonderer Bedeutung, da sie der wichtigste Einzelfaktor bei der Zellzüchtung sind [150]. Eine Besonderheit war die rosa Färbung des HAM-Mediums. Bei AFMs mit Silizium-Sensoren kann ein solches nicht-transparentes Medium eine Hürde darstellen, wegen der optischen Auslese des AFM-Signals. Bei qPlus Sensoren hingegen ist dies nicht von Bedeutung, da die Detektion der Auslenkung elektrisch geschieht. Die Messung in nicht-transparenten Medien mit qPlus Sensoren ist dabei exemplarisch in Abb. 4.8a gezeigt. Ferner offenbarte die Abbildung von Muskovit im Zellkulturmedium (siehe Abb. 4.8b) erneut die

²Reinstwasser ($18 \text{ M}\Omega/\text{cm}$) gewonnen mit einer Merck Milli-Q[®] Anlage.

³Eine Pufferlösung erfährt bei der Zugabe einer Säure oder Base nur eine geringe Änderung des pH-Wertes.

⁴Tris ist die Abkürzung für Tris(hydroxymethyl)-aminomethan und puffert im physiologischen pH-Bereich von 7,4.

⁵HAM ist ein Kulturmedium für anaerobe, hyperthermophile Mikroorganismen, das dem natürlichen Lebensraum der Zellen nachempfunden ist. Es enthält v.a. eine Vielzahl von Salzen (NaHCO_3 , CaSO_4 , Na_2HPO_4 , CaCl_2 , KCl , NaCl), außerdem eine Mineralienlösung, Resazurin als Sauerstoffindikator und Na_2S als Reduktionsmittel. Das Medium wird Sauerstoff-frei hergestellt, wobei der verwendete Teil aerob (bereits oxidiert) war und daher eine rosa Färbung aufwies.

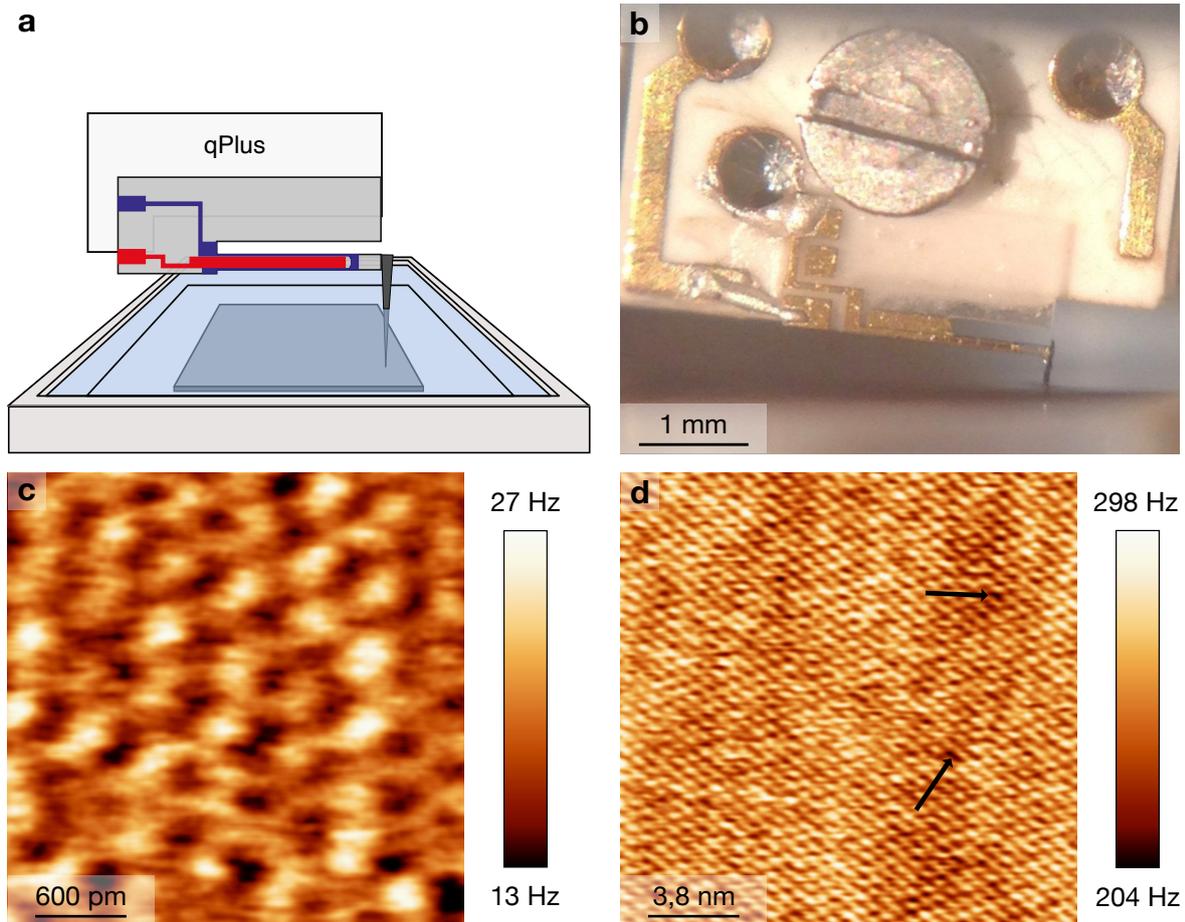


Abbildung 4.7.: Abbildung von Muskovit mit atomarer Auflösung in transparenten Flüssigkeiten. Sensoreigenschaften: Saphirspitze, $f_0 = 23,3 \text{ kHz}$, $k = 1,8 \text{ kN/m}$: (a) Skizze des Aufbaus zur Veranschaulichung der Messung mit qPlus Sensoren in einer transparenten Lösung. (b) Atomare Auflösung von Muskovit, auf das 60 μl Reinstwasser appliziert wurden. Abbildungsparameter: Quasi-konstante Höhe, $\Delta f = +20 \text{ Hz}$, $A = 210 \text{ pm}$ und $Q = 714$. (c) Atomare Auflösung von Muskovit auf einem $20 \text{ nm} \times 20 \text{ nm}$ großen Ausschnitt. Die Abbildung erfolgte dabei in 200 μl Tris-HCl Pufferlösung. Abbildungsparameter: Quasi-konstante Höhe, $\Delta f = +100 \text{ Hz}$, $A = 100 \text{ pm}$ und $Q = 275$. Nach Ref. [124], Springer Nature, lizenziert unter CC BY 4.0.

erwartete Honigwabenstruktur.

4.2. Abbildung biologischer Proben mit steifen qPlus Sensoren

Im vorherigen Abschnitt wurde demonstriert, dass Muskovit nicht nur an Luft, sondern auch in biologisch-relevanten Lösungen stets atomar mit dem AFM aufgelöst werden kann. Die folgenden Abschnitte werden sich mit dem Ziel beschäftigen, biologische Proben mit einem qPlus Sensor und mittels FM-AFM im Nicht-Kontakt-Modus hochaufgelöst abzubilden. Im ersten Abschnitt werden die Ergebnisse der Messungen von selbst immobilisierten DNA-

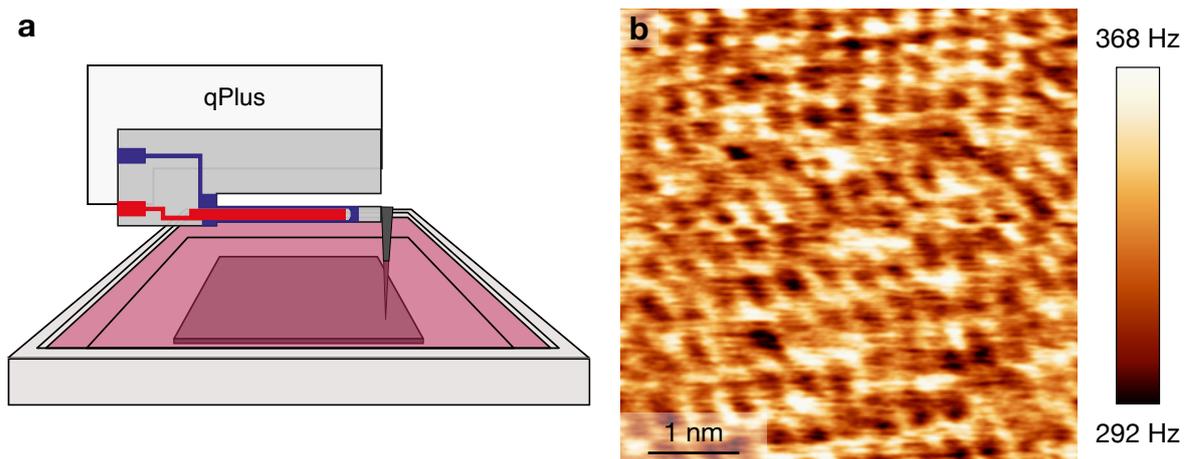


Abbildung 4.8.: Abbildung der Muskovit Struktur mit atomarer Auflösung in einem Zellkulturmedium. (a) Skizze des Aufbaus zur Veranschaulichung der Messung mit qPlus Sensoren in einer nicht-transparenten Lösung. (b) Atomare Auflösung eines $5\text{ nm} \times 5\text{ nm}$ großen Bereichs von Muskovit. Abbildungsparameter: Saphirspitze, quasi-konstante Höhe, $f_0 = 56,59\text{ kHz}$, $k = 1,8\text{ kN/m}$, $\Delta f = +330\text{ Hz}$ und $A = 112\text{ pm}$. Nach Ref. [124], Springer Nature, lizenziert unter CC BY 4.0.

Strängen und käuflich erworbenen DNA-Origami vorgestellt. Im zweiten Abschnitt sollen die experimentellen Ergebnisse der Messungen von Doppellipidschichten folgen. In beiden Teilen soll dabei auch die Präparation und Immobilisierung diskutiert werden.

4.2.1. Präparation, Immobilisierung und Abbildung von DNA und DNA-Origami

Einer der Grundbausteine der Biologie ist die DNA (Desoxyribonukleinsäure), welche bei allen Lebewesen der Träger der Erbinformationen ist. Bereits früh fanden erste Versuche statt, die DNA sowohl mit Tunnel- [151–153] als auch Rasterkraftmikroskopie [137, 154–158] abzubilden. Dies geschah mit dem Ziel, durch das Abtasten der Oberfläche mehr Informationen über diese zu erhalten. Da das AFM das Untersuchen einzelner Stränge ermöglicht, ist ein ferner Wunsch, einzelne DNA-Stränge mittels Rastersondenmikroskopie zu sequenzieren. Ein weiterer Vorteil beim Abbilden von DNA mit Hilfe der Rasterkraftmikroskopie, v.a. im Vergleich zur Elektronenmikroskopie, ist die Möglichkeit der Abbildung in physiologischer Umgebung. So ist es beispielsweise möglich, die Interaktion von DNA mit Proteinen abzubilden [159, 160]. Die DNA selbst setzt sich aus zwei spiralförmigen antiparallelen Polynucleotidsträngen zusammen. Die 1953 von Watson und Crick veröffentlichte Form der rechtsgängigen DNA wird als B-DNA bezeichnet [26, 161]. Die Basen Adenin, Thymin, Guanin und Cytosin im Inneren der Helix sind komplementär. Wie in Abb. 4.9 zu sehen, ist Adenin mit Thymin über zwei Wasserstoffbrückenbindungen verbunden. Das andere Basenpaar Guanin und Cytosin ist über drei Wasserstoffbrückenbindungen verknüpft. Stellt man sich die Helixstruktur als verdrillte Leiter vor, so ist ersichtlich, dass nur für die eben genannten Basenpaare die Leitersprossen

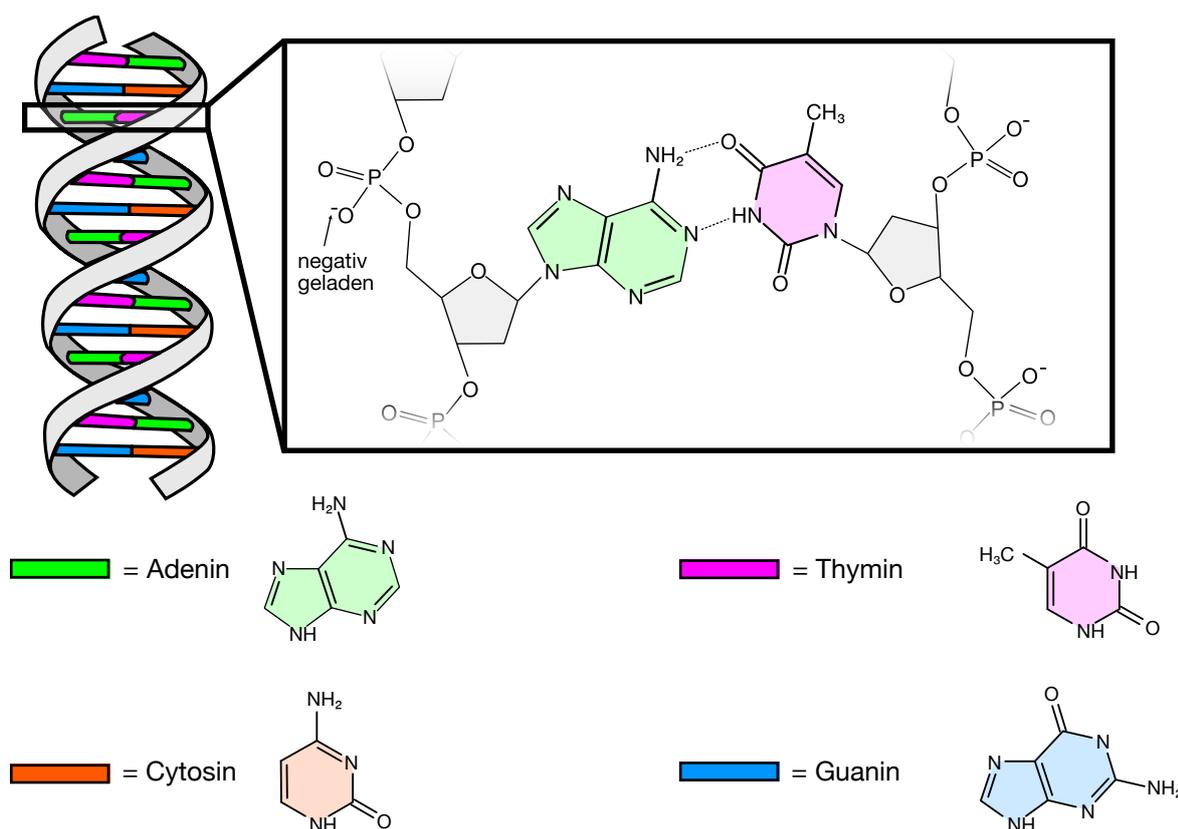


Abbildung 4.9.: Aufbau und Struktur der rechtsgängigen Desoxyribonukleinsäure (DNA). Die chemische Struktur der vier Basen Adenin (grün), Thymin (violett), Cytosin (rot) und Guanin (blau) ist unterhalb der Doppelhelix aufgezeigt. Eine vergrößerte Ansicht eines Adenin-Thymin-Paares zeigt neben der chemischen Struktur der äußeren Zucker-Phosphat-Reste zudem die beiden Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den beiden Basen.

gleich lang sind. Zudem liegt nur dann ein H-Donoratom gegenüber einem H-Akzeptoratom, weshalb dann Bindungen ausgebildet werden können. Da in dieser bildlichen Sprache die Leitersprossen nicht durch die Längsachse der Doppelhelix führen, sprich die Zuckerreste⁶ nicht gegenüber auf dem Durchmesser liegen, gibt es alternierende Windungsabstände [26]. Des Weiteren ist es wichtig zu erwähnen, dass die Phosphatreste eine negative Ladung aufweisen, wie dies in Abb. 4.9 explizit eingezeichnet ist. Diese Ladung macht es möglich, die DNA elektrostatisch an ein entsprechend präpariertes Substrat, wie z.B. Muskovit, zu binden. In den letzten Jahren wurde bereits gezeigt, dass es mit Hilfe von FM-AFM möglich ist die DNA minimalinvasiv in Flüssigkeiten abzubilden und dabei die Helixstruktur der DNA aufzulösen [19, 20]. In der vorliegenden Arbeit sollte überprüft werden, ob die Abbildung von auf Muskovit immobilisierten DNA-Strängen mit einem qPlus AFM möglich ist und ferner welches Auflösungsvermögen dabei realisierbar ist. Da großflächige AFM-Aufnahmen eine

⁶Der Zucker Desoxyribose $C_5H_{10}O_4$ bildet mit den Phosphatresten das Rückgrat der DNA.

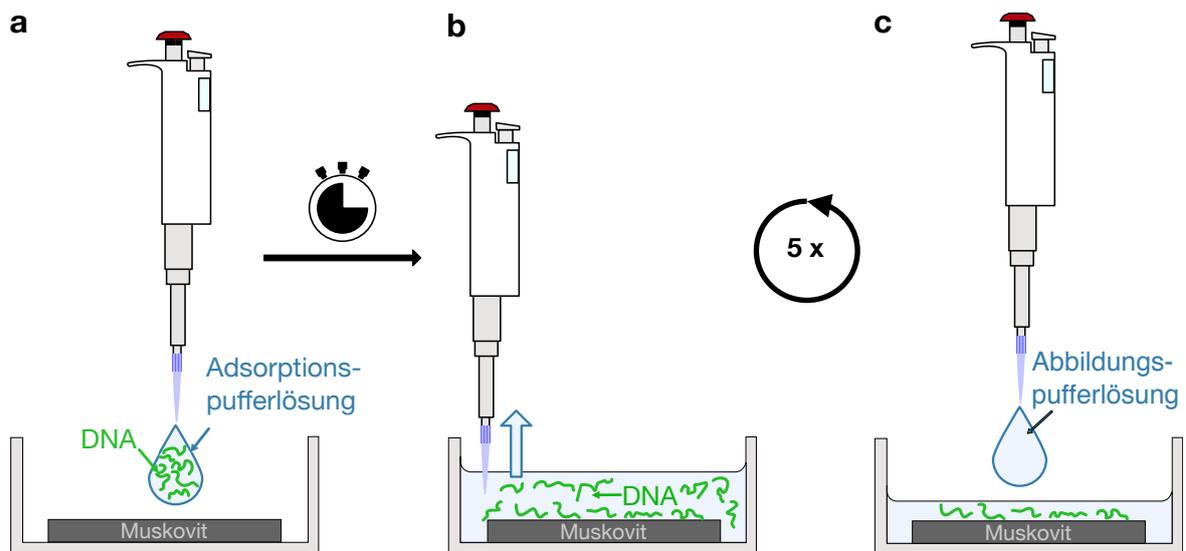


Abbildung 4.10.: Verfahren zur Immobilisierung von DNA-Strängen auf Muskovit. (a) DNA wird in einer Adsorptionspufferlösung (hier bestehend aus 10 mM Tris-HCl (pH 8,0) und MgCl_2) auf Muskovit getropft. (b) Nach einer Inkubationszeit (ca. 10 Minuten) werden nicht an das Substrat gebundene DNA-Stränge abpipettiert. (c) Abschließend wird die Probe 5 mal mit Abbildungspuffer (hier Tris-HCl, pH 8,0) gewaschen.

längere Zeit⁷ in Anspruch nehmen, ist wichtig, dass keine Drift auftritt, beziehungsweise die Proben nicht mobil auf der Oberfläche sind. Außerdem dürfen die auf die Probe wirkenden Kräfte nicht stark genug sein, um die DNA lateral zu verschieben oder zu manipulieren. Die Anforderung besteht also in diesem Fall darin, die DNA-Stränge bestmöglich an das Substrat zu binden, ohne deren Struktur stark zu beeinflussen. Zur elektrostatischen Immobilisierung von DNA-Strängen auf Muskovit eignen sich divalente Kationen wie beispielsweise Magnesium Mg^{2+} oder Nickel Ni^{2+} . Aufgrund der Toxizität von Nickelchlorid wurde hier ein Protokoll basierend auf Ref. [162] angewendet. Als Ausgangsbasis stand DNA⁸ einer Massenkonzentration von 366,4 ng/ μl in Tris-HCl Lösung (pH 8,0) bereit. Die Massenkonzentration wurde anschließend auf 2,93 ng/ μl verringert und MgCl_2 zu einer finalen Stoffmengenkonzentration von 5 mM hinzugefügt. Ein 120 μl Tropfen der DNA-Adsorptionspufferlösung (2,93 ng/ μl DNA, 10 mM Tris-HCl, 5 mM MgCl_2) wurde schließlich auf Muskovit appliziert, wie in Abb. 4.10a dargestellt. Eine Inkubationszeit von ca. 10 Minuten soll Zeit geben, dass die DNA-Stränge auf Muskovit binden können. Die nicht gebundenen DNA-Stränge werden im Anschluss abpipettiert⁹, damit diese nicht die Wechselwirkung zwischen Spitze und Probe beeinflussen (siehe Abb. 4.10b). Im letzten Schritt wird der Adsorptionspuffer durch den Abbildungspuffer (Tris-HCl, pH 8,0) ersetzt. Indem die Probe 5 mal mit dem Abbildungspuffer gewaschen

⁷Ein $1\ \mu\text{m} \times 1\ \mu\text{m}$ großes Bild mit 512×512 Pixeln benötigt bei einer Rastergeschwindigkeit von 150 nm pro Linie ca. 1 Stunde.

⁸Die DNA-Proben (Haplogruppe R2a) wurden durch eine Kollaboration mit Dr. R. Menon aus der Biologiefakultät, Universität Regensburg, bereitgestellt.

⁹Mit einer Pipette aufgenommen.

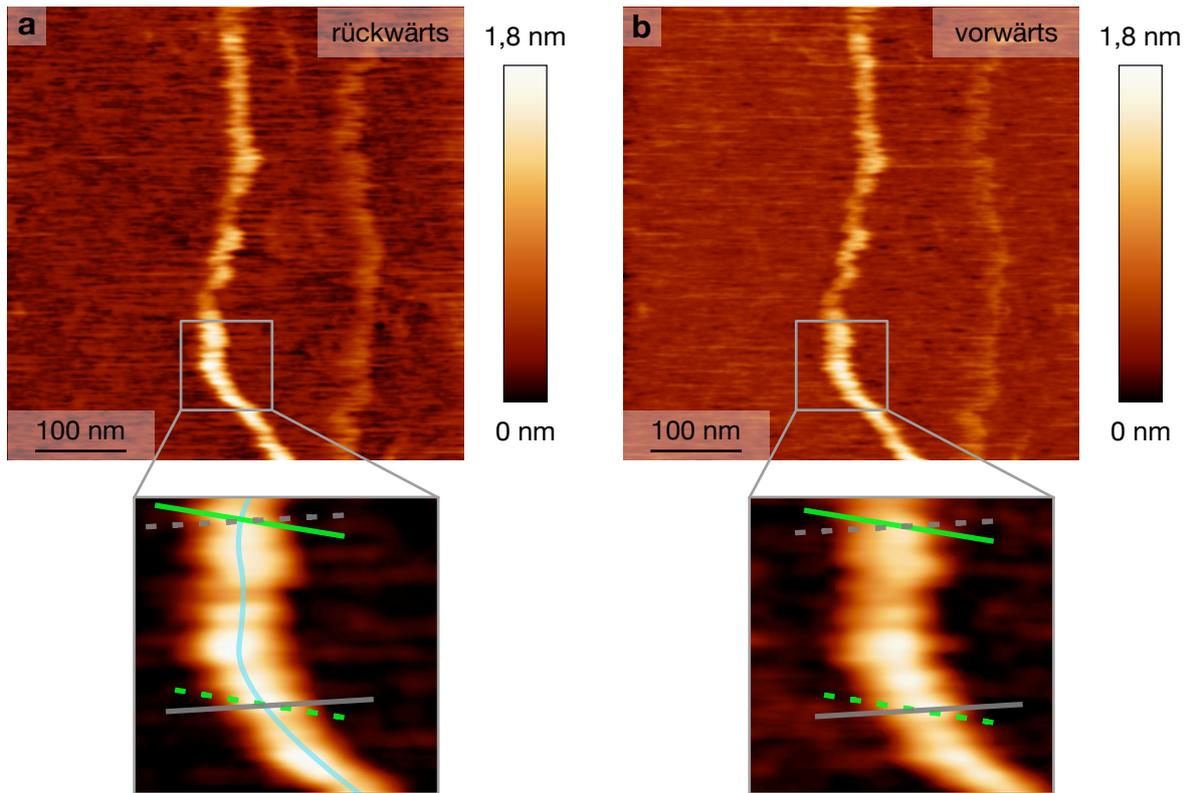


Abbildung 4.11.: Topographie eines DNA-Strangs, der auf Muskovit immobilisiert ist. Abbildungsparameter: Saphirspitze, $f_0 = 13,69$ kHz, $k = 1,8$ kN, $\Delta f = 56$ Hz und $A = 100$ pm. In Abbildung (a) ist die Probe von rechts nach links abgerastert (rückwärts) und in (b) von links nach rechts (vorwärts). Bei beiden Aufnahmen ist die Vergrößerung eines identischen Ausschnitts gezeigt. Zwei Volllinien in grün und grau markieren in beiden Bildern die räumliche Ausrichtung der topographischen Merkmale. Die unterschiedliche Orientierung der Einschnürungen entlang der DNA ist durch eine Überlagerung mit Strichlinien der jeweils anderen Ausrichtung hervorgehoben.

wird, wird ein kompletter Austausch gewährleistet. Das Waschen kann durch das Auf- und Abpipettieren der Lösung erreicht werden. Ebenso werden dadurch nochmals schwach oder ungebundene DNA-Stränge entfernt. Final wurden nochmals 120 μ l des Abbildungspuffers auf die Probe gegeben.

Die AFM-Aufnahmen eines DNA-Strangs sind in der Abb. 4.11 gezeigt. Teilbild (a) zeigt die Topographie in der Scanrichtung von rechts nach links (rückwärts). Im Teilbild (b) ist die Scanrichtung von links nach rechts (vorwärts) zu sehen. Im unteren Bildabschnitt wurde jeweils der gleich Ausschnitt vergrößert und der Kontrast erhöht, um Details besser hervorzuheben. Die Einschnürungen oder Merkmale, die auf den Bildern sichtbar sind, sind sowohl in Vorwärts- als auch Rückwärts-Richtung vorhanden. Außerdem liegen die topographischen gemessenen Merkmale in einem Winkel zur schnellen Scanrichtung. Dies wird durch die eingezeichneten grünen und grauen Balken deutlich. Obwohl beides gegen die Wahrscheinlichkeit eines Messartefakts, verursacht durch die schnelle Scanrichtung, spricht, so kann ein

4. Atomare und molekulare Auflösung in biologisch-relevanten Umgebungen

solches nicht vollkommen ausgeschlossen werden. Ferner ist in Abb. 4.11 auffällig, dass sich die Richtung der Features verändert, wobei der Winkel zwischen der Längsachse des Strangs (blaue Linie) und den Einschnürungen, beziehungsweise Streifen, nahezu konstant bleibt. Zur Veranschaulichung sind richtungsweisende (durchgezogene) Balken in grüner und grauer Farbe eingezeichnet. Um den Unterschied der Orientierung hervorzuheben, sind die Balken nochmals gestrichelt überlagert. Geht man von topographischen Merkmalen einer DNA aus, so weisen die gemessenen Einschnürungen in Abb. 4.11, im Gegensatz zu der rechtsgängigen Helixstruktur der B-DNA, eine linksgängige Richtung auf. Die im Bild eingezeichneten grünen und grauen Balken verdeutlichen hier die mögliche Windungsrichtung. In der Literatur finden sich jedoch auch Beispiele einer linksgängigen DNA, welche Z-DNA genannt wird [26, 163]. Sie weist einen Durchmesser von 1,8nm auf, was mit der gemessenen Höhe der AFM-Messungen übereinstimmt [164]. Letztlich lässt sich aussagen, dass sowohl die gemessene Höhendifferenz zwischen Substrat und Strang als auch die bei Vorwärts- und Rückwärts-Richtung gleichbleibenden topographischen Merkmale für das Abbilden einer Z-DNA sprechen. Jedoch war eine stabile und reproduzierbare Immobilisierung nicht immer gegeben. Aus diesem Grund konnten keine weiteren hochauflösenden Aufnahmen gewonnen werden, welche erlauben würden die helikale Struktur der DNA molekular aufzulösen. Im anschließenden Abschnitt wird nun zu Messungen auf kommerziell erhältlichen DNA-Origami-Proben übergegangen, da hier der heikle Schritt der Präparation und Immobilisierung nicht selbst durchzuführen ist und ferner auch Referenzbilder existieren.

Messungen auf DNA-Origami an Luft

Ein Teil der im Folgenden präsentierten Messungen mit DNA-Origami wurde bereits im Rahmen der Bachelorarbeit von E. Wietek, bedingt durch gemeinsame und unter meiner Anleitung entstandene Messungen, gezeigt [165].

DNA-Nanotechnologie ist in den letzten Jahren ein stark wachsendes Forschungsfeld, vor allem bedingt durch die Erzeugung von DNA-Origami [166]. Vereinfacht sind DNA-Origami bewusst zusammengesetzte Einzelstränge (engl.: single-stranded DNA, ssDNA), so dass diese eine bestimmte Form annehmen. Der Ursprung der Entwicklung solcher Kombinationen von DNA-Segmenten liegt in den 1980er Jahren, wobei ein großer Sprung erst durch die Veröffentlichung von Paul W.K. Rothemund im Jahr 2007 gelang [21, 166]. Hierbei wurde ein virales Genom¹⁰ mit bekannter Sequenzabfolge verwendet, um mit Hilfe von passenden „DNA-Klammern“ (engl.: staples) verschiedene Formen zu erschaffen. Die Klammern sind dabei die komplementären Basen zu denen der anzuheftenden Stellen des viralen Genoms. Zur anschaulichen Erklärung ist in Abb. 4.12 die Erzeugung von DNA-Origami am Beispiel

¹⁰Ein Genom ist das Erbgut eines Lebewesens oder eines Virus, sprich die Gesamtheit der Träger der vererbaren Informationen. Virale Genome können einzel- oder doppelsträngig sein und aus DNA oder RNA bestehen.

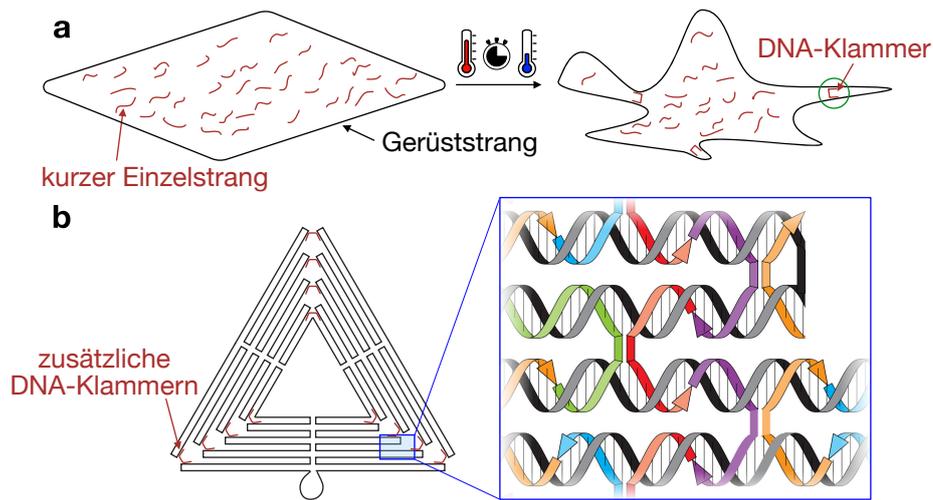


Abbildung 4.12.: Darstellung der Erzeugung von DNA-Origami. (a) Ein Gerüststrang (ssDNA, schwarz) bekannter Basenabfolge wird zusammen mit ausgewählten kurzen ssDNA-Stücken (rot) erhitzt und wieder abgekühlt. Die kurzen Einzelstränge heften sich als DNA-Klammern an entsprechende Stellen und zwingen dem großen Gerüststrang eine definierte Form auf. (b) Faltung eines DNA-Strangs in Form eines Dreiecks. Zur Stabilität der Dreiecke sind in allen drei Ecken die benachbarten Stränge durch zusätzliche Klammern verbunden. Diese sind in roter Farbe kenntlich gemacht. Eine vergrößerte Ansicht des blau markierten Bereichs verdeutlicht die Position der farbigen DNA-Klammern zwischen dem parallel verlaufenden Gerüststrang (schwarz). Struktur der DNA-Origami nach Ref. [167], © 2005 IEEE.

eines DNA-Dreiecks skizziert. Ein langer zirkulärer DNA-Einzelstrang (mit bekannter Basenabfolge), auch Gerüststrang genannt, wird gemeinsam mit den kurzen DNA-Stückchen erhitzt und kontrolliert wieder abgekühlt. Durch das Abkühlen heften sich die DNA-Stückchen an die komplementären Stellen und bilden dadurch gewissermaßen Klammern, wie es in Abb. 4.12a illustriert ist. Der Aufbau der in dieser Rasterkraftmikroskopiestudie untersuchten Dreiecke ist in Abb. 4.12b dargestellt. Eine vergrößerte Ansicht zeigt dabei den Gerüststrang in grauschwarzer Farbe mit den zugehörigen Klammern, die farblich hervorgehoben sind.

DNA-Origami finden zahlreiche Anwendungsmöglichkeiten. Zu diesen zählen unter anderem das Verwenden von DNA-Origami als Schablonen zum Anordnen von Nanopartikeln [168, 169], als programmierbare Nanoroboter [170, 171], als Biosensoren [172] und zur Therapie von Krankheiten [22]. Insbesondere bei der zuletzt genannten medizinischen Anwendung gelten Transporter aus DNA-Origami, aufgrund ihrer biologischen Kompatibilität, als aussichtsreicher neuer Therapieansatz, weshalb in Ref. [173] bereits Dreiecke aus DNA-Origami zur Tumorthherapie verwendet worden sind. Die Wirkstoffe sind hier zunächst an die DNA-Origami gebunden und sobald die DNA-Strukturen innerhalb der Tumorzelle, beispielsweise durch einen anderen pH-Wert, zersetzt werden, so werden die Wirkstoffe gezielt freigesetzt.

Die im Folgenden gezeigten AFM-Aufnahmen von dreieckigen DNA-Origami sind nicht in wässriger Umgebung, sondern an Luft gemessen wurden. Ferner können die verwendeten

4. Atomare und molekulare Auflösung in biologisch-relevanten Umgebungen

DNA-Origami-Proben kommerziell¹¹ bezogen werden. Bei der Lieferung sind sie bereits auf einem Silizium-Substrat immobilisiert und getrocknet. Eine ausführliche Beschreibung der Präparation findet sich in Ref. [174, 175], wobei auch hier eine kurze Zusammenfassung folgt. Es wird zunächst eine Pufferlösung, bestehend aus Tris-HCl (40 mM), EDTA (2 mM, Ethylendiamintetraacetat) und Magnesiumacetat (150 mM) mit Wasser verdünnt bis eine Konzentration der Magnesiumionen von 12,5 mM vorliegt. Anschließend werden 8,6 μ l einer Gerüststrang-Lösung (M13mp18, virale ssDNA) der Konzentration 1,6 nM mit 15 μ l einer Lösung der nötigen 253 DNA-Klammern (16 nM) gemischt. Schließlich werden 77 μ l Milli-Q[®] Wasser¹² und 181 μ l der Pufferlösung hinzugegeben und zum Abschluss wird die gewonnene DNA-Lösung erhitzt und gefiltert [174, 176]. Da Silizium an Luft eine native Oxidschicht aufweist, wurden die Silizium-Substrate in eine heiße Piranha-Lösung¹³ getaucht. Nach dem Waschen mit Wasser und anschließendem Trocknen mit Stickstoffgas werden 2-3 μ l der DNA-Origami-Lösung auf das Silizium Substrat gegeben und für 30 min inkubiert. Zur Trocknung der Probe wird diese zunächst mit Stickstoffgas abgeblasen und ein anschließendes Eintauchen für 3 Sekunden in ein Ethanol-Wasser-Gemisch (90 %/10 %) soll erreichen, dass Verunreinigungen durch Salze verringert werden. Abschließend wird die Probe nochmals mit Stickstoffgas getrocknet.

Eine 2 μ m \times 2 μ m große Übersichtsaufnahme (siehe Abb. 4.13a) offenbart bereits einen hohen Bedeckungsgrad mit DNA-Origami. Jedoch sind auch eine Vielzahl von größeren Partikeln zu sehen. Ein Linienprofil in Abb. 4.13b, entlang der weißen Linie in Abb. 4.13a, zeigt, dass die Partikel bis zu 20 nm hoch sein können. Zur besseren Sichtbarkeit der DNA-Origami in Abb. 4.13c wurde der Kontrast im Falschfarbenbild durch das Abschneiden aller Werte über 5 nm Höhe angepasst. Durch den höheren Kontrast wird auch die Oberflächenrauigkeit des Silizium-Substrats deutlich. Die Rauigkeit deutet auf eine starke Oxidation aufgrund einer längeren Exposition mit Luft hin, was am Transport und der Lagerung der Probe liegen könnte. Eine weitere Möglichkeit ist, dass nicht alle überschüssigen Salze beim Waschvorgang der Probe entfernt werden konnten. Ein erneutes Eintauchen einer Probe in eine Wasser-Ethanol-Mischung hat in unserem Fall jedoch zu einer deutlichen Verschmutzung und Zerstörung dieser geführt. In Abb. 4.13d ist eine höher aufgelöste Aufnahme der Dreiecke abgebildet. Deutlich zu erkennen sind, neben dem großen Loch in der Mitte, die kleinen Löcher in den Ecken der Dreiecke. Zur Erinnerung ist eines der Dreiecke mit der Faltung des DNA-Strangs überlagert und weiße Pfeile deuten nochmals auf die kleinen Löcher in der Ecke hin. Zur Charakterisierung der Höhe der DNA-Origami sind in Abb. 4.13e und Abb. 4.13f zwei Höhenprofile entlang der schwarzen und grünen Linie (siehe Abb. 4.13d) dargestellt. Die DNA-Origami weisen eine Höhe von 2 nm auf, was mit der zu erwartenden Höhe eines DNA-Strangs übereinstimmt. Bisherige Rasterkraftmikroskopieaufnahmen zeigen eine geringere Höhe von 1,0 nm bis 1,8 nm

¹¹Nanosurf AG, 4410 Liestal, Schweiz.

¹²Reinstwasser (18 M Ω /cm) gewonnen mit einer Merck Milli-Q[®] Anlage.

¹³Piranha-Lösung (H₂SO₅), auch Peroxomonoschwefelsäure genannt, kann durch die Zugabe von konzentrierter Schwefelsäure (H₂SO₄) zu einer Wasserstoffperoxidlösung (H₂O₂) erzeugt werden.

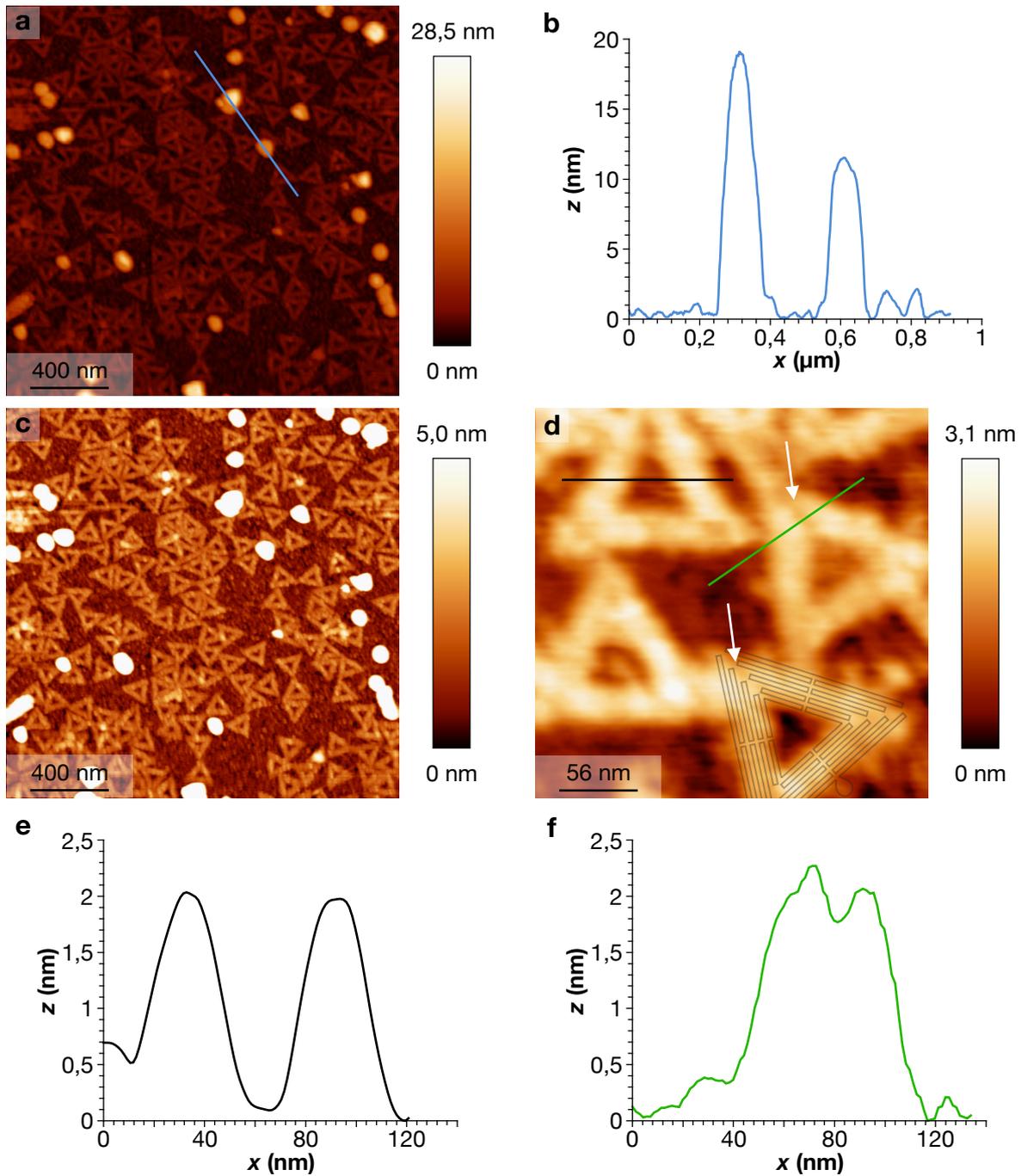


Abbildung 4.13.: FM-AFM-Aufnahmen von DNA-Origami, die auf einem Silizium-Substrat immobilisiert sind. Abbildungsparameter: Saphirspitze, $f_0 = 28,0$ kHz, $k = 1,8$ kN/m, $\Delta f = 65$ Hz und $A = 100$ pm. (a) Übersichtsaufnahme eines $2\ \mu\text{m} \times 2\ \mu\text{m}$ großen Bereichs. Ein Höhenprofil entlang der blauen Linie ist in (b) gezeigt. (c) Identische Aufnahme wie in (a), jedoch mit angepasster Falschfarbenskala zur Erhöhung des Kontrasts. (c) Höher aufgelöste Abbildung eines $280\ \text{nm} \times 280\ \text{nm}$ großen Ausschnitts. Zwei weiße Pfeile deuten sowohl auf die entsprechenden Löcher in den Ecken eines DNA-Origamis als auch auf die einer überlagerten DNA-Faltung (nach Ref. [167], © 2005 IEEE). Die Höhenprofile entlang der schwarzen und grünen Linie sind in den Abbildungen (e) und (f) gezeigt.

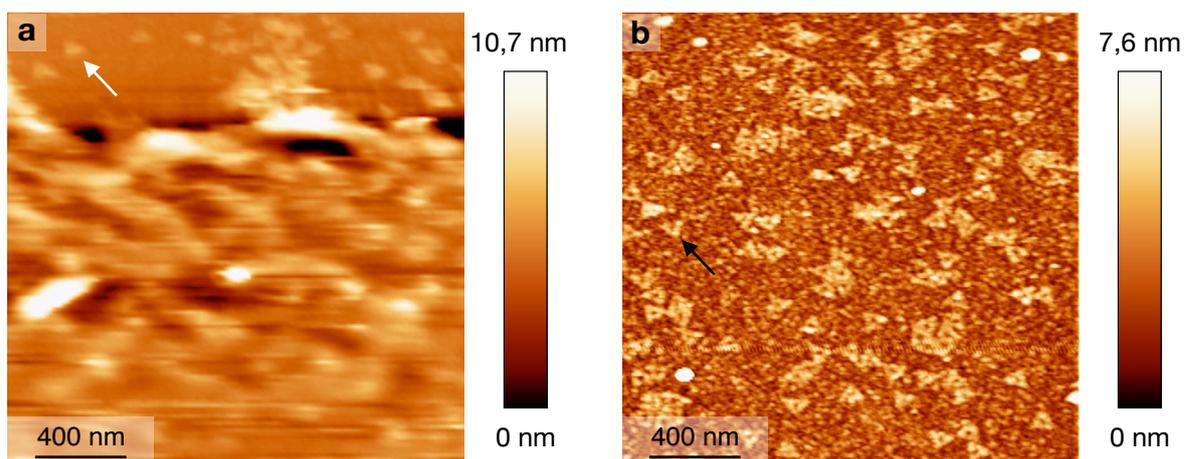


Abbildung 4.14.: Topographische AFM-Aufnahmen von DNA-Origami unter Verwendung von weichen Silizium-Sensoren mit optischer Detektion. (a) AM-AFM-Aufnahme im Tapping-Modus, wobei die Probe von oben nach unten abgerastert wurde. Im ersten Drittel des Scanbereichs sind DNA-Origami erkennbar. Im Rest des Bildes sind sie irreversibel deformiert worden. Abbildungsparameter: $f_0 = 20$ kHz, $k = 18$ N/m und $A = 2,7$ nm. (b) Topographie aufgezeichnet im Kontakt-Modus. Es wurde ein weicher Silizium-Sensor mit einer Steifigkeit geringer als < 1 N/m verwendet.

auf [174, 176, 177]. In Ref. [178] wird diese Diskrepanz zwischen Messung und Theorie auf die Elastizität der DNA-Proben zurückgeführt. Bei den typischerweise verwendeten Tapping- oder Kontakt-Modi wird angenommen, dass die große Kraft zwischen Spitze und Probe zu einer Deformation der Probe führt. Da bei unseren Messungen eine der Erwartung entsprechende Höhe gemessen werden konnte, ist dies ein Indiz dafür, dass bei FM-AFM mit qPlus Sensoren nicht nur im Ultrahochvakuum sehr geringe Kräfte kontrolliert werden können. Die in Abb. 4.13 gezeigten Aufnahmen sind mit vergleichsweise großer Frequenzverschiebung $\Delta f = 65$ Hz aufgenommen, wodurch der beste Kontrast erreicht wurde. Zum Vergleich wurden Messungen im Tapping- und Kontakt-Modus mit einem AFM mit Silizium-Sensoren durchgeführt¹⁴. In Abb. 4.14a ist eine exemplarische Aufnahme im Tapping-Modus gezeigt. Starke Instabilitäten führten dazu, dass der Sensor mit einer Steifigkeit von $k = 18$ N/m nicht kontrolliert AM-AFM im Tapping-Modus betreiben konnte. Nur im oberen Bereich der Aufnahme sind DNA-Origami (siehe weißer Pfeil) zu erkennen. Nach einem Drittel der Aufnahme kam es zum „jump-to-contact“, was zu einer irreversiblen Zerstörung der DNA-Origami führte. Nachdem keine besseren Ergebnisse mit dem Tapping-Modus erreicht werden konnten, wurde ein weicherer Sensor ($k < 1$ N/m) im Kontakt-Modus verwendet. Damit gelang die Abbildung der DNA-Origami, wie in Abb. 4.14b ersichtlich ist. Eine Abbildungsqualität äquivalent zum verwendeten qPlus AFM konnte nicht erreicht werden. Ein schwarzer Pfeil deutet exemplarisch auf eines der Dreiecke, wobei die Höhe aufgrund der rauen Oberfläche

¹⁴AFM-Messungen mit Silizium-Sensoren (Abb. 4.14) wurden an der JKU in Linz im Labor von Prof. Dr. P. Hinterdorfer im Rahmen des XX. Annual Linz Winter Workshops durchgeführt.

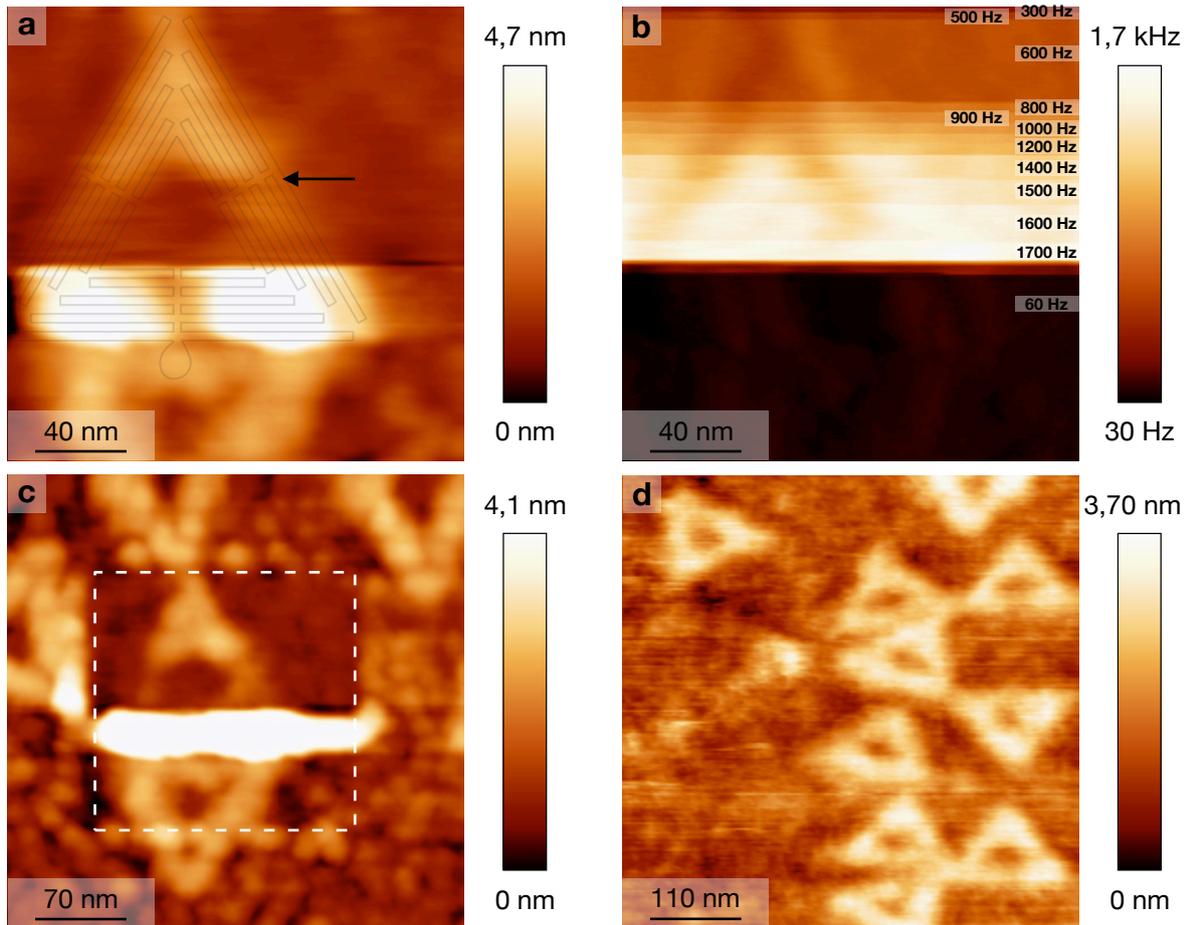


Abbildung 4.15.: Mit qPlus Sensoren aufgezeichnete Topographie eines DNA-Dreiecks bei starker Spitzen-Proben-Interaktion. Bilder (a) und (b) zeigen die Topographie und Frequenzverschiebung der FM-AFM-Aufnahme. In Bild (a) ist die Faltung des DNA-Dreiecks überlagert (nach Ref. [167], © 2005 IEEE). Die Höhe wurde auf die Frequenzverschiebung Δf geregelt, welche sukzessive erhöht wurde. Bereiche konstanter Δf -Werte sind in (b) anhand der Falschfarbendarstellung sichtbar und sind zudem mit Werten beschriftet. Abbildungsparameter: Saphirspitze, $f_0 = 28,0$ kHz, $k = 1,8$ kN/m und $A = 100$ pm. (c) Erweiterte Topographie Aufnahme zeigt deutlich den in (a) abgerasterten und teilweise zerstörten Probenbereich (weißer gestrichelter Rahmen). (d) Topographie aufgezeichnet im bimodalen Modus mit Höhenregelung auf der 2. Biegemode. Abbildungsparameter: Wolframspitze, $f_{0,1st} = 22,6$ kHz, $f_{0,2nd} = 158,3$ kHz, $k_{1st} = 1,8$ kN/m, $k_{2nd} \sim 72$ kN/m, $\Delta f = 15$ Hz, $A_{1st} = 10$ pm, $A_{2nd} = 97$ pm.

und der Abbildungsqualität nicht quantitativ analysiert werden konnte.

Die herausfordernde Abbildung der DNA-Origami mit den weichen Sensoren wirft die Frage auf, ab welchem Punkt die sensitiven Dreiecke aus DNA auch mit dem qPlus AFM manipuliert werden. Um dies herauszufinden, wurde ein $200 \text{ nm} \times 200 \text{ nm}$ großer Bereich von oben nach unten abgerastert und dabei sukzessive die Frequenzverschiebung erhöht. Die gemessene Topographie ist in Abb. 4.15a gezeigt. Ein schwarzer Pfeil markiert den Übergang, ab dem das

4. Atomare und molekulare Auflösung in biologisch-relevanten Umgebungen

DNA-Dreieck manipuliert, beziehungsweise irreversibel deformiert, wird. In der zugehörigen Frequenzverschiebung in Abb. 4.15b sind die Abschnitte konstanter Frequenzverschiebung mit dem jeweiligen Wert gekennzeichnet. Daraus lässt sich ablesen, dass erst ab einer Frequenzverschiebung von $\Delta f = 1,5 \text{ kHz}$ eine eindeutige Destruktion der DNA-Origami vorliegt. Nach dem Erreichen von $\Delta f = 1,7 \text{ kHz}$ wurde die Frequenzverschiebung auf $\Delta f = 60 \text{ Hz}$ reduziert. Die Anhäufung beim Übergang zwischen extrem hoher und niedriger Frequenzverschiebung ist dadurch zu erklären, dass die Spitze, sobald die Kräfte hinreichend groß waren, das DNA-Material des Dreiecks während dem weiteren Abrastern der Probe vor sich hergeschoben hat. Erst durch die Reduktion der Frequenzverschiebung auf 60 Hz , ab etwa der Hälfte des Bildes, wurde die Manipulation der Probe gestoppt. Eine im Anschluss mit $\Delta f = 550 \text{ Hz}$ aufgenommene AFM-Messung eines mit $350 \text{ nm} \times 350 \text{ nm}$ größeren Ausschnitts ist in Abb. 4.15c zu sehen und zeigt deutlich den zuvor mit bis zu $\Delta f = 1,7 \text{ kHz}$ abgerasterten Bereich. Der Bereich ist nochmals mit einem gestrichelten Rahmen markiert. Er verdeutlicht, dass bis zu einer Frequenzverschiebung von $\Delta f = 1,5 \text{ kHz}$ die sensitive biologische Probe, trotz der vergleichsweise hohen Steifigkeit des qPlus Sensors, ohne signifikante Deformation abgebildet werden konnte.

Überdies kann die Steifigkeit eines AFM-Sensors durch die Verwendung der zweiten Biegemode erhöht werden. Die Steifigkeit beträgt dabei ungefähr das vierzigfache der Steifigkeit der ersten Biegemode ($k_{1\text{st}} = 1,8 \text{ kN/m}$, $k_{2\text{nd}} \sim 72 \text{ kN/m}$) [10, 76]. Für das in Abb. 4.15d gezeigte FM-AFM-Bild diente die Frequenzverschiebung $\Delta f_{2\text{nd}}$ der zweiten Biegemode als Regelparame-ter. Diese Aufnahme belegt erneut, dass nicht die Steifigkeit des Sensors entscheidend ist, um kleine Kräfte zwischen Spitze und Probe kontrolliert messen zu können, sondern der minimal detektierbare Kraftgradient.

Jedoch konnten bei den hier gezeigten Messungen keine einzelnen Stränge innerhalb der DNA-Origami aufgelöst werden. Da die Proben in getrockneter Form vorlagen, war es möglich, diese mit einem Tieftemperatur-Rasterkraftmikroskop (LT-AFM) zu untersuchen. Die Erwartung war, dass eine derartige Studie mit einem LT-AFM weitere Aufschlüsse bringt, denn bei tiefen Temperaturen ($\sim 6 \text{ K}$) ist das elektrische und mechanische Rauschen deutlich verringert. Des Weiteren ist bekannt, dass mit Kohlenstoffmonoxid (CO) funktionalisierte Spitzen submolekulare und sogar subatomare Auflösung erreicht werden konnte [6, 51]. Ferner hat eine Studie von Kim *et al.* gezeigt, dass DNA-Origami-Proben, wie in unserer Studie verwendet, erst ab Temperaturen von über 200°C zerfallen und überaus stabil gegenüber organischen Lösungsmitteln sind [175]. Folglich können die getrockneten DNA-Origami nicht nur mit einem LT-AFM abgebildet, sondern zusätzlich auch erhitzt werden, um unerwünschte Adsorbate zu desorbieren.

Messungen bei tiefen Temperaturen ($5,9 \text{ K}$) wurden mit einem kommerziellen LT-STM/AFM System (CreaTec Fischer & Co. GmbH) durchgeführt. Ein Tunnelstrom konnte wegen der stark oxidierten Oberfläche nicht aufgezeichnet werden. Deshalb wurden, wie in den zuvor geschilderten Messungen, einzig FM-AFM-Aufnahmen aufgezeichnet. Der verwendete qPlus

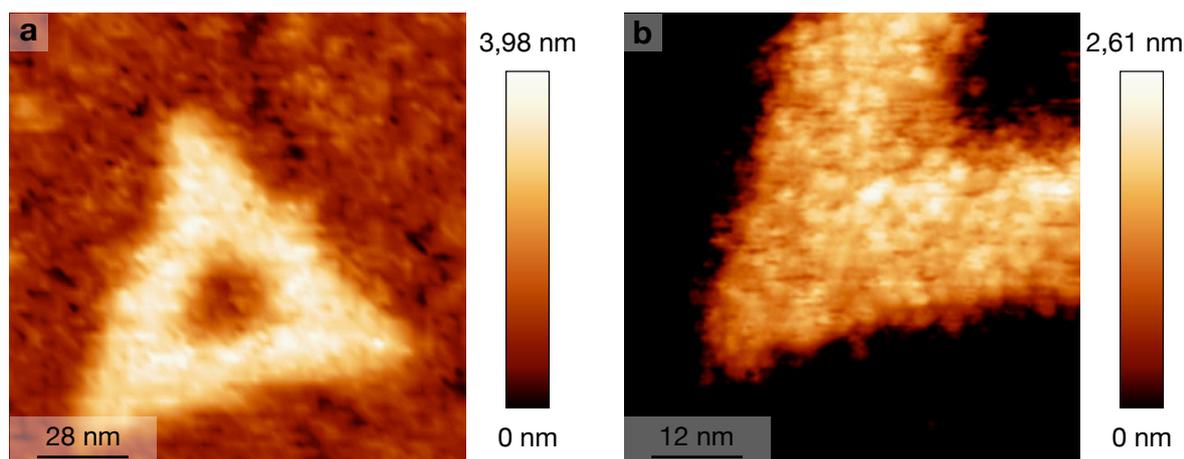


Abbildung 4.16.: FM-AFM-Aufnahmen von DNA-Origami bei tiefen Temperaturen (5,9 K). Abbildungsparameter: $f_0 = 33,7$ kHz, $k = 3,5$ kN/m, $\Delta f = -1$ Hz und $A = 300$ pm. (a) Topographie eines DNA-Origami-Dreiecks. In den Ecken sind, entgegen der Erwartung, keine Löcher erkennbar. (b) Vergrößerte Aufnahme einer Ecke des DNA-Origami-Dreiecks aus (a). Der Kontrast des Falschfarbenbildes wurde angepasst, um Strukturen innerhalb des Dreiecks besser vom Silizium-Substrat unterscheiden zu können.

Sensor hatte eine geätzte Platin/Iridium-Spitze, die zuvor auf Gold präpariert wurde. Eine stabile CO-Spitze konnte bei diesen ersten Messungen auf der DNA-Origami-Probe nicht erhalten werden. Die in Abb. 4.16 gezeigten Messungen sind deshalb mit einer nicht näher charakterisierten Metallspitze entstanden. Das in Abb. 4.16a gezeigte Dreieck weist eine Höhe von 2,1 nm auf. Eine in Abb. 4.16b vergrößerte Aufnahme einer Ecke des Dreiecks zeigt interessanterweise keine Löcher, wie sie nach der Faltung vorhanden sein sollten. Stattdessen sind punktförmige Merkmale in der vergrößerten Aufnahme sichtbar. Bei einer molekularen Auflösung von DNA-Strängen würden jedoch helikale Strukturen zu erwarten sein, welche bei der durchgeführten AFM-Messung nicht sichtbar sind. Eine mögliche Erklärung wäre, dass die Charakteristika auf nicht bestimmbare Adsorbate zurückzuführen sind.

Zusammenfassend konnten sowohl bei Raumtemperatur als auch bei tiefen Temperaturen DNA-Origami mit FM-AFM untersucht werden. Ferner zeigte sich, dass die Frequenzverschiebung größer als 1,5 kHz sein muss, um die DNA-Dreiecke zu manipulieren. Jedoch gelang keine molekulare Auflösung der DNA-Origami. Im anschließenden Abschnitt wird nun zu den Messungen auf Doppellipidschichten übergegangen.

4.2.2. Präparation, Immobilisierung und molekular aufgelöste Abbildung von Doppellipidschichten

Eine weitere Studie dieser Arbeit beschäftigt sich mit einem ebenso elementaren Baustein der Biologie von Lebewesen, den Zellen. Ein besonderes Interesse gilt dabei der Zellmembran, welche das Zellinnere vom extrazellulären Raum abgrenzt und mannigfaltige Aufgaben besitzt. Neben dem Schutz des inneren Zellmilieus sind auch Transport und Permeabilität Aufgabe

4. Atomare und molekulare Auflösung in biologisch-relevanten Umgebungen

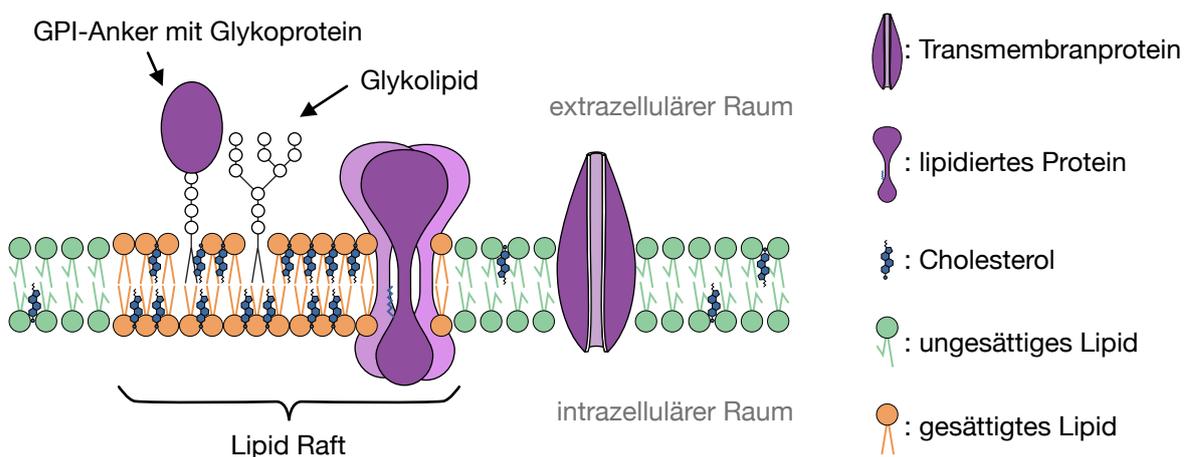


Abbildung 4.17.: Vereinfachte Darstellung des Querschnitts einer Zellmembran. In eine Doppellipidschicht sind u.a. Transmembranproteine, lipidierte Proteine und Cholesterole eingebettet. Zudem sind noch Glykolipide vorhanden und weitere Proteine können über einen GPI-Anker mit der Zellmembran verbunden sein. Die Lipide können überdies ungesättigte (grün) und gesättigte Fettsäuren (orange) haben. Bereiche gesättigter Fettsäuren mit einem hohen Anteil von Cholesterolen können eine hohe Dichte an Proteinen aufweisen. Ein solcher Bereich wird als Lipid Raft bezeichnet. Bild in Anlehnung an Ref. [181].

der Zellmembran, ebenso wie interzelluläre Kommunikation [24]. Als überaus sensitive Filter kontrollieren sie nicht nur die Sauerstoffkonzentration, sondern schleusen auch Nähr- und Abfallstoffe ein und aus [179]. Die Grundstruktur der Zellmembran ist durch das Flüssigmosaikmodell beschrieben, welches 1972 von S.J. Singer and G.L. Nicolson veröffentlicht wurde [180]. Die Membran wird hauptsächlich aus Lipiden¹⁵ gebildet, welche in wässriger Umgebung aufgrund der amphiphilen Eigenschaften spontan Doppelschichten ausbilden. Ein Querschnitt der aus einer Doppellipidschicht gebildeten Zellmembran ist in Abb. 4.17 gezeigt. Die drei hauptsächlich vorkommenden Lipide sind Phospholipide¹⁶, welche mengenmäßig am häufigsten sind, Cholesterole¹⁷ und Glykolipide [179]. Des Weiteren können Proteine¹⁸ in die Membran sowohl integriert als auch peripher angelagert sein [163]. Proteine machen dabei die Hälfte der Masse der Membran aus und übernehmen wichtige Funktionen u.a. bei der Zellerkennung, Enzymaktivität und beim Transport von Ionen, Molekülen und Signalen [25, 179]. Ein Transmembranprotein mit einem Kanal zum Transport von Ionen ist in Abb. 4.17 skizziert. Ferner sind Polysaccharide außen an der Zellmembran, beispielsweise an Lipidmolekülen und Proteinen, gebunden. Sie werden Glykolipide bzw. Glykoproteine genannt und

¹⁵Lipide sind heterogene Stoffe, die aus einem hydrophilen Kopf und zwei hydrophoben Kohlenwasserstoffschwänzen bestehen.

¹⁶Phospholipide sind eine Gruppe von polaren Lipiden, die eine Phosphatgruppe haben.

¹⁷Cholesterole, auch Cholesterin genannt, gehört zu der Gruppe der Sterole. Der Kopf besteht aus einem HO-Dipol und der Schwanz aus vier starren Kohlenstoffringen und einer kurzen verzweigten Kohlenwasserstoffkette.

¹⁸Proteine, umgangssprachlich als Eiweiße bekannt, sind aus bis zu mehreren tausend Aminosäuren aufgebaut, welche auf besondere Weise gefaltet sind [25].

dienen unter anderem der Zellidentifizierung und -kommunikation [25, 179].

Die Moleküle innerhalb der Membran weisen eine hohe Beweglichkeit auf, mit einer Nettogeschwindigkeit von ungefähr $2\ \mu\text{m/s}$, welche durch die Zusammensetzung der Lipide beeinflusst wird [25]. Interessant ist, dass Phospholipide sowohl gesättigte als auch ungesättigte Fettsäurereste haben können. Bei ungesättigten Fettsäuren sind im Gegensatz zu gesättigten Doppelbindungen vorhanden, was sich in einem Knick von etwa 30° äußert [25]. Neuere Ergebnisse zeigten, dass Nano- oder Mikrodomänen von gesättigten Lipiden mit einem hohen Anteil von Cholesterol vorhanden sind. Es wird angenommen, dass die starren Ringsysteme von Cholesterol die Struktur und dichte Anordnung der Lipide verändern und die Fluidität beeinflussen [25]. Diese Bereiche werden als Lipid Rafts (zu deutsch „Lipidflöße“) bezeichnet, da sie sich als eine Art Floß innerhalb der Membran bewegen [25, 181]. Die Schwierigkeit in der Definition und Beschreibung der Lipid Rafts besteht darin, dass die Nanodomänen in einer Größenordnung von 10 nm bis 200 nm liegen [181]. Hochaufgelöste Rasterkraftmikroskopie in physiologischer Umgebung könnte deshalb hier Aufschlüsse sowohl zur Existenz von Lipid Rafts bei lebenden Zellen als auch über deren Größe und Struktur liefern.

In der hier vorgestellten Studie soll die Machbarkeit von molekular aufgelöster Rasterkraftmikroskopie von Doppellipidschichten mit einem qPlus AFM gezeigt werden. Es wurden hierzu Phospholipide, extrahiert aus einem Eigelb, mit der für das qPlus AFM entwickelten Flüssigkeitszelle untersucht. Die Präparation orientiert sich an den Protokollen der Ref. [141, 143]. Zunächst wurden Liposome¹⁹ in einem Adsorptionspuffer präpariert. Hierzu wurden 25 mg/ml Lipide (L- α -Phosphatidylcholine aus einem Eigelb, Egg-PC #840051, Avanti Polar Lipids) mit einem Mini-Extruder²⁰ (Avanti Polar Lipids, Inc.) durch eine $0,1\ \mu\text{m}$ große Polycarbonat-Membran extrahiert. Die Adsorptionspufferlösung setzte sich aus 300 mM NaCl und 25 mM HEPES²¹ zusammen, bei einem pH-Wert von 7,4. Die Lipide können im Anschluss immobilisiert werden, indem das Lipidgemisch, mit einer finalen Konzentration von $25\ \mu\text{g/ml}$, auf einem Muskovit Substrat appliziert wird. Dies ist in Abb. 4.18a illustriert. Eine vergrößerte Darstellung zeigt den Querschnitt eines Liposoms. Die Inkubationszeit der Probe betrug eine halbe Stunde. Liposome können dabei zu größeren Vesikeln fusionieren, wobei dies durch Erhitzen der Lipidlösung auf 45°C bis 60°C initiiert werden kann [141, 182]. Die Vesikel adsorbieren schließlich auf Muskovit und bilden flache Doppellipidschichten aus [140, 142, 183–185]. Dies ist in Abb. 4.18b vereinfacht dargestellt. Der exakte Mechanismus der Ruptur der Liposome und die anschließende Ausbildung von Doppelschichten ist jedoch noch nicht vollständig bekannt [141]. Die Probe wird im Anschluss, analog zur bereits vorgestellten Präparation von DNA-Proben, fünfmal gewaschen. Zur Abbildung mit dem Rasterkraftmikroskop wird eine Pufferlösung mit einer, im Vergleich zur Adsorptionspufferlösung, geringeren

¹⁹Liposome sind zu Bläschen (Vesikel) geformte Doppellipidschichten.

²⁰Ein Mini-Extruder dient dazu, Vesikel, oder auch Liposome, zu extrahieren. Die Größe der Vesikel wird dabei durch die Polycarbonat-Membran bestimmt.

²¹HEPES 2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure ist eine häufig verwendete Puffersubstanz in der Molekularbiologie.

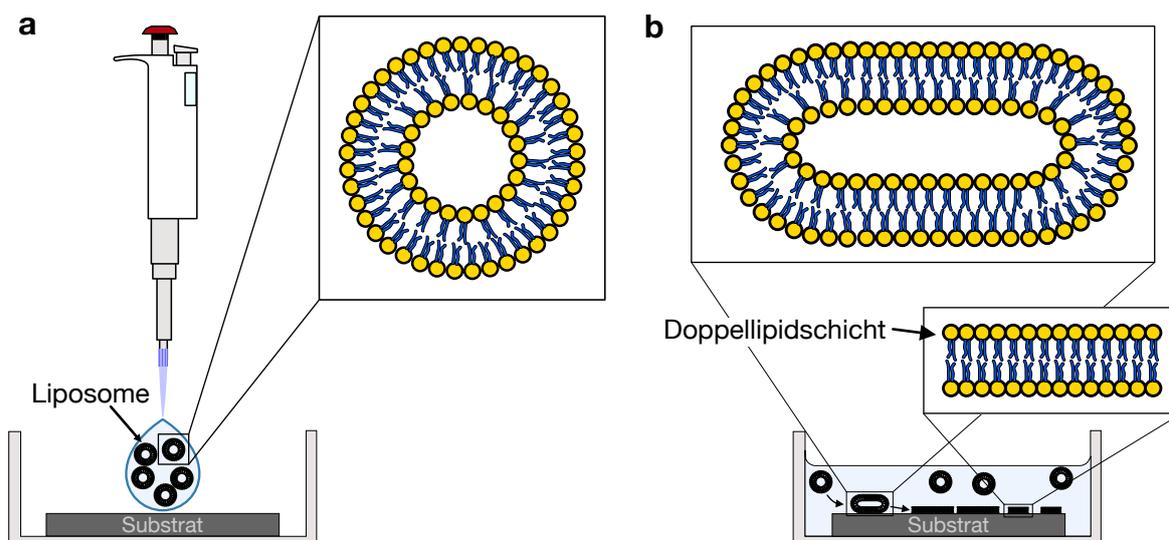


Abbildung 4.18.: Präparation von Doppellipidschichten auf einem Muskovit Substrat. (a) In einem Adsorptionspuffer gelöste Liposome werden auf Muskovit appliziert und für eine halbe Stunde inkubiert. Ein vergrößerter Ausschnitt zeigt den Querschnitt eines Liposoms. (b) Die Liposome adsorbieren auf dem Substrat und öffnen sich dabei. Es bilden sich dabei flache Doppellipidschichten. Vergrößerte Bildausschnitte zeigen detailliertere Querschnitte eines adsorbierenden Liposoms und einer Doppellipidschicht.

Natriumchloridkonzentration (150 mM NaCl) verwendet.

In Abb. 4.19 ist die Topographie einer Übersichtsaufnahme gezeigt. Interessant ist, dass im Gegensatz zu vorherigen Messungen mit Bacteriorhodopsin²² (siehe Fig. 1 in Ref. [124]) keine Inseln zu sehen sind, sondern eine vollständige Bedeckung des abgerasterten Bereichs herrscht. Zum Nachweis der Bedeckung wurde ein Loch in der Doppellipidschicht erzeugt. Hierzu wurde die Spitze zunächst 10 nm, ausgehend vom Sollwert $\Delta f = +20$ Hz, in die Probe hineingefahren und anschließend ein $100 \text{ nm} \times 100 \text{ nm}$ großer Bereich abgerastert. Der entstandene Defekt ist in Abb. 4.19 deutlich erkennbar. Hierzu ist wichtig zu wissen, dass auf Muskovit bisher keine derartigen Defekte durch das Hineinfahren der Spitze beobachtet werden konnten. Ein Höhenprofil, entlang der grün markierten Linie, ist rechts neben dem Bild dargestellt und zeigt, dass das Loch $\sim 6 \text{ nm}$ tief ist. Dies ist in Einklang mit der erwarteten Höhe einer Doppellipidschicht [186]. Des Weiteren ist sowohl im AFM-Bild als auch im Höhenprofil eine Stufe erkennbar, welche $\sim 1,5 \text{ nm}$ hoch ist. Eine Möglichkeit besteht darin, dass ganze Lipide, oder nur deren Kopfgruppen, durch das Kratzen mit der Spitze verkippt wurden. Eine erneut wichtige Erkenntnis ist, dass abseits des künstlich erzeugten Defekts die Abbildung mit steifen qPlus Sensoren keine Deformationen der Doppellipidschichten hervorgerufen hat. Die Messung in der Flüssigkeitswanne erlaubte hierbei eine Messzeit von $\sim 3 - 4$ Stunden bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50%. Innerhalb dieser Messzeit ist es gelungen, auch bedingt

²²Bacteriorhodopsin ist ein integrales Membranprotein und spielt eine Rolle bei der phototropen Energiegewinnung.

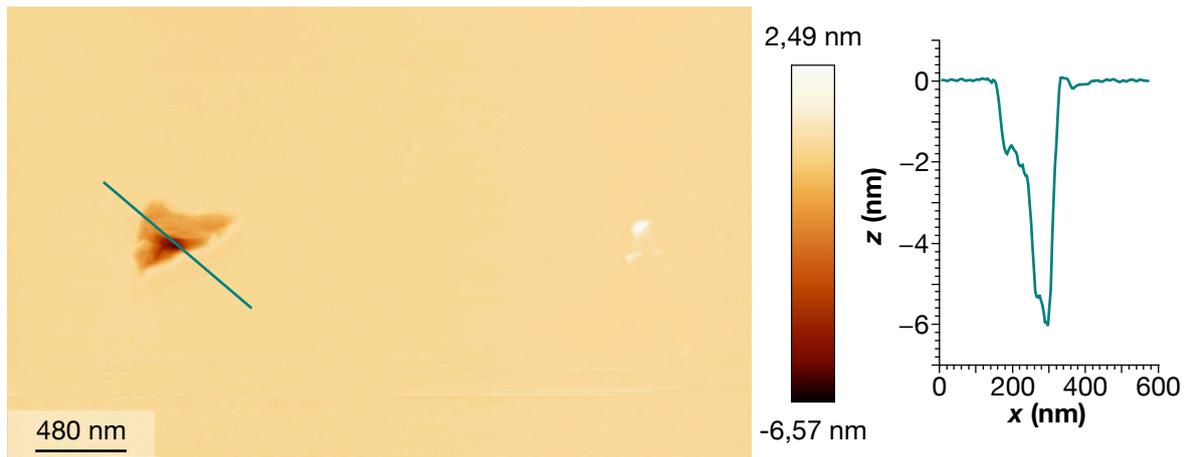


Abbildung 4.19.: Topographie einer Doppellipidschicht, welche auf Muskovit immobilisiert ist. Die AFM-Messung wurde in 250 μ l Pufferlösung, bestehend aus 150 mM NaCl und 25 mM HEPES (pH 7,4), durchgeführt. Das deutlich erkennbare Loch in der Membran wurde künstlich durch Kratzen mit der Spitze in der Probe erzeugt. Ein Höhenprofil entlang der grünen Linie ist rechts gezeigt. Abbildungsparameter: Saphirspitze, $f_0 = 15,8$ kHz, $Q = 162$, $k = 1,8$ kN/m, $\Delta f = +25$ Hz und $A = 200$ pm. Nach Ref. [124], Springer Nature, lizenziert unter CC BY 4.0.

durch das zuvor diskutierte geringe Rauschen, kleinere Bereiche mit molekularer Auflösung abzurastern. Die Ergebnisse sind in Abb. 4.20 gezeigt. Die Bilder (a) und (b) entsprechen dabei AFM-Aufnahmen von zwei aufeinanderfolgenden Präparationen. Beide Bilder sind in quasi-konstanter Höhe aufgezeichnet und offenbaren die Anordnung der Lipide innerhalb der Doppellipidschicht. Die hellen Punkte sind dabei den Kopfgruppen der Lipide zuzuordnen. Der Vergleich der beiden Bilder zeigt eine unterschiedliche Struktur. In Abb. 4.20a ist ein rechteckiges Gitter zu erkennen. Die Position einiger Lipide ist zur besseren Sichtbarkeit blau gekennzeichnet. Die Längen der in Abb. 4.20a eingezeichneten Vektoren sind dabei $|\vec{a}_1| = 0,34$ nm und $|\vec{a}_2| = 0,45$ nm. In Abb. 4.20b ist hingegen ein Parallelogramm ersichtlich. Erneut sind Positionen von Lipiden blau markiert. Der in Abb. 4.20b eingezeichnete Winkel beträgt dabei $\beta = 64^\circ$. Die Längen der Gittervektoren sind $|\vec{b}_1| = 0,26$ nm und $|\vec{b}_2| = 0,55$ nm. Die strukturellen Unterschiede der beiden Proben konnten auch durch Fourier-Transformationen der gemessenen Daten gezeigt werden. Diese sind in Abb. 4.20c und Abb. 4.20d zu sehen. Die Unterschiede sind zudem nochmals anhand von dreidimensionalen Modellen der beobachteten Strukturen der Doppellipidschichten dargestellt. Eine mögliche Erklärung der unterschiedlichen Gitter ist, dass in dieser Studie natürliche Lipide verwendet wurden. Die verwendeten Liposome aus einem Eigelb bestehen aus Lecithinen²³ und diese weisen unterschiedliche Fettsäurereste auf (siehe Diagramme in den Ref. [187, 188]). Aus den unterschiedlichen Gittern resultiert zudem eine abweichende Packungsdichte der Lipide. Für das rechtwinklige Gitter in Abb. 4.20a ist die Fläche pro Lipidkopf $0,15$ nm² und beim Parallelogramm-Gitter aus Abb. 4.20b ist sie $0,13$ nm². Diese Packungsdichten sind in Übereinstimmung mit bereits publizierten Werten (siehe Kapitel

²³Lecithine, oder auch Phosphatidylcholine (PC) gehören zur Gruppe der Phospholipide.

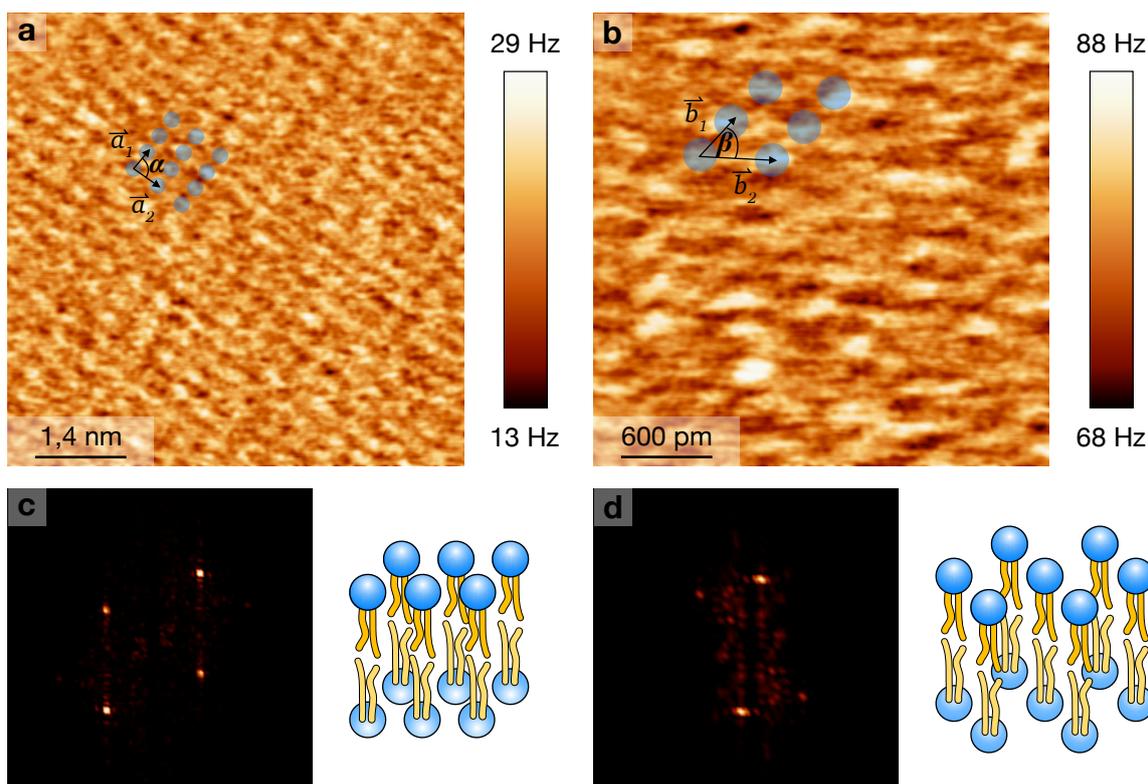


Abbildung 4.20.: Molekular aufgelöste FM-AFM-Aufnahmen einer Doppellipidschicht. Die AFM-Messungen wurden in 250 μl Pufferlösung, bestehend aus 150 mM NaCl und 25 mM HEPES (pH 7,4), durchgeführt. (a) FM-AFM-Aufnahme der ersten Probenpräparation. Einige Positionen von Lipiden sind exemplarisch blau markiert. Zwischen den Gittervektoren \vec{a}_1 und \vec{a}_2 ist ein rechter Winkel ($\alpha = 90^\circ$). Abbildungsparameter: Saphirspitze, quasi-konstante Höhe, $f_0 = 15,6\text{ kHz}$, $Q = 81$, $k = 1,8\text{ kN/m}$, $\Delta f = +20\text{ Hz}$ und $A = 100\text{ pm}$. (b) FM-AFM-Aufnahme einer weiteren Probenpräparation. Blaue Punkte markieren beispielhaft Positionen von Lipiden. Der Winkel zwischen den Gittervektoren \vec{b}_1 und \vec{b}_2 beträgt $\beta = 64^\circ$. Abbildungsparameter: Saphirspitze, quasi-konstante Höhe, $f_0 = 15,7\text{ kHz}$, $Q = 107$, $k = 1,8\text{ kN/m}$, $\Delta f = +76\text{ Hz}$ und $A = 106\text{ pm}$. (c) Fourier-Transformation der Messung aus (a). Rechts davon ist eine schematische Zeichnung der Struktur illustriert. (d) Fourier-Transformation der Messung aus (b). Rechts davon ist eine dreidimensionale Skizze der beobachteten Struktur zu sehen. Nach Ref. [124], Springer Nature, lizenziert unter CC BY 4.0.

10 in Ref. [189]). Jedoch sind die Werte signifikant kleiner als die mit Röntgenkristallographie bestimmten Werte [186, 190]. Ein Grund könnte sein, dass bei der Rasterkraftmikroskopie individuelle Domänen untersucht werden, wohingegen bei der Röntgenstrukturanalyse über ein Ensemble gemittelt wird.

Mechanische Eigenschaften von Zellmembranen oder Lipiden sind bisher nicht auf molekularer Ebene bekannt. Bisherige Studien haben entweder eine hohe Auflösung erzielt, um strukturelle Unterschiede bei der Zugabe von Cholesterol zu DPPC²⁴ zu beobachten [184], oder die

²⁴Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) ist ein Phospholipid (und ein Lecithin) und ist ein Hauptbestandteil des Surfactant (oberflächenaktive Substanz in der Lunge).

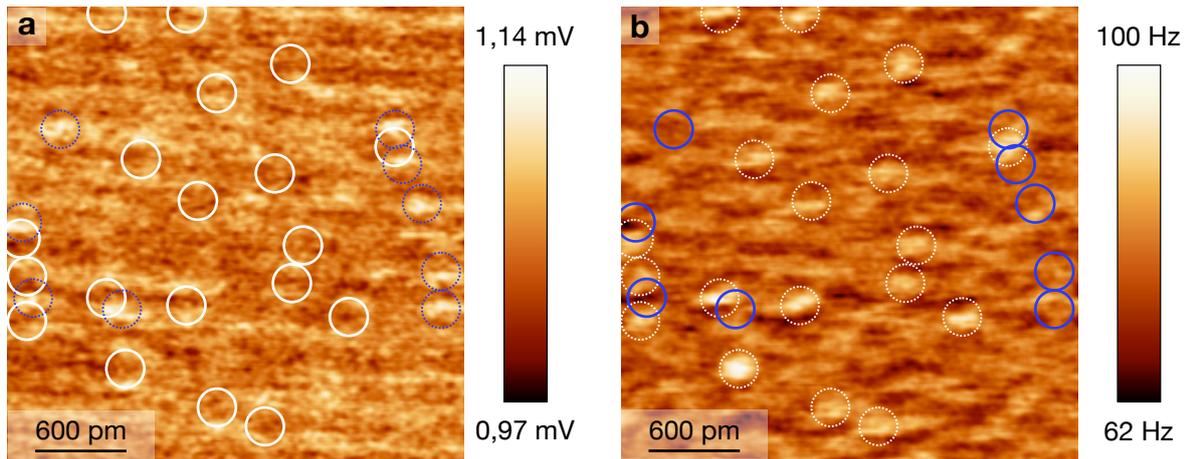


Abbildung 4.21.: Vergleich der lokalen Dämpfung der Sensorschwingung (a) mit der simultan aufgezeichneten Frequenzverschiebung (b) einer FM-AFM-Messung auf einer Doppellipidschicht. Abbildungsparameter: quasi-konstante Höhe, $f_0 = 15,7$ kHz, $Q = 107$, $k = 1,8$ kN/m, $\Delta f = +76$ Hz und $A = 106$ pm.

mechanischen Eigenschaften von DPPC bei Zugabe von Cholesterol untersucht, jedoch dann ohne molekulare Auflösung [191]. Hier kommt eine weitere Stärke von FM-AFM Studien mit qPlus Sensoren zum Tragen. Denn neben der Topographie oder Frequenzverschiebung kann auch die notwendige Anregungsstärke aufgezeichnet werden. Da bei den hier gezeigten FM-AFM-Messungen die Amplitude der Schwingung durch eine Regelschleife konstant gehalten wird, ist eine erhöhte Anregungsstärke mit einer Dissipation von Schwingungsenergie zu erklären. In Abb. 4.21a ist der Dissipations-Kanal einer Messung auf einer Doppellipidschicht gezeigt. Eine erhöhte lokale Dämpfung zeigt sich dabei durch eine höhere benötigte Spannung zum Treiben der Schwingung. Einige Bereiche mit einem signifikanten Kontrast sind dabei mit einem blauen gestrichelten Kreis gekennzeichnet. Neben diesem Bild ist in Abb. 4.21b die zugehörige Frequenzverschiebung zu sehen. Die AFM-Messung korrespondiert dabei mit der in Abb. 4.20b, wobei hier die Messung von rechts nach links ausgewertet ist. Sowohl in der Dissipation als auch in der Frequenzverschiebung sind einige kontraststarke Merkmale sichtbar. Im Kanal der Frequenzverschiebung in Abb. 4.21b werden die helleren Signale den Lipidköpfen zugeordnet. Einige Lipide, die einen starken Kontrast erzeugen, sind mit einem weißen gestrichelten Kreis markiert. In der simultan aufgezeichneten Dissipation in Abb. 4.21a sind einige Stellen mit erhöhtem Kontrast mit einem blauen Kreis gekennzeichnet. Zur Überprüfung sind die Kreise in gestrichelter Form in den jeweils anderen Kanal übertragen worden. Interessanterweise überlagern die Kreise nicht. Ein Einfluss von lokal geordneten Wasserschichten kann nicht ausgeschlossen werden. Jedoch ist aufgrund der verwendeten kleinen Amplitude $A = 106$ pm davon auszugehen, dass während des Oszillationszyklus die Spitze nicht mehrere Hydratlagen bricht und so nicht die Energiedissipation erklären kann. Geordnete Wasserschichten auf Doppellipidschichten können durch Δf -Abstandskurven detektiert werden [192]. Asakawa und Kollegen haben dies zudem anhand einer Matrix aus Δf -

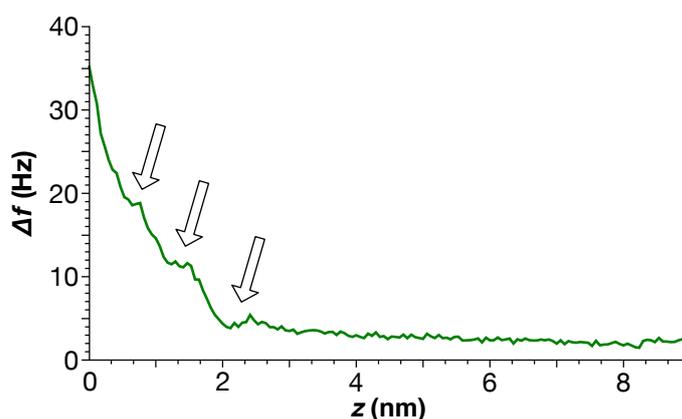


Abbildung 4.22.: Frequenzverschiebung Δf aufgetragen gegen den relativen Abstand z , wobei $z = 0$ als Annäherungspunkt an die Probe ($\Delta f = 35$ Hz) definiert ist. Pfeile deuten auf lokale Maxima in der Frequenzverschiebung hin. Nach Ref. [124], Springer Nature, lizenziert unter CC BY 4.0.

Abstandskurven auf DPPC gezeigt [185]. Deshalb wurden, neben den FM-AFM-Aufnahmen, in der hier vorliegenden Arbeit auch Δf -Abstandskurven aufgezeichnet. Ein solches Spektrum ist in Abb. 4.22 gezeigt. Auffällig sind drei merkbare Spitzen oder Stufen im Spektrum, welche ähnlich zu denen auf DPPC sind und mit der Existenz von geordneten Wasserschichten erklärt werden können. Mit qPlus Sensoren wurden äquivalente Spektren bereits auf Calcit beobachtet und ebenso als Hydratlagen identifiziert [13].

4.3. Diskussion, Zusammenfassung und Ausblick

Zu Beginn dieses Kapitels wurde die Rasterkraftmikroskopie in Flüssigkeiten thematisiert. Wässrige Umgebungen sind für viele Messungen von biologischen Proben elementar, denn diese sind in der Regel außerhalb ihrer physiologischen Umgebung nicht stabil. Die Grundlage der hier gezeigten experimentellen Ergebnisse war die Entwicklung einer Flüssigzeitszelle. Sie realisiert eine bessere Kontrolle der wässrigen Umgebung und eine längere Messzeit (>3 h). Bei Messungen in Flüssigkeiten sind qPlus Sensoren hierzu mit einer langen Saphirspitze versehen, um in leitfähigen Flüssigkeiten keinen Kurzschluss zwischen den Kontakten des qPlus Sensors zu erzeugen. Ein Eintauchen der Spitze in unterschiedliche Tiefen hat, anhand von Resonanzkurven, demonstriert, dass nicht nur hohe Güten Q (>150 , für den gezeigten Sensor), sondern auch eine monotone Phase stets erhalten bleiben. Dies ist insbesondere für den Modus der Frequenzmodulation wichtig, denn die signalgebende Frequenzverschiebung wird mittels eines Phasenregelkreises (siehe Kap. 2.2.1) bestimmt. Überdies haben die Messungen gezeigt, dass bei der mechanischen Anregung von qPlus Sensoren in wässriger Umgebung keine störenden Spitzen in der Resonanzkurve auftreten. Neben der höheren Steifigkeit der qPlus Sensoren mag ein weiterer Grund sein, dass im Gegensatz zur Rasterkraftmikroskopie mit Silizium-Sensoren nur die Spitze und nicht der komplette Sensor in die Flüssigkeit eingetaucht

ist.

Ferner konnte festgestellt werden, dass beim qPlus Sensor die Güte Q in Flüssigkeiten nicht ähnlich einbricht wie bei den deutlich weicheren Silizium-Sensoren. Dies äußert sich auch in einer Analyse des minimal detektierbaren Kraftgradienten $\delta\langle k_{ts} \rangle_{\min}$. Sie zeigte, dass Rasterkraftmikroskope basierend auf qPlus Sensoren ein ähnliches Rauschniveau erreichen können wie die typischerweise verwendeten AFMs mit Silizium-Sensoren. Ferner ermöglicht die hohe Steifigkeit des qPlus Sensors die Verwendung von kleinen Amplituden (< 100 pm), was zu einer höheren Sensitivität zu kurzreichweitigen Kräften führt [5]. Das ist besonders von Vorteil bei der Detektion von Strukturen mit Sub-Nanometer-Ausdehnung.

Das Auflösungsvermögen des Mikroskops wurde durch das Abbilden von Muskovit in einer Auswahl von Umgebungen demonstriert. Diese umfassen Messungen an Luft, in Wasser, in Tris-HCl Pufferlösung und in einem Zellkulturmedium HAM. In jeder dieser Messungen wurde atomare Auflösung erzielt und die Honigwabenstruktur von Muskovit aufgelöst. Eine Besonderheit stellte dabei das nicht-transparente Zellkulturmedium dar, das eine rosa Färbung aufwies. Hierbei ist die elektrische Detektion des qPlus Sensors entscheidend, denn eine optische Detektion der Auslenkung des Federbalkens mag hier hinderlich sein. Die Messung ist hier ein Ansatz, der zeigt, dass in Zukunft die Abbildung von Zellen, wie beispielsweise rote und weiße Blutkörperchen, in deren natürlicher Umgebung möglich sein kann.

Ein Teil des Kapitels beschäftigte sich mit einzelnen DNA-Strängen und gefalteten DNA-Origami, welche mit dem weiterentwickelten Rasterkraftmikroskop abgebildet wurden. Die Immobilisierung von einzelnen DNA-Strängen wurde mit Magnesiumchlorid durchgeführt. Eine FM-AFM-Aufnahme eines einzelnen Strangs offenbarte dabei einen Kontrast innerhalb der Topographie des abgebildeten Strangs. Eine Analyse der Merkmale hat gezeigt, dass diese einer linksgängigen Z-DNA entsprechen könnten. Trotz dieses Erfolgs konnte aufgrund der Reproduzierbarkeit der Präparation und Stabilität der DNA-Stränge keine molekulare Auflösung erzielt werden. Eine verbesserte Immobilisierung, wie sie kürzlich in einer Studie von Heenan und Perkins [139] beschrieben wurde, könnte hier Abhilfe schaffen. Bei dieser wurde zunächst Muskovit mit Nickelchlorid NiCl_2 (100 mM) präinkubiert und anschließend mit Filterpapier getrocknet und vorsichtig gewaschen, wobei die Probe während dem Prozedere stets feucht gehalten wurde. Als Adsorptionspuffer wurde schließlich eine Lösung aus Magnesiumchlorid MgCl_2 und Kaliumchlorid KCl verwendet. Die gezeigten Abbildungen in Ref. [139] demonstrieren nicht nur die Auflösung einer Helixstruktur, sondern auch einer Proteininteraktion mit der DNA und deuten so auf das hohe Potential dieses erweiterten Präparationsprotokolls hin.

Aufgrund der herausfordernden Präparation der DNA-Proben wurden im kommenden Schritt kommerzielle DNA-Origami untersucht. Diese Proben sind getrocknet und bereits auf einem Silizium-Substrat immobilisiert. Es stellte sich heraus, dass die DNA-Origami in hoher Dichte vorhanden sind. Die erwartete Struktur der DNA-Origami konnte zum Teil durch das Abbilden der Löcher in den Ecken der Dreiecke gezeigt werden. Ein Nachteil des Transports und der

4. Atomare und molekulare Auflösung in biologisch-relevanten Umgebungen

Lagerung an Luft ist jedoch die Oxidation des Silizium-Substrats und der Adsorption von unbekanntem Molekülen. Dies zeigte sich an den bis zu 20 nm hohen Partikeln und der starken Korruption des Silizium-Substrats. Die hohe Stabilität und Transportfähigkeit der Probe erlaubte einen Vergleich zwischen qPlus und Silizium-Sensoren im Rahmen einer Winter School an der JKU in Linz (im Labor von Prof. Dr. P. Hinterdorfer). Messungen mit Silizium-Sensoren wurden sowohl im Tapping- als auch im Kontakt-Modus durchgeführt. Die teilweise destruktive Abbildung der sensiblen Proben, vor allem im Tapping-Modus, zeigte, dass geringe Kräfte zwischen Spitze und Probe kontrolliert werden müssen. Dies war bereits ein Anzeichen, dass trotz der hohen Steifigkeit mit dem qPlus AFM geringe Spitzen-Proben-Kräfte kontrolliert aufgezeichnet werden können. Aufgrund der an Luft vorhandenen Hydratlagen und Adsorbate wäre eine quantitative Angabe der Kräfte jedoch stark fehlerbehaftet. Aufschlüsse, ab wann mit einem qPlus Sensor destruktive Abbildung erfolgt, konnten durch eine sukzessive Erhöhung der Frequenzverschiebung Δf gewonnen werden. Es zeigte sich, dass die Frequenzverschiebung auf $\Delta f = 1,5 \text{ kHz}$ erhöht werden muss, um mit dem verwendeten qPlus Sensor (Steifigkeit $k = 1,8 \text{ kN/m}$) die DNA-Origami irreversibel zu zerstören. Diese Werte sind fernab der typischerweise verwendeten Frequenzverschiebung im Bereich von 10 Hz bis 30 Hz (bei einer Übersichtsaufnahme).

Abschließend wurde eine Untersuchung von Doppellipidschichten in physiologischer Umgebung gezeigt. Hierzu wurden aus einem Eigelb stammende Liposome auf Muskovit appliziert. Diese bilden dabei flache Doppellipidschichten aus. Auf den gezeigten FM-AFM-Aufnahmen ist eine vollständige Bedeckung des Substrats zu sehen. Ein durch Kratzen mit der Spitze erzeugtes Loch in der Membran hat die Dicke dieser reproduzieren können. Die Messung fand in der neu entwickelten Flüssigkeitszelle statt, was eine längere Messzeit, verglichen zur Messung in einem schnell verdunstenden Tropfen, erlaubte. Mit der gewonnenen Zeit konnte ein Bereich auf der Doppellipidschicht höher aufgelöst abgerastert werden. Das Ergebnis zeigte, dass einzelne Lipide in der Membran, beziehungsweise deren Kopfgruppen, aufgelöst werden können. Eine Analyse von gemessenen Strukturen offenbarte Interessantes, denn es wurden unterschiedliche Gitter festgestellt. Als mögliche Erklärung wurde angeführt, dass Lecithinen aus einem Eigelb verwendet wurden, da diese unterschiedliche Fettsäurereste aufweisen. Ferner konnte im Rahmen dieser Studie erstmals ein Kontrast auf molekularer Ebene in der Dissipation festgestellt werden. Im Rahmen dieser Arbeit konnte aber kein abschließendes Urteil über die Ursache der Merkmale in der Dämpfung angeführt werden. Jedoch ist das Ergebnis interessant, da mit FM-AFM mittels qPlus Sensoren zukünftig die Untersuchung von lokalen Unterschieden in der Steifigkeit von Membranen auf molekularer Ebene möglich sein könnte.

In Summe konnte gezeigt werden, dass nicht nur die Abbildung von biologischen Proben mit molekularer Auflösung mit steifen Sensoren möglich ist, sondern diese auch Vorteile gegenüber Silizium-Sensoren haben können. Als Argument lässt sich zum einen die Abbildung in nicht-transparenten Lösungen anführen und zum anderen die Möglichkeit der Verwendung

von kleinen Amplituden, um ein höheres Signal-zu-Rausch-Verhältnis zu erreichen. Eine Synergie der Erfahrungen mit qPlus Sensoren bei Ultrahochvakuum (UHV) und bei tiefen Temperaturen mit der seit mehreren Jahrzehnten andauernden Erforschung biologischer Proben mit Silizium-Sensoren könnte zukünftig helfen, dass man dem Traum der atomaren Auflösung von biologischen Proben in physiologischer Umgebung näher kommt.

5. Übergangsmetall-Dichalkogenide und deren Reaktivität an Luft

Ein Großteil der im Folgenden präsentierten Arbeit wurde bereits in ACS Applied Nano Materials veröffentlicht. Folglich sind einige Textausschnitte, Bilder und Schlussfolgerungen identisch [193].

Übergangsmetall-Dichalkogenide (engl.: transition metal dichalcogenides, TMDCs) gehören zur Gruppe der zweidimensionalen (2D) Materialien. Sie weisen u.a. eine hohe Ladungsträgermobilität und eine Bandlücke auf, wobei letztere abhängig von der Anzahl an Monolagen ist [27]. Die allgemeine Formel für Übergangsmetall-Dichalkogenide ist MX_2 . Dabei befinden sich die Übergangsmetallatome M zwischen zwei Atomlagen aus Chalkogeniden X. Die einzelnen Monolagen sind durch Van-der-Waals-Kräfte gebunden (siehe Abb. 5.1a). Diese schwachen Van-der-Waals Interlagenkräfte, verglichen mit den Intralagenkräften, erlauben ein nahezu defektfreies mechanisches Exfolieren von Monolagen [29]. Zum Exfolieren kann ein Klebestreifen verwendet werden, wie auch in dieser Arbeit geschehen. Er wird auf die Probe geklebt und anschließend in einer fließend Bewegung abgezogen. Eine Fotografie davon ist in Abb. 5.1b gezeigt. Dieses Prozedere wird wiederholt bis eine homogene und unter dem optischen Lichtmikroskop defektfreie Oberfläche vorhanden ist. Die Monolagen zweidimensionaler Materialien können u.a. für Monolagen-Transistoren, Biosensoren und nicht zuletzt für Heterostrukturen verwendet werden [30, 31, 194–196]. Typischerweise werden hierzu, wie oben beschrieben, die Kristalle bei Umgebungsbedingungen mechanisch exfoliert. Dadurch geschieht eine Exposition der Kristalloberfläche mit Luftmolekülen. Es wird erwartet, dass es abhängig von der Oberflächenreaktivität und Hydrophilizität zur Adsorption von diesen auf der neu präparierten TMDC Oberfläche kommt. Dies kann letztlich Einflüsse auf Eigenschaften wie z.B. effektive Monolagenhöhe, Ladungsträgerdichte oder Photolumineszenz haben [33, 197, 198]. Aus diesen Gründen ist eine umfassende Studie des Verhaltens von verschiedenen TMDC Materialien an Luft unabdingbar. In der Literatur finden sich bereits Studien, die etwaige Adsorbate auf 2D Materialien beschreiben. Sie lassen aber u.a. Fragen zur Oberflächenbedeckung, Höhe und zeitlichen Veränderung der Adsorbate offen. Deshalb hatte die hier durchgeführte AFM Studie das Ziel, neue Erkenntnisse im Bezug auf die Sensitivität von TMDCs gegenüber Molekülen oder Aerosolen aus der Luft zu gewinnen. Im folgenden Abschnitt wird sie zunächst in den Kontext der Literatur gebracht.

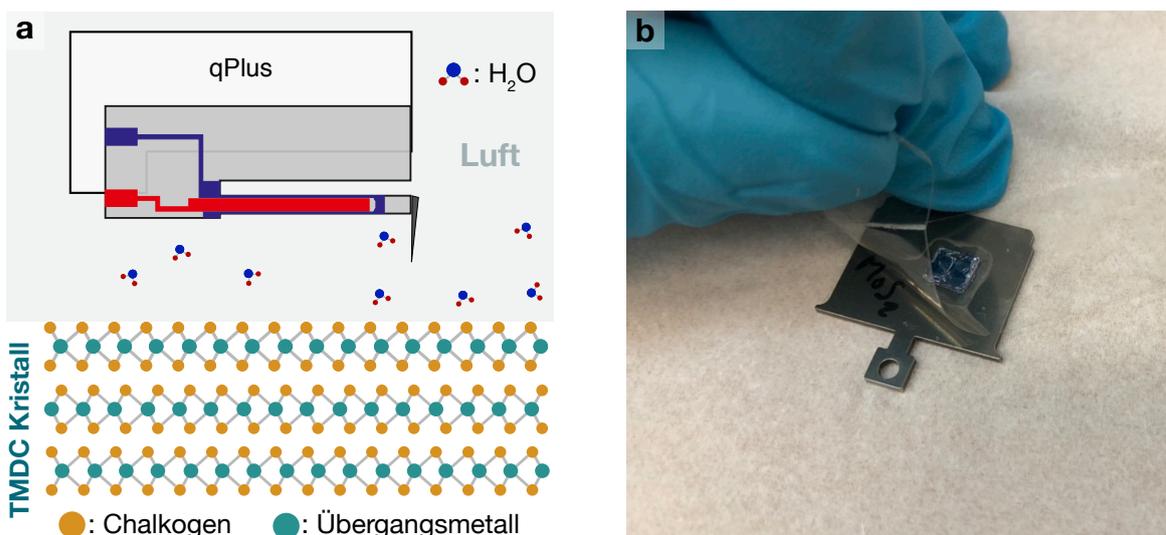


Abbildung 5.1.: Skizzenhafte Darstellung der AFM Studie auf mechanisch exfolierten TMDC Kristallen. (a) Schematische Zeichnung einer repräsentativen TMDC Kristallstruktur, deren Oberfläche der Luft ausgesetzt ist und mit einem qPlus AFM vermessen wird. (b) Fotografie des Exfoliationsprozesses von MoS₂, das auf einem Probenhalter geklebt ist, mit Hilfe eines Tesafilms[®]. Angepasst mit Erlaubnis von Pürckhauer *et al.*, ACS Appl. Nano Mater. **2**, 2593-2598 (2019). Urheberrecht 2019 American Chemical Society.

5.1. Stabilität von TMDCs bei Luftexposition

Grundlegend ist bekannt, dass sich auf Proben, die Luft ausgesetzt sind, Hydratlagen ausbilden. Deren Dicke ist abhängig von der Hydrophilizität der Probe und die ersten Wasserschichten nehmen in der Regel eine geordnete Struktur an [13, 53, 105]. Neben der zu erwartenden Benetzung mit Wasser finden sich in der Literatur auch Studien über die Adsorption von Kohlenwasserstoffen auf 2D Materialien, die zunächst auf Graphen und Graphen-Heterostrukturen nachgewiesen wurden [196, 199].

Kozbial *et al.* führten Messungen des Wasser-Kontaktwinkels¹ (WCA, engl.: water contact angle) auf MoS₂, Graphit und Graphen durch und stellten fest, dass sich in der Luft befindliche Kohlenwasserstoffe auf den Proben ablagern, da dadurch die Oberflächenenergie reduziert wird [200, 201]. Die Adsorption der Kohlenwasserstoffe führte dazu, dass die Oberfläche sich von einer ursprünglich hydrophilen zu einer hydrophoben entwickelte. In den ersten 24 Stunden konnte ein rascher Anstieg des WCA von 69,0° zu 89,0° beobachtet werden. Anschließend stieg der WCA nur noch langsam weiter an und lag nach 7 Tagen bei 90,8°. Die Kohlenwasserstoffadsorption konnte durch zusätzliche Messung des Diiodmethan-Kontaktwinkels¹ (DCA, engl.: diiodomethane contact angle), mit Hilfe der ATR-Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie (ATR-FTIR, engl.: attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy) und der Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS) nachgewiesen werden. Eine Änderung des

¹Der Kontaktwinkel oder auch Benetzungswinkel bezeichnet den Winkel zwischen einer Oberfläche und einem Flüssigkeitstropfen. Je größer die Wechselwirkung zwischen beiden ist, desto geringer ist der Winkel.

DCA ist hierbei gleichbedeutend mit einer Änderung der chemischen Zusammensetzung der Kohlenwasserstoffe [200]. Im Rahmen der Studie von Kozbial *et al.* (Ref. [200]) änderte sich der DCA von ursprünglich $15,2^\circ$ zu $27,1^\circ$ nach einer Stunde und zu $44,0^\circ$ nach 7 Tagen. Es wurde gefolgert, dass es zu einer Umstrukturierung der Kohlenwasserstoffe auf der Probe kommt. Mit Ellipsometrie wurde eine Höhe der Adsorbatschicht von $0,55$ nm (nach einem Tag) gemessen.

Ferner wurde von Li *et al.* gezeigt, dass geordnete (und weniger geordnete) Wasserschichten eine Graphitoberfläche vor einer Kontamination mit Kohlenwasserstoffen schützen können [202]. Eine Physisorption von geordneten und ungeordneten Wasserschichten auf den Graphit-Proben wurde durch Ellipsometrie und ATR-FTIR nachgewiesen. Insbesondere bei der Probenlagerung bei Temperaturen zwischen -15° und -20° wurde gezeigt, dass die Wasseradsorption verstärkt ist und diese Wasserbedeckung zu einer deutlich verminderten Adsorption von Kohlenwasserstoffen führt.

In einer Studie von Gao *et al.* wurden MoS_2 und WS_2 Monolagen untersucht, die mit chemischer Gasphasenabscheidung (CVD, engl.: chemical vapor deposition) hergestellt wurden [203]. Sukzessive Oxidation, gemeinsam mit organischen Verunreinigungen, konnte anhand von XPS Messungen nachgewiesen werden. Elektronenmikroskopieaufnahmen zeigten einen deutlichen Zerfall der Monolagen bei Anwesenheit von Sauerstoff (O_2) und Wasser (H_2O) über einen Zeitraum von einem Jahr.

Es stellt sich die Frage, ob sich alle TMDCs in ähnlicher Weise gegenüber der Exposition mit Luftmolekülen verhalten. In einer Arbeit von Rooney *et al.* wurden beispielsweise Schichten von Molybdändisulfid (MoS_2), Molybdändiselenid (MoSe_2), Wolframdisulfid (WS_2) und Wolframdiselenid (WSe_2) untersucht [204]. Die vier TMDC Materialien wurden jeweils zwischen hexagonalem Bornitrid (h-BN) gepackt und die gemessenen Schichtabstände wurden mit Berechnungen mit Dichtefunktionaltheorie (DFT) verglichen. Die Messungen zeigten, dass bei den Seleniden MoSe_2 und WSe_2 die Schichtabstände größer waren als mit DFT berechnet. Diese Diskrepanz zwischen Berechnung und Experiment wurde auf chemisch adsorbierte Moleküle zurückgeführt. Ferner wurde in Ref. [204] gezeigt, dass durch das Exfolieren von WSe_2 in einer inerten Gasatmosphäre die Schichtabstände deutlich schmaler waren und somit besser mit den theoretisch bestimmten Werten übereinstimmten.

Des Weiteren wurde von Longo *et al.* untersucht, inwiefern sich die Reaktivität von MoS_2 , MoSe_2 , WS_2 und WSe_2 mit O_2 unterscheidet [205]. Es wurden DFT-Berechnungen durchgeführt und XPS Messungen zum experimentellen Nachweis verwendet. Sie stellten fest, dass an Luft die Oxidation direkt von der dissoziativen Adsorptionsbarriere von O_2 abhängt. Die Wahrscheinlichkeit der Oxidation von Seleniden war höher als die der Sulfide, wobei die Energiebarriere für defektfreie TMDCs sehr hoch ist und deshalb eine Oxidation dieser als unwahrscheinlich gilt. Es ist jedoch davon auszugehen, dass Defekte, Korngrenzen und Stufen die Reaktivität mit O_2 stark erhöhen können. Diese Ergebnisse bestätigen die Publikation von Jaegermann *et al.* von 1985, denn dabei wurde eine starke Erhöhung von Sauerstoff mit

XPS für stark verunreinigte Proben gemessen [206]. In dieser Publikation wurde ebenso eine höhere Reaktivität von Seleniden im Vergleich zu den Sulfiden festgestellt, welche der höheren Ionizität und der Hybridisierungsstärke zwischen Metall- und Chalkogenatomen zugeschrieben wurde.

Wir fassen zusammen, dass mehrere Autoren Kontaminationen auf TMDCs nach Luftexposition festgestellt haben. Es blieben aber bisher Fragen zur Bedeckung, Höhe, lokalen Verteilung und zeitlichen Veränderung offen. In der hier durchgeführten Arbeit sollen diese Punkte mit Hilfe von AFM-Aufnahmen an Luft und im Vakuum adressiert werden. Ein Vorteil der Rasterkraftmikroskopie ist, dass die TMDC Proben direkt an Luft untersucht werden können, ohne dass Veränderungen an den Proben vorgenommen werden müssen. Der Versuchsaufbau ist in Abb. 5.1a skizziert. Außerdem wurde in den vorherigen Kapiteln bereits deutlich, dass FM-AFM im Nicht-Kontakt-Modus auch sensitive Proben, und so möglicherweise auch Adsorbate, zerstörungsfrei abbilden kann.

Mit dem AFM wurden sowohl MoS_2 , MoSe_2 , WS_2 als auch WSe_2 untersucht und die gewonnenen Ergebnisse werden in den folgenden Abschnitten erläutert und diskutiert. Wie bereits eingangs erwähnt, wurden die jeweiligen Proben auf einen Probenhalter aufgeklebt und vor der Messung mit einem Tesafilm[®] ² an Luft (relative Luftfeuchtigkeit lag zwischen 30 % und 50 %) exfoliert. Eine Fotografie der Exfoliation von MoS_2 ist in Abb. 5.1b gezeigt. Die Messungen wurden, falls nicht anders angegeben, an Luft mit einem qPlus Sensor mit einer Saphirspitze (siehe Kap. 3.1.3) durchgeführt.

5.2. Abbildung von MoS_2 und MoSe_2

Abbildung von MoS_2 an Luft

In diesem Abschnitt werden die FM-AFM-Messungen auf MoS_2 ³ vorgestellt. In Abb. 5.2a ist eine großflächige Übersichtsaufnahme gezeigt. Die Topographie offenbart eine saubere Oberfläche, wobei eine zweite MoS_2 Lage im unteren Scanbereich sichtbar ist. Die atomare Struktur der Probe konnte ebenso abgebildet werden (siehe Abb. 5.2b). Bei der Messung wurde die Spitze in konstanter Höhe über die Probe gerastert. Deshalb zeigt die Messung einen Kontrast in der Frequenzverschiebung. Die Schwefelatome befinden sich dabei in geringerem Abstand zur Spitze und wirkten deshalb repulsiver. Sie entsprechen folglich in der Abb. 5.2b den hellen Punkten. Die Gitterkonstante der hexagonalen Kristallstruktur beträgt 0,32 nm und ist in Einklang mit den Literaturwerten [207–209]. Langzeitmessungen (> 1 Woche) zeigten keine Änderungen der Oberflächensauberkeit.

²Tesa SE, 22848 Norderstedt, Deutschland.

³Synthetischer Kristall, 2D Semiconductors, Scottsdale, AZ 85251, USA.

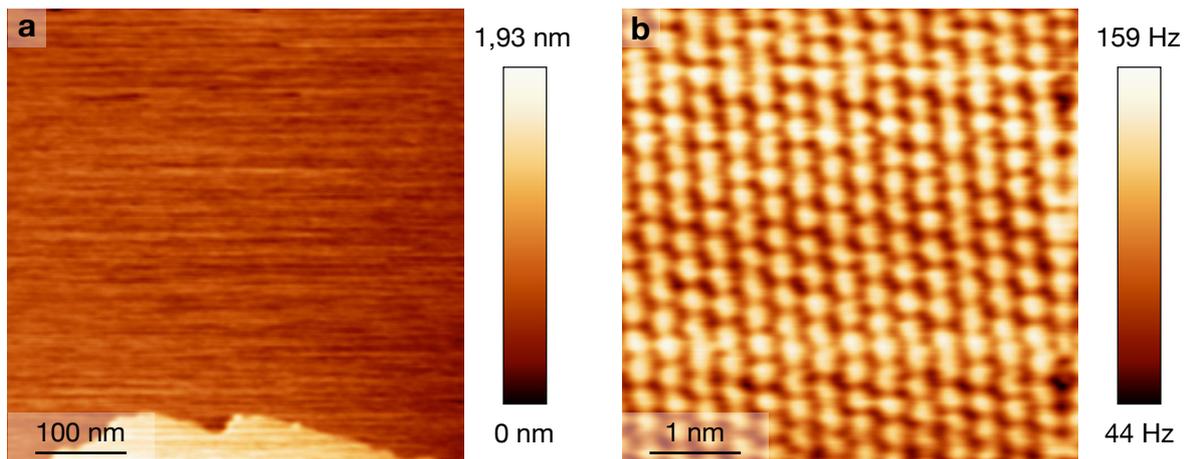


Abbildung 5.2.: FM-AFM-Aufnahmen von MoS₂ an Luft. Sensoreigenschaften: $f_0 = 23,5$ kHz, $k = 1,8$ kN/m. (a) Übersichtsaufnahme von MoS₂. Abbildungsparameter: $\Delta f = 54$ Hz, $A = 70$ pm. (b) Atomare Auflösung von MoS₂. Abbildungsparameter: Konstante Höhe, $A = 45$ pm. Angepasst mit Erlaubnis von Pürckhauer *et al.*, ACS Appl. Nano Mater. **2**, 2593-2598 (2019). Urheberrecht 2019 American Chemical Society.

Abbildung von MoSe₂ an Luft

Im nächsten Schritt wurde MoSe₂⁴ exfoliiert und abgebildet. Im Gegensatz zu MoS₂ zeigt die Übersichtsmessung eine stark verunreinigte Probenoberfläche (siehe Abb. 5.3a). Die in Abb. 5.3b zu sehende atomare Auflösung, aufgenommen zwischen den Adsorbaten, zeigt die erwartete Kristallstruktur von MoSe₂. Das abgebildete hexagonale Gitter weist eine Gitterkonstante von 0,34 nm auf, welche in Einklang mit den Werten in der Literatur ist [207].

Überdies wurde auf der MoSe₂ Oberfläche ein 500 nm × 500 nm großer Bereich über 45 Stunden kontinuierlich abgebildet, um die zeitliche Entwicklung der Verunreinigungen zu untersuchen (siehe Abb. 5.3c). Die akquirierten Daten zeigen deutlich, dass die adsorbierten Strukturen auf der Probe beweglich sind und sich zudem der Bedeckungsgrad im Laufe der Zeit verringert. Eine Verursachung durch eine zu starke Wechselwirkung zwischen Spitze und Probe kann u.a. dadurch entkräftet werden, dass der Vergleich der Vorwärts- und Rückwärts-Richtung keine signifikanten Unterschiede aufweist (siehe Anhang A.2.1). Ferner ist die thermische Drift bei Langzeitmessungen nicht vollständig zu vermeiden. Um die langsame thermische Verschiebung von der schnelleren Formänderung der Adsorbate unterscheiden zu können, wurde eine Struktur durch einen weißen Rahmen in Abb. 5.3c kenntlich gemacht und ebenso in den sich zeitlich anschließenden Aufnahmen markiert. Durch die Markierungen in der Bildserie ist die Entwicklung einer einzelnen Struktur leichter ersichtlich. Außerdem lässt sich hieraus ein weiteres Argument ableiten, mit dem die Hypothese einer Spitzen-induzierten Änderung der Partikel entkräftet werden kann. Durch die Drift wird, relativ gesehen, die Probe

⁴HQ Graphene, 9728 TB Groningen, Niederlande.

5. Übergangsmetall-Dichalkogenide und deren Reaktivität an Luft

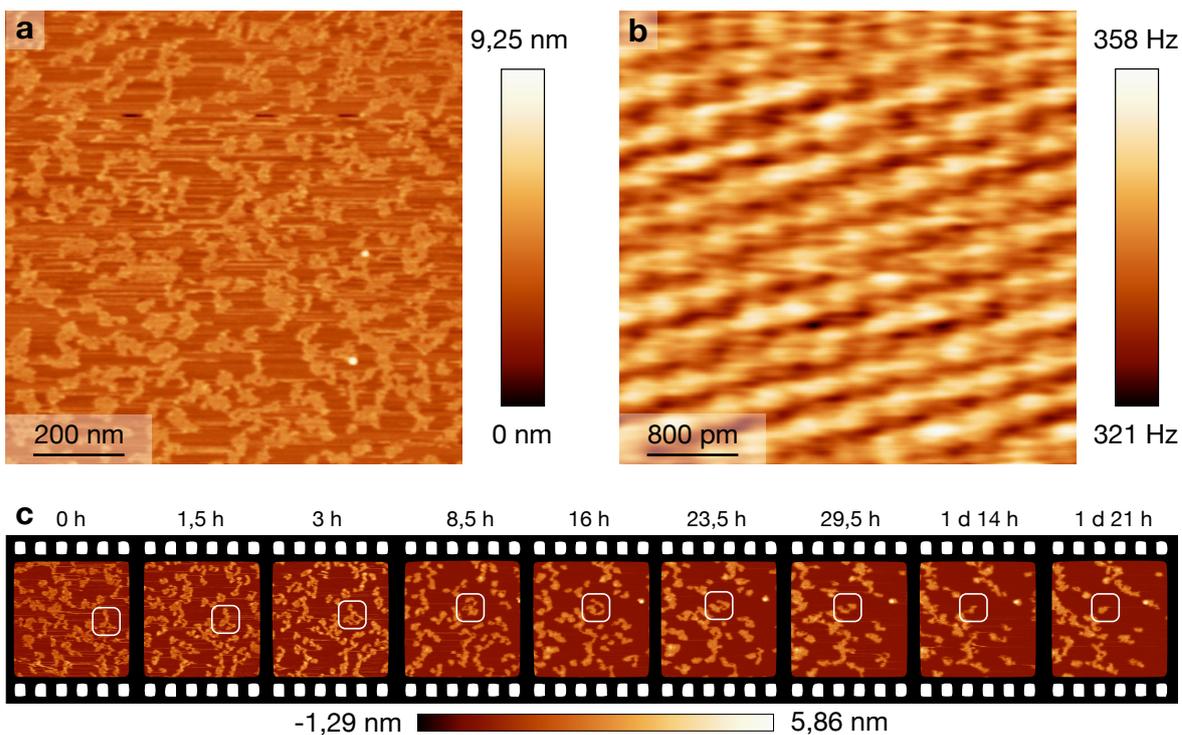


Abbildung 5.3.: FM-AFM-Aufnahmen von MoSe₂ an Luft. Sensoreigenschaften: $f_0 = 46,8$ kHz, $k = 3,5$ kN/m. (a) Übersichtsaufnahme von MoSe₂. Abbildungsparameter: $\Delta f = 10$ Hz, $A = 500$ pm. (b) Atomare Auflösung von MoSe₂. Abbildungsparameter: Konstante Höhe, $A = 65$ pm. (c) Zeitliche Entwicklung der MoSe₂ Oberfläche (500 nm \times 500 nm) über einen Zeitraum von 45 Stunden. Zur Kenntlichmachung der thermischen Drift der MoSe₂ Probe stellen die weiß markierten Bereiche jeweils den identischen Bereich im jeweiligen Bild dar. Angepasst mit Erlaubnis von Pürckhauer *et al.*, ACS Appl. Nano Mater. **2**, 2593-2598 (2019). Urheberrecht 2019 American Chemical Society.

verschoben und so werden neue Bereiche abgerastert, welche offensichtlich eine äquivalente Bedeckung zu den bereits über einen längeren Zeitraum abgerasterten Bereichen haben.

Überdies wurde zur quantitativen Analyse die Höhenverteilung ausgewertet. Jedes Bild entspricht einer 512×512 Pixelmatrix und der Wert jedes Matrixelements ist der entsprechende z -Wert. Die Abb. 5.4 zeigt Histogramme für die zuvor gezeigten neun Bilder der Langzeitmessung (siehe Abb. 5.3c), welche die Verteilung der Höhenwerte in Abhängigkeit von z darstellen. Bei allen Histogrammen sind zwei Maxima ersichtlich. Das Hauptmaximum (bei $z = 0$) repräsentiert die Pixel, welche die unbedeckte MoSe₂ Oberfläche darstellen. Das zweite, kleinere lokale Maximum ist einer Anhäufung von Adsorbaten zuzuordnen. Um den Bedeckungsgrad der Oberfläche mit Partikeln zu bestimmen, wurde das Hauptmaximum mit einer Gauß-Verteilung folgender Form genähert:

$$g(x) = A \cdot e^{-\left(\frac{x-x_c}{w}\right)^2}. \quad (5.1)$$

Die Parameter A , w und x_c sind in Tab. 5.1 zu finden. Durch Integration über die Gaußkurve

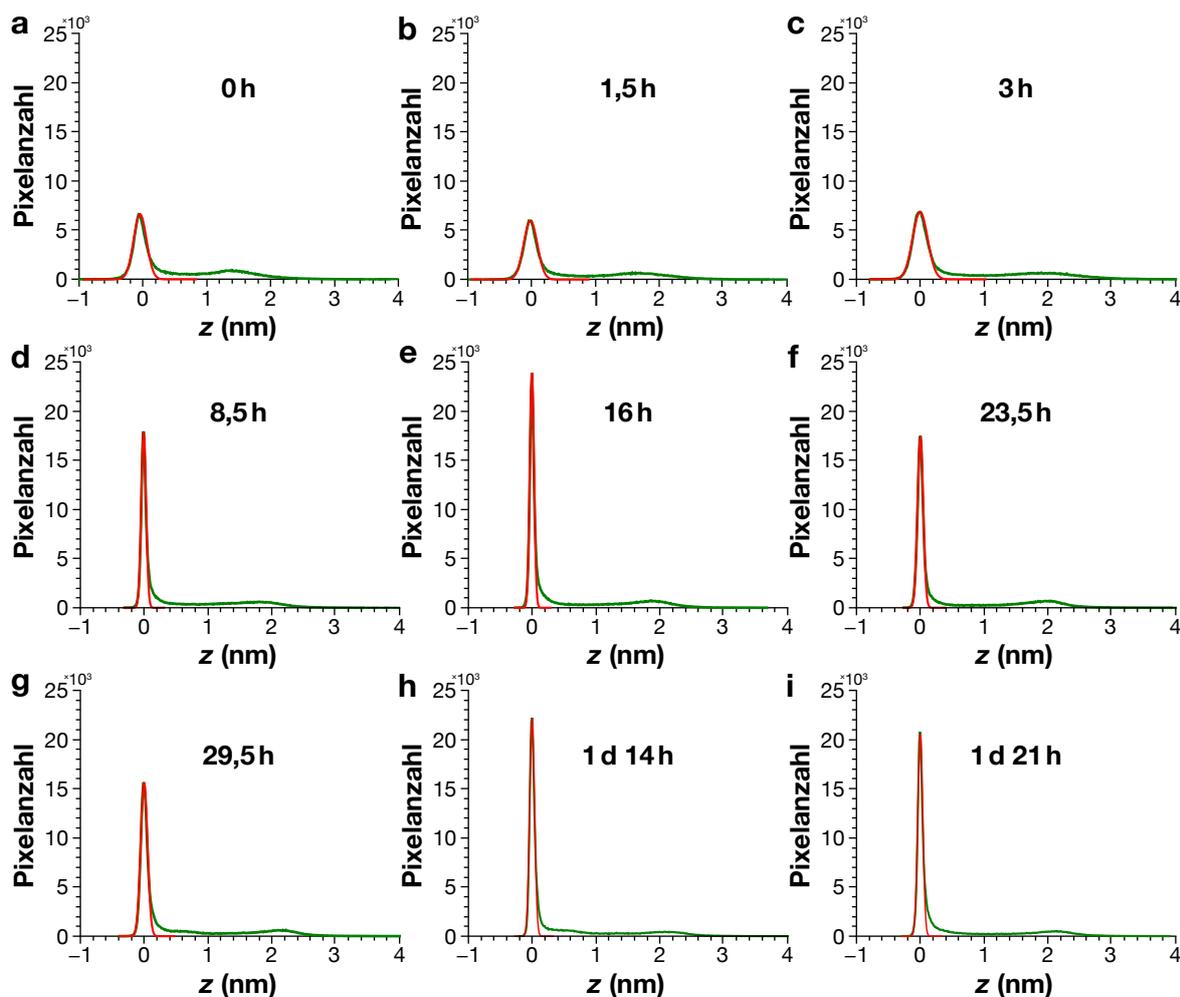


Abbildung 5.4.: Verteilung der Höhenwerte in Abhängigkeit vom z -Wert. Die Histogramme (a)-(i) beziehen sich dabei auf die jeweiligen Messungen aus Abb. 5.3c. (a) 0 h. (b) 1,5 h. (c) 3 h. (d) 8,5 h. (e) 16 h. (f) 23,5 h. (g) 29,5 h. (h) 1 d 14 h. (i) 1 d 21 h. Angepasst mit Erlaubnis von Pürckhauer *et al.*, ACS Appl. Nano Mater. **2**, 2593-2598 (2019). Urheberrecht 2019 American Chemical Society.

	0 h	1,5 h	3 h	8,5 h	16 h	23,5 h	29,5 h	1 d 14 h	1 d 21 h
A	6646	5982	6844	17966	23882	17450	15598	22209	20768
w	0,1465	0,1506	0,1675	0,0530	0,0467	0,0622	0,0753	0,0538	0,0549
x_c	-0,0227	-0,0071	-0,0035	-0,0088	-0,0052	0,0009	-0,0019	-0,0025	-0,0009
B	80 %	67 %	60 %	70 %	63 %	54 %	55 %	52 %	52 %

Tabelle 5.1.: Tabellarische Auflistung der angenäherten Parameter der Gaußkurve gegenüber der zeitlichen Entwicklung. Diese Gaußkurven definieren die zur nicht-kontaminierten Oberfläche gehörenden Pixel. Daraus kann der Bedeckungsgrad B berechnet werden, welcher ebenso angegeben ist.

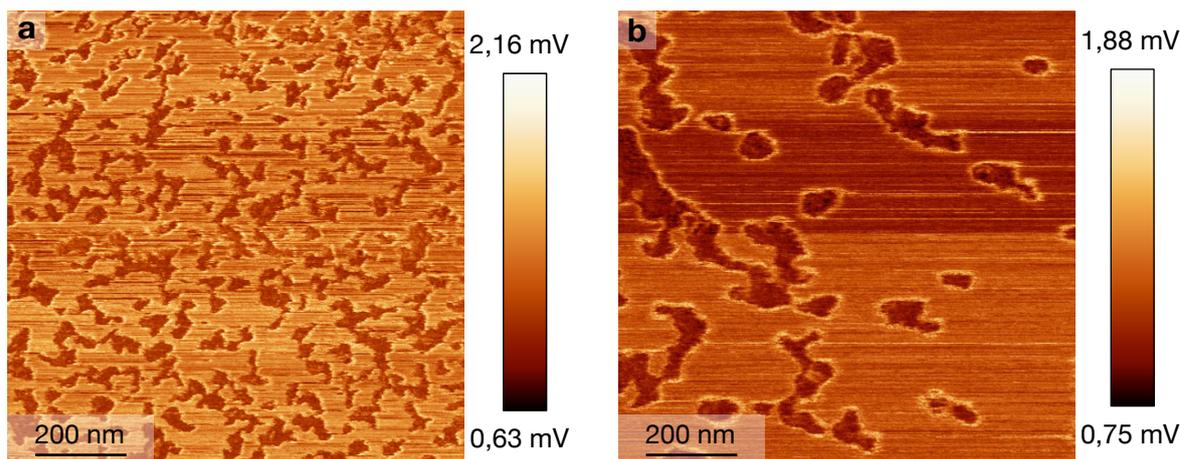


Abbildung 5.5.: Darstellung der Anregungsstärke, die nötig war, um die Schwingungsamplitude über der MoSe₂ Oberfläche konstant bei 500 pm zu halten. (a) Simultan zur Topographie von Abb. 5.3a aufgezeichnet. (b) Simultan zur Topographie vom letzten Bild aus Abb. 5.3c aufgezeichnet, das 1 d 21 h später aufgenommen wurde. Angepasst mit Erlaubnis von Pürckhauer *et al.*, ACS Appl. Nano Mater. **2**, 2593-2598 (2019). Urheberrecht 2019 American Chemical Society.

und anschließender Subtraktion dieser von der gesamten Fläche ergibt sich die Fläche von MoSe₂, die mit Adsorbaten bedeckt ist. Die prozentuale Bedeckung mit Verunreinigungen B ist das Verhältnis aus bedeckter Fläche und Gesamtfläche und ist in Tab. 5.1 angegeben. Aus der Tabelle wird ersichtlich, dass B sich von anfänglichen 80% nach 45 Stunden auf 52% reduziert hat. Gleichzeitig wandert die mittlere Höhe der Partikel, die sich in Abb. 5.4 deutlich als weiteres lokales Maximum mit gaußförmiger Verteilung zeigen, von 1,5 nm auf 2,2 nm. Dieser Vorgang findet vor allem in den ersten 24 Stunden statt und verlangsamt sich dann.

Um weitere Einblicke zu erhalten, wurde zeitgleich zur Topographie die Anregungsstärke des Sensors (engl.: excitation), die nötig ist um eine vom Nutzer festgelegte Amplitude zu halten, aufgezeichnet. Sie ist ein Maß für dissipative Kräfte. In Abb. 5.5a ist zu sehen, dass über den adsorbierten Strukturen weniger Dissipation gemessen wird als über der blanken MoSe₂ Oberfläche. Ergänzend soll erwähnt werden, dass die Spannung, die nötig war um eine 500 pm Amplitude weitab der Probe anzuregen, $\sim 0,3$ mV betrug. Die Dissipation hat sich zudem nicht mit der Zeit geändert. Exemplarisch ist eine um 1 d 21 h zeitlich verschobene Aufnahme in der Abb. 5.5b gezeigt. In der Vergangenheit wurde bereits gezeigt, dass es zu einer erhöhten Dissipation kommt, falls die AFM-Spitze Hydratlagen durchbricht [9, 124]. Deshalb wäre eine mögliche Erklärung für die hier auf MoSe₂ vorgestellten Beobachtungen, dass lokale Unterschiede in der Dicke der Hydratlagen auf der Oberfläche bestehen. In diesem Fall wäre MoSe₂ als hydrophiler als die Adsorbate anzunehmen, was zu mehr Wasserschichten und einer höheren Dissipation führen würde. In der Vergangenheit sind, wie bereits am Anfang des Kapitels erwähnt, Studien zur Hydrophobizität durchgeführt worden. Dort wurde beobachtet,

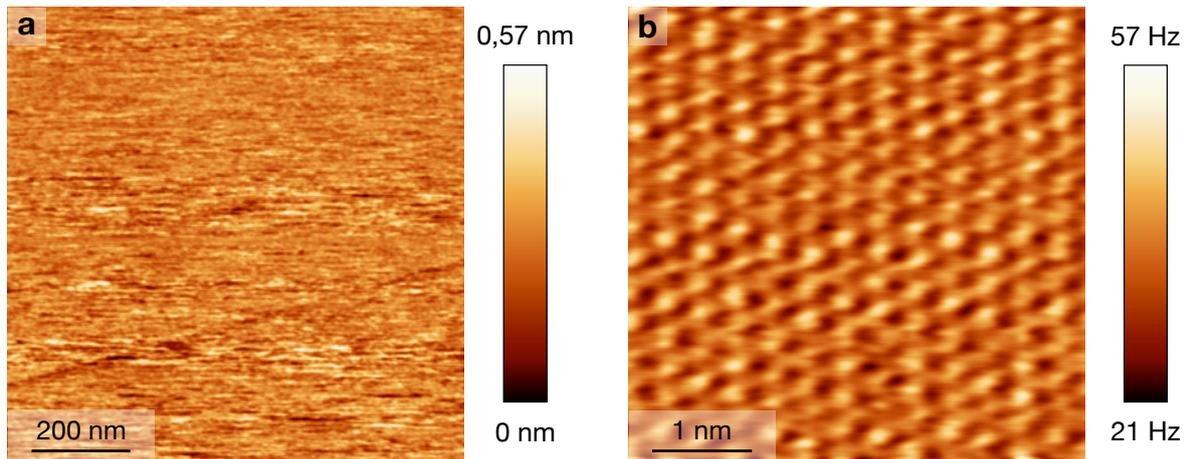


Abbildung 5.6.: FM-AFM-Aufnahmen von WS₂ an Luft. Sensoreigenschaften: $f_0 = 46,8$ kHz, $k = 3,5$ kN/m. (a) Übersichtsaufnahme von WS₂. Abbildungsparameter: $\Delta f = 50$ Hz, $A = 500$ pm. (b) Atomare Auflösung von WS₂. Abbildungsparameter: Quasi-konstante Höhe, $\Delta f = 41$ Hz, $A = 170$ pm. Angepasst mit Erlaubnis von Pürckhauer *et al.*, ACS Appl. Nano Mater. **2**, 2593-2598 (2019). Urheberrecht 2019 American Chemical Society.

dass nach einer Kohlenwasserstoffadsorption die TMDC Oberflächen hydrophober wurden [200, 201]. Obwohl dies in Einklang mit den gemessenen Daten wäre, ist nichtsdestotrotz nach den Messungen auf MoS₂ und MoSe₂ nicht direkt auf eine Kontamination mit Kohlenwasserstoffen zu schließen, denn eine solche ist in der Ref. [200] auch für MoS₂ beschrieben. Um ein detaillierteres Bild zu gewinnen, wurden Messungen auf weiteren TMDC Proben durchgeführt, welche im kommenden Abschnitt vorgestellt werden.

5.3. Abbildung von WS₂ und WSe₂

In diesem Abschnitt werden die Untersuchungen von weiteren TMDCs mit Wolfram als Chalkogenatom beschrieben, statt wie zuvor mit Molybdän. Die Messergebnisse sollen Aufschluss geben, ob ein Trend bezüglich einer höheren Reaktivität von Seleniden vorliegt. Es wurden im Rahmen der Studie sowohl Messungen auf WS₂ als auch WSe₂ durchgeführt (beide bezogen von HQ Graphene⁵). Auf sie wird nun detailliert eingegangen.

Abbildung von WS₂ an Luft

Mechanische Exfoliation von WS₂ an Luft lieferte flache und saubere Oberflächen, wie in Abb. 5.6a gezeigt. Es ist zudem anzumerken, dass in dieser Studie keine Stufen auf WS₂ gefunden wurden. In Abb. 5.6b ist eine Aufnahme eines $5 \text{ nm} \times 5 \text{ nm}$ großen Bereichs mit atomarer Auflösung der hexagonalen Struktur zu sehen. Die gemessene Gitterkonstante ist $0,33 \text{ nm}$, was mit der Literatur übereinstimmt [207]. Langzeitmessungen mit atomarer Auflösung offenbarten eine mobile stufenartige Erhebung, die sich in Abb. 5.7a, d und e als

⁵HQ Graphene, 9728 TB Groningen, Niederlande.

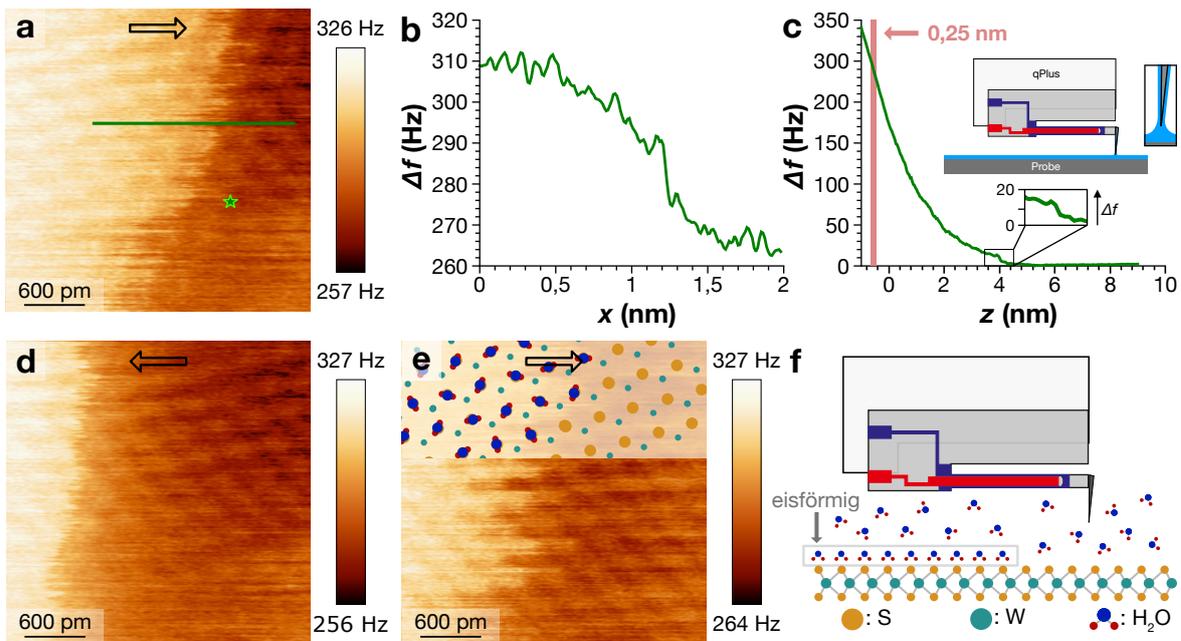


Abbildung 5.7.: FM-AFM Rohdaten, welche zwei Wochen nach dem Spalten aufgezeichnet wurden, offenbaren eine mobile Struktur auf WS_2 . Quasi-konstante Höhe, $f_0 = 26,2 \text{ kHz}$, $k = 1,8 \text{ kN/m}$, $\Delta f = 290 \text{ Hz}$, $A = 112 \text{ pm}$. (a) Atomare Auflösung der WS_2 Oberfläche, wobei die Spitze hier von links nach rechts gerastert ist (Vorwärts-Richtung). Links ist eine Struktur sichtbar, die eine stärkere Repulsion verursacht, deren Struktur der von WS_2 folgt. (b) Höhenprofil entlang der grünen Linie. (c) Δf -Abstandskurve, welche an der Position des grünen Sterns aufgenommen wurde. (d) Die zur FM-AFM-Aufnahme aus (a) korrespondierende Messung in Rückwärts-Richtung. (e) FM-AFM-Aufnahme (in Vorwärts-Richtung), die 1,5 Minuten nach dem Bild (a) aufgenommen wurde. Eine mögliche Anordnung einer geordneten, oder eisförmigen, Wasserschicht ist in der oberen Bildhälfte überlagert. (f) Schematische Zeichnung des Messaufbaus mit einem qPlus Sensor und einer WS_2 Oberfläche. In der Luft befinden sich H_2O Moleküle, die sich auf der Oberfläche anlagern und eisförmige Strukturen bilden können, wie dies exemplarisch eingezeichnet ist. Angepasst mit Erlaubnis von Pürckhauer *et al.*, ACS Appl. Nano Mater. **2**, 2593-2598 (2019). Urheberrecht 2019 American Chemical Society.

hellerer Bereich zeigt. Ähnliches wurde bereits auf Kaliumbromid (KBr) mit einem AFM gemessen und einem (auf der Oberfläche) kondensierten Wasserfilm zugewiesen. Sogenannte geordnete, oder auch eisförmige, Hydratlagen (engl.: „ice-like“ hydration layers) konnten unter anderem ebenso auf Mica, Calcit und DNA nachgewiesen werden [210]. In Abb. 5.7b ist ein Profil der Messung entlang der in Abb. 5.7a eingezeichneten grünen Linie dargestellt. Auf der linken Seite des Profils beträgt die durchschnittliche Frequenzverschiebung $\Delta f = 300 \text{ Hz}$ und auf der rechten Seite durchschnittlich 265 Hz . Nachdem die Daten in quasi-konstanter Höhe aufgenommen wurden, bedeutet dies, dass der Abstand zwischen Spitze und Probe auf der linken Seite geringer ist als auf der rechten Seite der Aufnahme. Um den Frequenzunterschied mit einer Höhendifferenz korrelieren zu können, wurde Δf in Abhängigkeit des Abstands aufgezeichnet. Die Δf -Abstandskurve, oder auch z -Spektroskopie, ist in Abb. 5.7c dargestellt.

Der Ort der Akquisition ist in Abb. 5.7a mit einem grünen Stern markiert. Der zuvor bestimmte Δf -Unterschied konnte so einem 0,25 nm Höhenunterschied zugeordnet werden, was der typischen Höhe einer ersten geordneten Wasserschicht entspricht [9, 210]. Ein weiteres Indiz, dass Wasser zwischen Spitze und Probe präsent ist, ist die Stufe bei dem relativen Abstand $z = 4$ nm in Abb. 5.7c. Eine solche kann in der Abstandskurve entstehen, wenn sich ein Meniskus zwischen Probe und Spitze bildet oder abreißt, je nachdem ob an- oder abgenähert wird. Eine Skizze in Abb. 5.7c illustriert die Ausbildung eines Meniskus zwischen Spitze und Probe. Folglich gehen wir davon aus, dass die stufenartige Struktur sich mit der Existenz einer geordneten, eisförmigen Hydratlage erklären lässt. Es ist zudem anzumerken, dass beim Vergleich der in Vorwärts- und Rückwärts-Richtung abgerasterten Aufnahmen eine starke Hysterese der Stufenform auffällt. Die Richtung der Abrasterung ist in Abb. 5.7 jeweils mit einem Pfeil gekennzeichnet. Eine mögliche Erklärung der Richtungsabhängigkeit ist, dass in der schnellen Abtastrichtung die eisförmige Struktur zerstört wird, falls die Spitze sich auf die höhere Stufe zubewegt. In umgekehrter Abtastrichtung würde die eisförmige Struktur in ihrer Form erhalten bleiben. Eine andere Möglichkeit wäre eine Asymmetrie der Spitze. Ferner ist auffällig, dass die mobile Struktur (hellere Region) ein identisches Gitter wie die darunter liegende Sulfidschicht (dunklere Region) aufweist. Dies kann ein weiteres Indiz für eine eisförmige Hydratlage sein, welche die atomare Struktur des darunter liegenden Kristalls erbt. Von dieser Interpretation ausgehend, wurden in Abb. 5.7e Wassermoleküle auf die Schwefelatome der eingezeichneten hexagonalen WS₂ Struktur gesetzt. In Abb. 5.7f ist eine schematische Zeichnung der Messungen gezeigt. Abgebildet ist ein qPlus Sensors, dessen Spitze nahe der WS₂ Oberfläche ist. Sowohl die Spitze als auch die Probe sind den in der Luft gelösten Wassermolekülen ausgesetzt, weshalb letztere eine eisförmige Hydratlage aufweist.

Abbildung von WSe₂ an Luft

Die anschließende Abbildung von WSe₂ an Luft zeigte, ebenso wie MoSe₂, eine großflächige Bedeckung mit Adsorbaten (siehe Abb. 5.8a). Der Grad der Bedeckung wurde analog zur Auswertung im Kap. 5.2 bestimmt. In den Abb. 5.8c-e sind drei Höhenprofile entlang den in (a) eingezeichneten Linien dargestellt. Diese lassen bereits erahnen, dass die Höhe der Adsorbate stark variiert. Final zeigt sich dies in der ausgewerteten Höhenverteilung, welche als Histogramm in Abb. 5.8f dargestellt ist. Im Gegensatz zu den Adsorbaten auf MoSe₂ ist eine kontinuierliche Verteilung der Höhe der Partikel zu sehen. Die Auswertung des Bedeckungsgrades erfolgte erneut über die Annahme, dass die Höhenverteilung der nicht-kontaminierten Oberfläche durch eine Gaußkurve (siehe Gl. 5.1) beschrieben werden kann. Der Bedeckungsgrad beträgt bei der hier gezeigten Messung 49%.

Außerdem wurden Messungen zwischen den Adsorbaten durchgeführt, um zu zeigen, dass es Bereiche auf WSe₂ ohne beeinträchtigende Kontaminationen gibt. Es konnte die atomare Struktur aufgelöst werden, welche in Abb. 5.8b gezeigt ist. Die Gitterkonstante beträgt 0,46 nm und ist in Einklang mit dem Literaturwert [207].

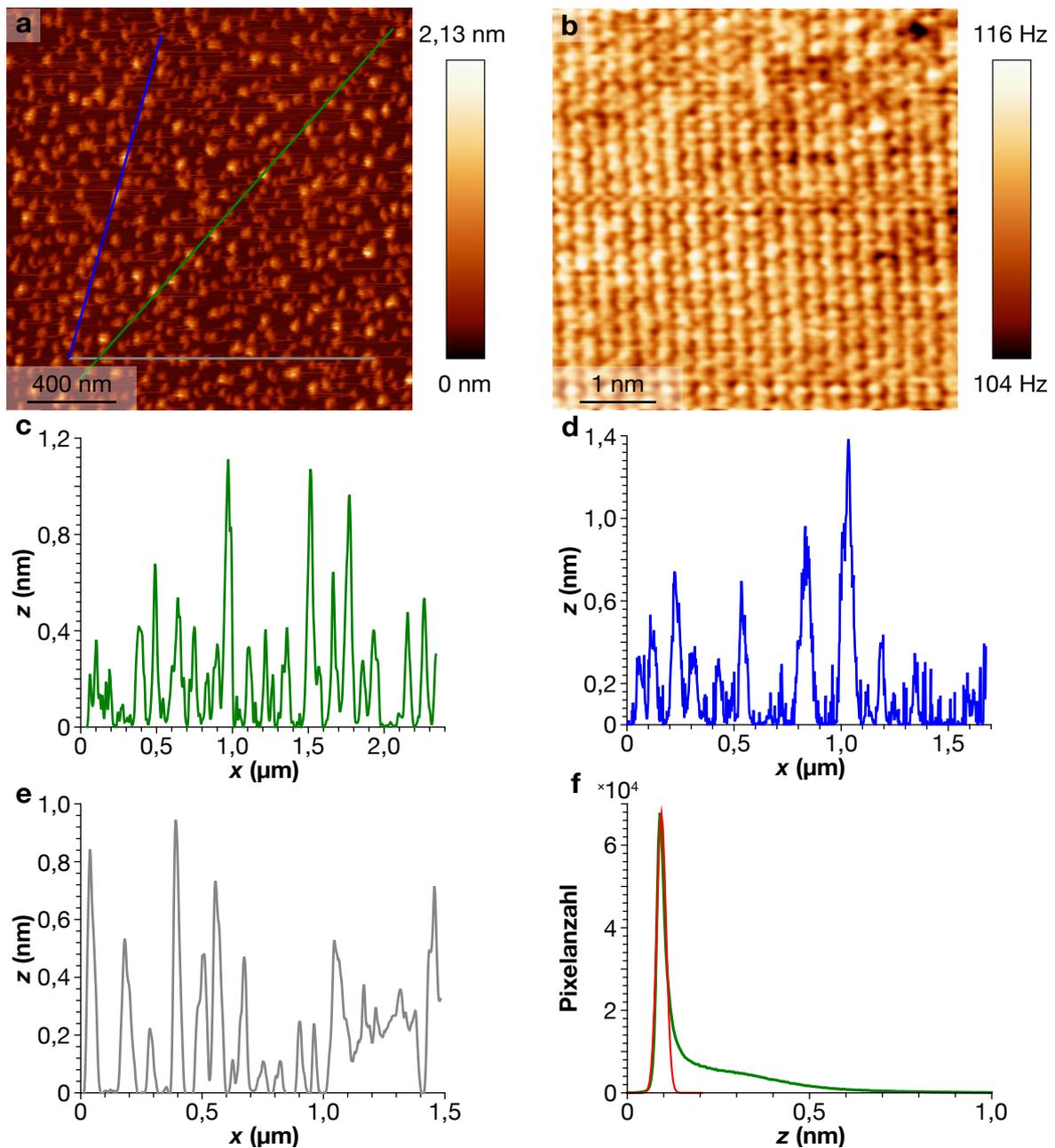


Abbildung 5.8.: FM-AFM-Aufnahmen von WSe_2 an Luft. (a) Topographie eines $2 \mu\text{m} \times 2 \mu\text{m}$ großen Bereichs zeigt eine teilweise Bedeckung mit Adsorbaten. Abbildungsparameter: $f_0 = 46,8 \text{ kHz}$, $k = 3,5 \text{ kN/m}$, $\Delta f = 30 \text{ Hz}$ und $A = 500 \text{ pm}$. (b) Die atomare Struktur von WSe_2 wurde zwischen den Adsorbaten aufgezeichnet. Abbildungsparameter: Quasi-konstante Höhe, $f_0 = 46,8 \text{ kHz}$, $k = 3,5 \text{ kN/m}$, $\Delta f = 110 \text{ Hz}$ und $A = 90 \text{ pm}$. (c)-(e) Höhenprofile entlang der in (a) eingezeichneten Linien. Die Höhe der Partikel variiert dabei sehr stark. (f) Höhenverteilung der Adsorbate dargestellt als Histogramm der Pixelanzahl bei einer entsprechenden Höhe. Das mit einer Gaußkurve (rot) angenäherte Hauptmaximum des Graphen repräsentiert hier die nicht-kontaminierte WSe_2 Oberfläche. Angepasst mit Erlaubnis von Pürckhauer *et al.*, ACS Appl. Nano Mater. **2**, 2593-2598 (2019). Urheberrecht 2019 American Chemical Society.

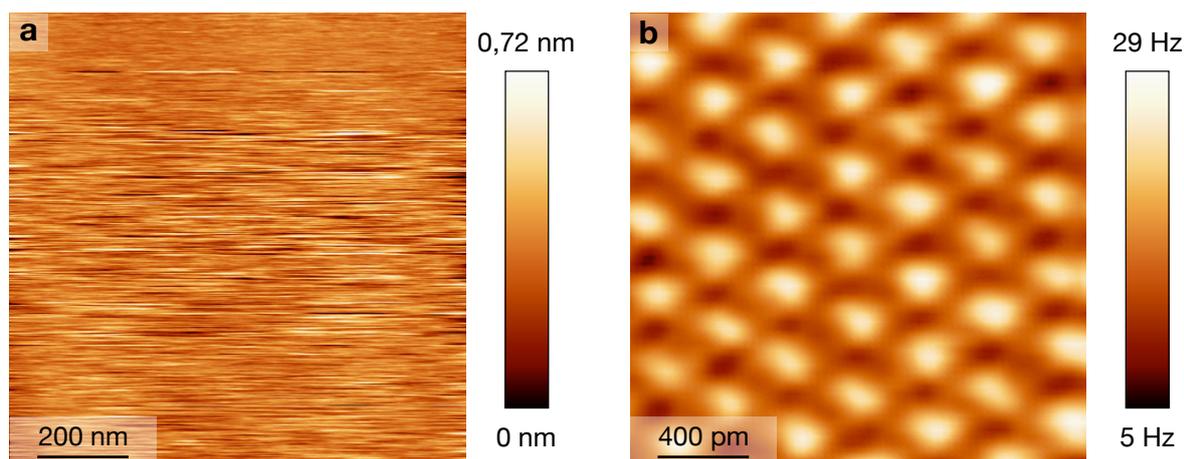


Abbildung 5.9.: FM-AFM-Aufnahmen von WSe₂, wobei der Kristall in einer UHV-Umgebung gespalten und abgebildet wurde. Sensorparameter: Wolframspitze, $f_0 = 27,7$ kHz und $k = 1,8$ kN/m. (a) Übersichtsaufnahme der in-situ gespaltenen WSe₂ Oberfläche. Abbildungsparameter: $\Delta f = 15$ Hz und $A = 470$ pm. (b) Atomare Auflösung von WSe₂ zeigt die hexagonale Struktur. Abbildungsparameter: Quasi-konstante Höhe, $\Delta f = 15$ Hz und $A = 51$ pm. Angepasst mit Erlaubnis von Pürckhauer *et al.*, ACS Appl. Nano Mater. **2**, 2593-2598 (2019). Urheberrecht 2019 American Chemical Society.

Abbildung von WSe₂ im UHV

Ergänzend zu den Messungen an Luft wurde eine WSe₂ Probe in-situ in einer Ultrahochvakuumkammer (UHV-Kammer) gespalten und anschließend abgebildet. Die AFM-Messung sollte zeigen, ob die Adsorbate bereits vor dem Spalten der Selenide an Luft vorhanden sind. An dieser Stelle soll erwähnt werden, dass an Luft gespaltenen Proben ebenso in die UHV-Kammer transferiert wurden und erneut eine Bedeckung mit Adsorbaten festgestellt wurde.

Zur in-situ Probenspaltung wurde zunächst eine Schraube auf die Probe aufgeklebt. Wird die Schraube innerhalb der Kammer abgeschlagen, so werden einige Schichten von WSe₂ abgerissen und somit die Probe in-situ gespalten. Die mit FM-AFM gemessene Topographie ist in Abb. 5.9a zu sehen. Die Messungen zeigen dabei keinen Hinweis auf eine Kontamination mit Adsorbaten. Ebenso konnte die atomare Struktur von WSe₂ abgebildet werden, welche in Abb. 5.9 gezeigt ist. Daraus kann gefolgert werden, dass bei Messungen an Luft die Adsorbate nicht bereits vor dem Spalten vorhanden sind, sondern erst beim Kontakt mit der Luft entstehen.

5.4. Diskussion, Zusammenfassung und Ausblick

Zusammenfassend wurden vier verschiedene Übergangsmetall-Dichalkogenide an Luft untersucht. Die Sulfide (MoS₂ und WS₂) zeigten in der hier durchgeführten Studie auch nach längerer Exposition mit Luft keine Hinweise auf Kontaminationen. Eine Besonderheit wurde dennoch aufgezeichnet. Bei einer durchgehenden Messung auf WS₂ konnte nach zwei Wochen

5. Übergangsmetall-Dichalkogenide und deren Reaktivität an Luft

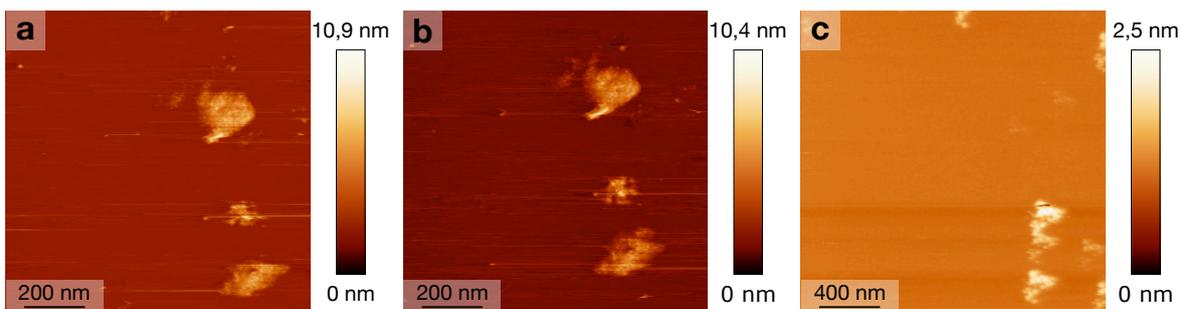


Abbildung 5.10.: FM-AFM-Aufnahmen von MoSe_2 unter UHV-Bedingungen. Die Probe wurde an Luft gespalten und in der UHV-Kammer für 1 Stunde bei ca. 300°C erhitzt. (a),(b) Übersichtsaufnahmen nach einmaligem Aufheizen. Das Bild (b) ist mit drei Stunden Versatz zu (a) aufgenommen. Abbildungsparameter: Platin-Iridium-Spitze, $f_0 = 12,9\text{ kHz}$, $k = 1,8\text{ kN/m}$, $\Delta f = 10\text{ Hz}$ und $A = 400\text{ pm}$. (c) Übersichtsaufnahme nach weiteren Aufheizzyklen. Abbildungsparameter: Wolframspitze, $f_0 = 29,9\text{ kHz}$, $k = 1,8\text{ kN/m}$, $\Delta f = 7\text{ Hz}$ und $A = 400\text{ pm}$.

eine geordnete Hydratlage beobachtet werden, die von der AFM-Spitze teilweise manipuliert wurde. Die FM-AFM-Messungen von den Seleniden (MoSe_2 und WSe_2) an Luft offenbarten von Beginn an eine Bedeckung mit Adsorbaten. Eine mögliche Erklärung ist, dass die Oberfläche der Selenide gegenüber bestimmten Molekülen eine höhere Reaktivität aufweist als die der Sulfide. Ein möglicher Einfluss von Hydratlagen, wie sie auf WS_2 detektiert wurden, könnte bei den Sulfiden eine Rolle spielen. Wie bereits am Anfang des Kapitels angemerkt, ist in Ref. [202] eine solche als Schutz vor Adsorption von Kohlenwasserstoffen beschrieben worden. Ferner zeigten Langzeitmessungen auf MoSe_2 , dass die adsorbierten Partikel beweglich sind und mit der Zeit aggregieren. Die mittlere Höhe der Partikel hat sich deshalb nach etwa zwei Tagen von $1,5\text{ nm}$ auf $2,2\text{ nm}$ verändert und die initiale Bedeckung von 80% hat sich auf 52% reduziert. Bei WSe_2 hat sich ein etwas anderes Bild gezeigt, denn die Adsorbate zeigten eine kontinuierliche Höhenverteilung und waren bis zu 2 nm hoch. Die Bedeckung betrug 49% . Allgemein gewinnen die Übergangsmetall-Dichalkogenide immer mehr an Bedeutung mit Hinblick auf zukünftige industrielle Anwendungen. Die hier gezeigten Beobachtungen sind ein Indiz, dass eine Fabrikation von Einheiten an Luft, welche Selenide verwenden, nicht empfohlen werden kann. Aufgrund der gewonnenen Erkenntnisse ist zudem davon auszugehen, dass Sulfide von dieser Einschränkung nicht betroffen sind. Die genauen Mechanismen der Adsorption von Partikeln auf den Seleniden WSe_2 und MoSe_2 konnten im Rahmen dieser Studie nicht näher spezifiziert werden. Obwohl eine Kontamination mit Kohlenwasserstoffen in der Literatur bereits beschrieben wurde, ist sie unwahrscheinlich, da nach bisherigen Erkenntnissen eine solche auch auf den Sulfiden zu erwarten ist. Deshalb könnten zukünftige Experimente u.a. die Exposition von TMDCs mit ausgewählten Gasen testen, um zu prüfen, welche die Oberfläche terminieren. Ein weiterer interessanter Punkt ist, ob und wie die verunreinigten Proben zu reinigen sind. Vorläufige Versuche zeigen, dass eine kontaminierte MoSe_2 Oberfläche in einer UHV-Umgebung durch Aufheizen gereinigt werden kann. Die in Abb. 5.10 gezeigten FM-AFM

Elementanteil [%] (Fehler [%])	0 h Spot 2	0 h Spot 3	17 h Spot 2	17 h Spot 3
O [%] (Fehler [%])	2,52 (77,92)	4,28 (71,47)	1,94 (79,96)	0,62 (99,99)
C [%] (Fehler [%])	1,79 (75,35)	2,84 (39,79)	3,52 (27,75)	1,23 (85,67)
Se [%] (Fehler [%])	63,45 (3,09)	61,26 (3,06)	62,30 (3,08)	65,08 (3,07)
Mo [%] (Fehler [%])	32,23 (5,26)	31,58 (5,06)	32,24 (5,21)	33,06 (5,04)

Tabelle 5.2.: Ergebnisse der Elementanalyse der MoSe₂ Oberfläche durch energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX). Dargestellt sind die einzelnen Messwerte der Spektren aus Abb. 5.11.

Daten sind auf einer an Luft gespaltenen MoSe₂ Oberfläche aufgezeichnet. Die Probe wurde im Ultrahochvakuum bei etwa 300°C für eine Stunde aufgeheizt, was zu einer deutlichen Reduktion der Partikel führte. An den konsekutiven Aufnahmen Abb. 5.10a und Abb. 5.10b ist zudem ersichtlich, dass, wie zuvor an Luft beobachtet, die Adsorbatschicht mobil oder auch manipulierbar ist. Bei diesen Messungen wurde die Probe zudem immer wieder aufgeheizt, um weitere Partikel zu desorbieren und großflächig saubere Oberflächen zu erhalten. Das Ergebnis ist in Abb. 5.10c zu sehen.

Eine Möglichkeit, spezifische Aussagen über die chemische Zusammensetzung von Proben, oder hier Adsorbaten, treffen zu können, ist energiedispersive Röntgenspektroskopie (engl.: energy dispersive X-ray spectroscopy, EDX), weshalb jeweils zwei Proben von MoS₂, MoSe₂, WS₂ und WSe₂ damit untersucht wurden. Die Kristalle wurden erneut an Luft gespalten. Im Anschluss wurden EDX-Messungen durchgeführt. Sie wurden nach einer Stunde und nach 17 Stunden Luftexposition wiederholt. Exemplarisch sind die Daten der frischen und 17 Stunden alten MoSe₂ Oberfläche in Abb. 5.11 dargestellt. Weitere EDX-Spektren der anderen Kristalle sind im Anhang A.2.2 zu finden. Aus der Abb. 5.11 wird ersichtlich, dass die EDX-Spektren auf der MoSe₂ keine signifikanten Unterschiede zwischen einer unwesentlichen Luftexposition (Teilbilder (a)-(c)) und einer 17 Stunden (Teilbilder (d)-(f)) andauernden Exposition aufweisen. In der Abbildung sind alle signifikanten Spitzen der Spektren mit dem jeweils korrespondierenden Element gekennzeichnet. Wie der Tab. 5.2 entnommen werden kann, sind neben den Elementen Molybdän und Selen zudem Sauerstoff und Kohlenstoff messbar. Anzumerken ist, dass Kohlenstoff in einer SEM-Kammer zu erwarten ist und damit schwer einzuordnen ist. Die Schwankungen zwischen den einzelnen Messpunkten (hier als Spots bezeichnet) sind insbesondere bei Sauerstoff sehr hoch. In der Folge sind die Messwerte nicht von denen nach längerer Luftexposition unterscheidbar.

Die hier gezeigten Messungen sind allesamt auf exfolierten Kristallen und nicht auf einzelnen bis wenigen Monolagen durchgeführt worden. Bei Graphen wurde bereits mit einem Rasterkraftmikroskop ein Unterschied zwischen Monolagen und Bilagen festgestellt [211]. Deshalb wäre es interessant, ob selbiges auch bei TMDC Materialien zu beobachten ist. Im Hinblick auf zukünftige Messungen von Monolagen der Übergangsmetall-Dichalkogenide kann das in Kap. 3.2 beschriebene Mikroskop hilfreich sein, da die Monolagen in der Regel nur

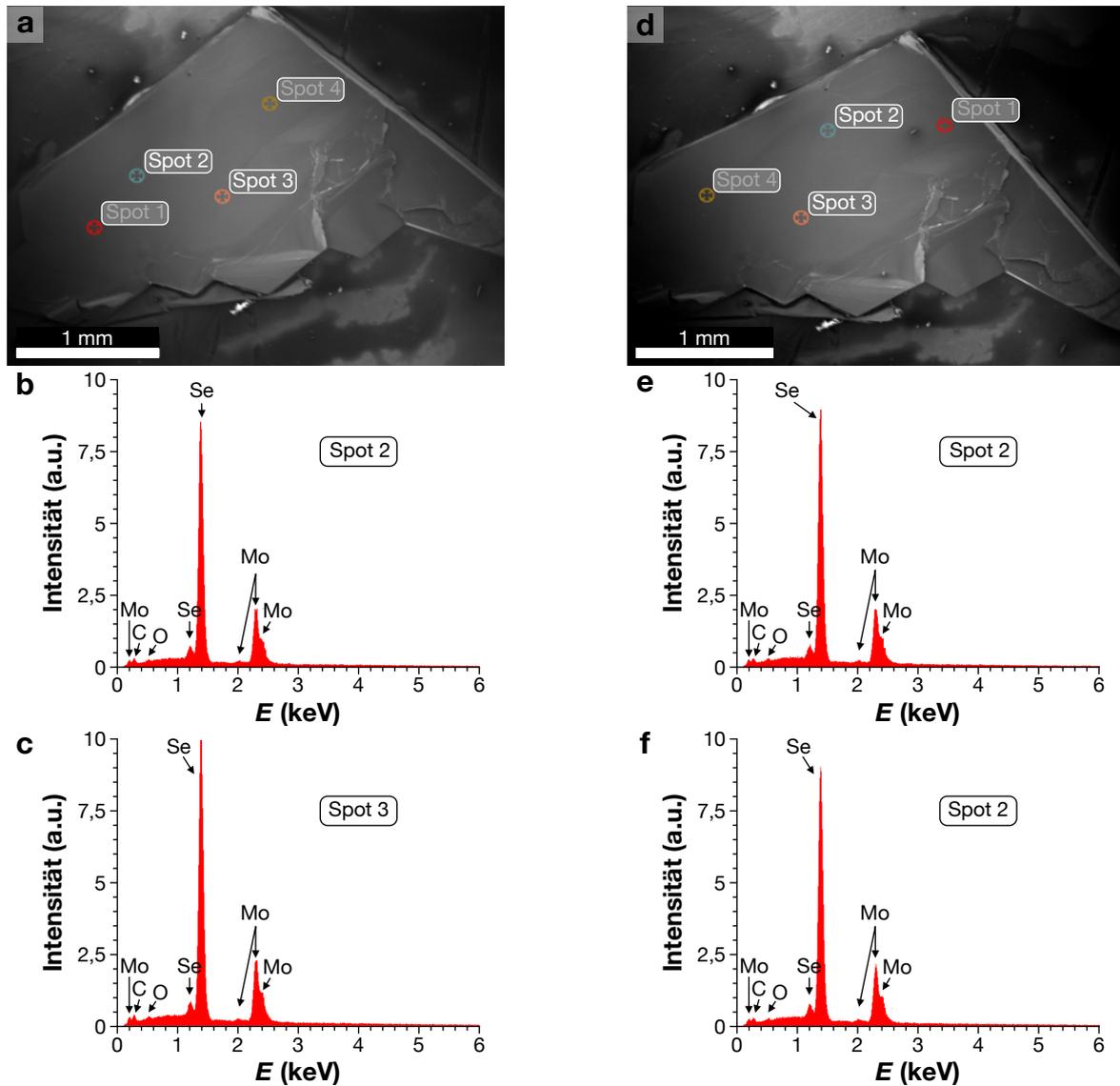


Abbildung 5.11.: EDX-Spektren auf MoSe₂. Die Probe wurde an Luft gespalten und für die Daten in (a)-(c) direkt im Anschluss ins SEM transferiert und bei (d)-(f) nach 17 Stunden Luftexposition. (a),(b) SEM-Aufnahme der Probenoberfläche mit markierten Analysepunkten. (b),(c) EDX-Spektren direkt nach dem Spalten an Luft. (e),(f) EDX-Spektren nach 17 Stunden Luftexposition.

wenige Mikrometer groß sind und damit ein optisches Mikroskop zur Positionierung von Spitze und Probe verwendet werden muss. Letztlich lässt sich nochmals hervorheben, dass das Rasterkraftmikroskop durch die nicht-destruktive Abbildung einer Oberfläche und deren Kontaminationen an Luft einen nahezu einzigartigen Stellenwert bei der Untersuchung der Oberflächenqualität einnimmt.

6. Ausblick auf ein Lichtfeld-induziertes Rasterkraftmikroskop

Die Daten in diesem Kapitel sind in enger Zusammenarbeit mit S. Maier¹ und der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. R. Huber entstanden.

Im bisherigen Verlauf der Arbeit wurde ein besonderes Augenmerk auf eine hohe Ortsauflösung der Rasterkraftmikroskopie gelegt. So konnten beispielsweise nicht nur Übergangsmetall-Dichalkogenide an Luft atomar aufgelöst werden, sondern auch Muskovit in verschiedenen wässrigen Umgebungen. Zeitliche Veränderungen einer Probe sind hingegen schwer mit einem AFM zu beobachten. Es sei denn sie finden langsam statt, wie beispielsweise die Veränderung der Partikel auf MoSe₂ (siehe Kap. 5.2). Insbesondere in der Biologie ist jedoch eine hohe zeitliche Auflösung äußerst interessant, da u.a. Proteine ihre Struktur durch externe Stimuli wie pH-Wert, Temperatur, mechanische Spannung oder Licht verändern [213]. Im Kap. 4 wurde bereits diskutiert, dass das Rauschen bei qPlus Sensoren stark mit der Bandbreite skaliert und deshalb die Rastergeschwindigkeit stark limitiert ist (in der Regel $< 0,5 \mu\text{m/s}$). Bei weichen Silizium-Sensoren spielt das Detektorrauschen eher eine untergeordnete Rolle und so wurde eine neue Generation von Hochgeschwindigkeits-Rasterkraftmikroskopen (engl.: high-speed AFM, HS-AFM) eingeführt [35–37]. Bei diesen schwingt der Sensor mit einer Resonanzfrequenz von etwa $\sim 1 \text{ MHz}$. Außerdem wird die Güte Q absichtlich stark verringert, um möglichst schnell über eine Probe rastern zu können. Interessant ist zudem, dass die Röhrenpiezos ebenso an die Rastergeschwindigkeit angepasst werden müssen und so nur wenige Millimeter groß sind. Derartige HS-AFMs ermöglichen Aufnahmen mit bis zu 100 Bildern pro Sekunde (bei 100×100 Pixeln) [36]. In der Literatur finden sich beispielsweise Video-artige AFM-Aufnahmen von einem wandernden Protein Myosin V oder Aufnahmen der strukturellen Änderungen des Proteins Bacteriorhodopsin [213, 214]. Strukturänderungen, die in weniger als 10 ms stattfinden, bleiben jedoch im Verborgenen. Außerdem können interessante elementare Prozesse wie intramolekulare Vibrationen, der Zerfall von Exzitonen oder Gitterschwingungen (Phononen) auf Zeitskalen in der Größenordnung von Piko- ($1 \text{ ps} = 1 \times 10^{-12} \text{ s}$) oder gar Femtosekunden ($1 \text{ fs} = 1 \times 10^{-15} \text{ s}$) stattfinden. Auch wenn das HS-AFM die zeitliche Auflösung der Rasterkraftmikroskopie deutlich verbessert hat, so bleiben derartige ultraschnelle Prozesse damit noch immer unzugänglich.

¹Zum Zeitpunkt der anfänglichen Messungen war Simon Maier Masterand in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Rupert Huber. So können Texte, Interpretationen und Bilder identisch sein zu dessen Masterarbeit [212].

Typischerweise werden diese sogenannten ultraschnellen Prozesse mit optischen Methoden und im Speziellen durch Femtosekunden-Lichtimpulse untersucht. Jedoch unterliegt ein durch Linsen und Spiegel fokussiertes Strahlenbündel dem Beugungslimit, was die örtliche Auflösung vor allem bei großen Wellenlängen stark limitiert. Eine Möglichkeit, eine hohe örtliche Auflösung mit einer großen zeitlichen zu kombinieren, ist die Kopplung von Rastersondenmikroskopie (AFM oder STM) mit ultrakurzen Lichtimpulsen. Das Rastersondenmikroskop wird hier zur Detektion verwendet und die ultraschnellen Impulse zum Triggern der Prozesse. Mit einem Rastertunnelmikroskop konnten so bereits die ersten Bilder eines oszillierenden Molekülorbitals aufgezeichnet werden und zudem kontrollierte Rotationen eines Moleküls induziert werden [41, 215]. Außerdem soll erwähnt werden, dass mittels optischer Rasternahfeldmikroskopie (engl.: scanning near-field optical microscopy, SNOM) unter anderem der Ladungsträgerzerfall auf der Oberfläche eines Halbleiter-Nanodrahtes zeitaufgelöst gemessen werden konnte [216].

Im Rahmen der hier vorgelegten Arbeit wurde das Konzept eines Lichtfeld-induzierten Rasterkraftmikroskops entwickelt. Die Idee ist, dass phasenstarre Lichtimpulse (im mittelinfraroten Bereich²) auf den vordersten Bereich der AFM-Spitze und die darunter liegende Probe fokussiert werden. Neben dem optischen Aufbau musste hierzu ein neuartiges Rasterkraftmikroskop mit verbessertem optischen Zugang entwickelt werden. Dieses wurde ausführlich im Kap. 3.2 vorgestellt. Ferner wird die hier konzeptionell vorgestellte Technik als Lichtfeld-induzierte Rasterkraftmikroskopie bezeichnet, da zukünftig Kräfte gemessen werden sollen, die durch das instantante elektrische Feld von phasenstarrten Lichtimpulsen hervorgerufen werden. Das heißt, dass eine zeitliche Auflösung kürzer als eine einzelne Schwingung des Trägerfeldes erreicht werden soll. Ein vergleichbarer optischer Aufbau ist beispielsweise in Ref. [215] zur Anwendung gekommen.

In den folgenden Abschnitten soll zunächst ein Überblick über die Wechselwirkungen zwischen der Spitze und dem eingekoppelten Licht geschaffen und unterschiedliche Detektionsmöglichkeiten diskutiert werden. Außerdem werden die ersten experimentellen Ergebnisse vorgestellt, wobei gezeigt wird, dass sich der qPlus Sensor optisch anregen lässt. Rückschlüsse auf den zugrunde liegenden optisch induzierten Prozess sollen Messungen auf Quarz liefern. Mit diesen soll das spektrale Antwortverhalten der angeregten Phononen untersucht werden. Es soll an dieser Stelle bereits darauf hingewiesen werden, dass das Kapitel nicht den Anspruch einer quantitativen Auswertung von Ergebnissen hat, sondern es soll die vorläufigen Messungen qualitativ beschreiben und den momentanen Stand des Projekts abbilden.

6.1. Lichtfeld-induzierte Kräfte und ihre Detektion

Dieser Abschnitt widmet sich den Lichtfeld-induzierten Kräften und soll erklären, wie ein Rasterkraftmikroskop zur Detektion dieser verwendet werden kann. In der Einleitung des Kapitels wurde bereits angedeutet, dass Mittelinfrarot-Impulse auf die Spitze des AFMs

²Als Mittelinfrarotbereich wird der Frequenzbereich von 10 THz bis 100 THz definiert.

und die Probe fokussiert und die dadurch induzierten Kräfte gemessen werden sollen. Aus diesem Grund ist es entscheidend, dass das in dieser Arbeit aufgebaute Rasterkraftmikroskop (siehe Kap. 3.2) einen freien Zugang zur AFM-Spitze und zur Probe erlaubt. Dies ist nochmals in Abb. 6.1a ersichtlich. An dieser Stelle soll erneut erwähnt werden, dass die Bezeichnung Lichtfeld-induzierte Rasterkraftmikroskopie hier Bezug nimmt auf das Ziel des Projekts. Nämlich der Detektion von Kräften, welche durch das elektrische Feld eines Lichtimpulses, oder eines Impulszuges aus phasenstarrten Impulsen, zwischen Spitze und Probe wirken. Sind die gemessenen Kräfte abhängig vom Verlauf des elektrischen Feldes, so kann eine Subzyklen-Zeitauflösung erreicht werden. Insbesondere ist dieser Begriff gewählt, um bewusst eine Abgrenzung zu den anderen in der Literatur bekannten Messmethoden, wie der Rasterkraftmikroskopie-basierten Infrarotspektroskopie (AFM-IR) oder der photoinduzierten Rasterkraftmikroskopie (engl.: photo-induced force microscopy, PiFM), zu schaffen. Die Unterschiede zwischen den genannten Techniken liegen vor allem im Detail. Bei AFM-IR, welche ein Hybrid aus AFM und Infrarotspektroskopie ist, wird in der Regel monochromatische Laserstrahlung auf die Spitze und Probe fokussiert. Die Probe absorbiert in Abhängigkeit von der Wellenlänge einen gewissen Anteil, was zu einer thermischen Ausdehnung der Probe führt [217, 218]. Das spektrale Absorptionsverhalten ist dabei auf die Anregung von kollektiven Gitterschwingungen oder die Anregung von Rotations- oder Vibrationsmoden von chemischen Bindungen zurückzuführen [219]. Gemessen wird die thermische Ausdehnung der Probe mit dem Rasterkraftmikroskop. Verwendet werden meist weiche Silizium-Sensoren im Kontakt-Modus.

Von einer photo-induzierten Rasterkraftmikroskopie wird gesprochen, wenn der dynamische Modus verwendet wird, sprich der Federbalken oszilliert und entweder die Kraft oder der Kraftgradient signalgebend ist. Detektiert werden soll nicht zwangsläufig thermische Ausdehnung, sondern eine Kraftwirkung im Nahfeld zwischen Spitze und Probe. Ursächlich für die Kräfte ist das auf das Ende der leitfähigen AFM-Spitze, sprich auf den bis zu wenige Nanometer kleinen Spitzenradius (siehe Kap. 3.1.3), eingekoppelte Licht. Durch Feldüberhöhungseffekte entsteht eine komplexe Nahfeldverteilung, wie sie in Abb. 6.1b angedeutet ist [220–222]. Ist die Spitze nahe genug an der Probe, so kann das Nahfeld die Probe polarisieren. Analytisch lässt sich dies durch einen Dipol am Spitzeneende nähern, der einen Spiegeldipol in der Probe induziert [223]. Dies ist in Abb. 6.1c veranschaulicht. Die induzierten Dipole sind abhängig von den dielektrischen Funktionen der Spitze ϵ_{Spitze} und der Probe ϵ_{Probe} . Außerdem wechselwirkt das Dipolfeld schließlich wieder mit dem Nahfeld. Für eine detailliertere theoretische Beschreibung wird hier auf die Ref. [212, 223] verwiesen. Letztlich folgt, dass eine über die Probe rasternde AFM-Spitze lokale Unterschiede in der dielektrischen Funktion messen kann. In der jüngeren Literatur wurde jedoch bereits debattiert, ob bei PiFM thermische Ausdehnung oder eine Dipol-Dipol-Wechselwirkung dominant ist und was von beiden schließlich zu einer optisch induzierten Kraft oder Auslenkung des Federbalkens führt [221, 222, 224, 225]. Auch die in dieser Arbeit vorgestellten Messungen werden sich hier einreihen und unter anderem prüfen,

6. Ausblick auf ein Lichtfeld-induziertes Rasterkraftmikroskop

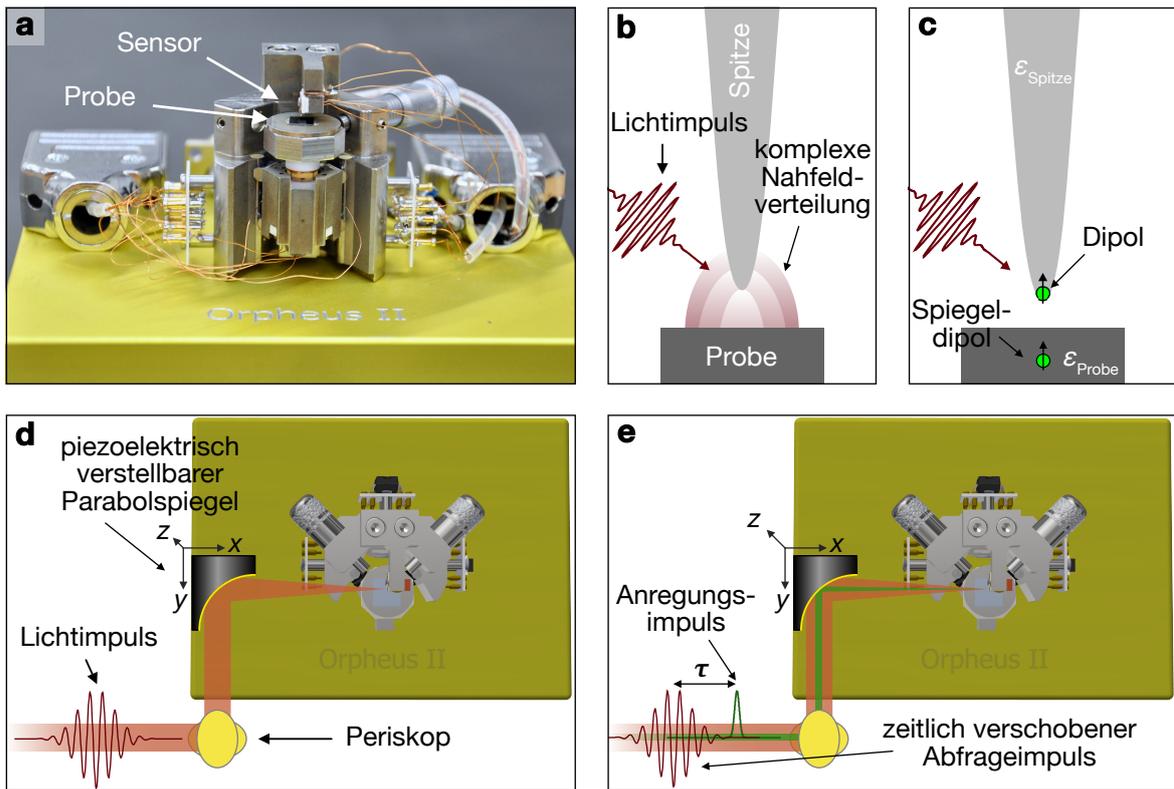


Abbildung 6.1.: Illustration der Detektion von Lichtfeld-induzierten Prozessen mit einem qPlus AFM. (a) Fotografie des Rasterkraftmikroskops zeigt die Sicht von vorne. Das Design des AFMs ermöglicht eine gute Sicht und damit Fokussierung des Lichts auf Sensor und Probe, welche im Bild kenntlich gemacht sind. (b) Schematische Zeichnung eines Mittelinfrarot-Impulses, der auf die Spitze fokussiert wird. Die eingezeichneten Äquipotentiallinien deuten die komplexe Nahfeldverteilung an. (c) Das zu (b) gehörige Punktdipolmodell reduziert die wirkende Kraft auf die Wechselwirkung eines Punktdipols in der Spitze und eines Spiegeldipols in der Probe. Die Polarisierbarkeit von Spitze und Probe ist hier abhängig von den dielektrischen Funktionen der Spitze ϵ_{Spitze} und der Probe ϵ_{Probe} . (d) Schematische Darstellung des Messaufbaus aus der Sicht von oben. Ein Laserstrahl wird über ein Periskop in der Höhe angepasst. Über einen piezoelektrisch verstellbaren Parabolspiegel wird das Licht auf den vordersten Teil der Spitze fokussiert. Die Polarisationsrichtung ist vertikal zur Probe, und damit entlang der Spitze. (e) Vereinfachte Darstellung eines Anregungs-Abfrage-Experiments. Ein Anregungsimpuls hebt die zu untersuchende Probe vom Grundzustand $|g\rangle$ in einen angeregten Zustand $|s_1\rangle$. Ein zeitlich verschobener Abfrageimpuls (mit einer anderen Wellenlänge) kann die Probe erneut anregen und in $|s_2\rangle$ heben, falls der mit dem Anregungsimpuls angeregte Zustand $|s_1\rangle$ noch nicht abgeklungen ist.

welche spektralen Signaturen bei einer Quarzprobe mit dem AFM detektiert werden können. Bevor zu den Details der Detektion und den unterschiedlichen Betriebsmodi, wie sie in dieser Arbeit Anwendung fanden, übergegangen wird, soll zunächst der grundlegende Messaufbau beschrieben werden. Hierzu ist eine Skizze in Abb. 6.1d gezeigt. Es ist eine Ansicht aus der Vogelperspektive auf den Aufbau dargestellt. Die Zeichnung soll erklären, wie ein Lichtimpuls,

dessen zeitlich oszillierendes elektrisches Feld skizziert ist, auf die Spitze fokussiert wird. Zunächst wird mittels eines Periskops die Höhe angepasst und die Polarisationsrichtung entlang der AFM-Spitze (vertikal zur Probe) ausgerichtet. Ein Parabolspiegel fokussiert schließlich die Mittelinfrarotstrahlung auf die Spitze. Mit Hilfe einer piezoelektrisch verstellbaren Positioniereinheit kann der Parabolspiegel verfahren und damit der Fokus auf die Spitze angepasst werden.

Ein derartiger Aufbau ermöglicht aber nicht nur das Messen von lokalen Unterschieden der dielektrischen Funktion der Probe, sondern auch Anregungs-Abfrage-Experimente (engl.: pump-probe experiments). Im sichtbaren Licht wurde ein Anregungs-Abfrage-Experiment mittels PiFM bereits von Jahng *et al.* beschrieben [67]. Ein Anregungsimpuls erzeugt einen angeregten Zustand $|s_1\rangle$, welcher nach einer Zeit τ abgefragt wird. Bildlich ist ein Anregungs-Abfrage-Experiment in Abb. 6.1e dargestellt. Der zeitlich verschobene Abfrageimpuls versetzt das System nun in einen weiteren angeregten Zustand $|s_2\rangle$, falls der zuvor angeregte Zustand $|s_1\rangle$ noch nicht abgeklungen ist. Wird die zeitliche Verschiebung τ zwischen den Anregungs- und Abfrageimpulsen stetig verändert, so kann der zeitliche Verlauf gemessen werden.

Wie oder in welchem AFM-Kanal ein optisch induzierter Prozess beobachtet werden kann, ist von mehreren Faktoren abhängig. Grundlegend wird bei FM-AFM die Frequenzverschiebung gemessen, welche wiederum vom Kraftgradienten abhängt. Soll die Topographie einer Probe abgebildet werden, so wird durch eine Regelschleife die Frequenzverschiebung konstant gehalten und z verändert. Geht man davon aus, dass ein Laserstrahl auf die Spitze eingekoppelt wird und dieser eine thermische Ausdehnung von Probe und/oder Spitze verursacht, so würde der Höhenunterschied durch die Regelschleife kompensiert werden, vorausgesetzt die Regelung reagiert schnell genug. Geht man hingegen von einer Dipol-Dipol-Wechselwirkung aus, so verkompliziert sich die Situation. Ohne aktive Laserstrahlung kann das Spitzen-Proben-Potential durch ein Lennard-Jones-Potential beschrieben werden (siehe Kap. 2.1.1). Koppelt man Licht ein, so kann eine induzierte Dipol-Dipol-Wechselwirkung hervorgerufen werden. Unter dieser Annahme sind in Ref. [223], auf Basis des Punktdipolmodells, zwei unterschiedliche optisch induzierte Kräfte beschrieben. Es wird eine kurzreichweitige Gradientenkraft (engl.: gradient force), welche in der Regel attraktiv ist und mit $1/z^4$ skaliert, und eine langreichweitige und repulsive Streukraft (engl.: scattering force) berichtet.

Um zu klären, welche Auswirkungen Lichtimpulse, beziehungsweise die induzierten Kräfte, auf das AFM-Signal haben und wie diese detektiert werden können, soll die Betrachtung der Bewegungsgleich des Federbalkens helfen. Die Bewegungsgleichung eines getriebenen (unge-dämpften) harmonischen Oszillators, auf den eine Kraft $F_{ts,opt}(z(t))$ wirkt, lautet (vergleiche Gl.(2.11) im Kap. 2.2.1):

$$\ddot{z}(t) + \frac{k}{m^*}z(t) = \frac{F_1}{m^*} \cos(\omega_1 t + \varphi) + \frac{F_{ts,opt}(z(t))}{m^*}. \quad (6.1)$$

Der Sensor wird hier bei der Resonanzfrequenz $\omega_1 = 2\pi f_1$ der ersten Biegemode mit der

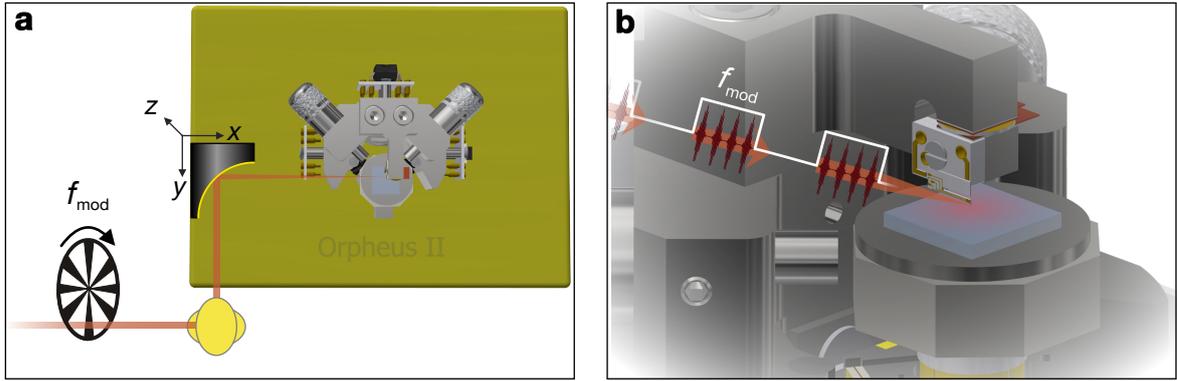


Abbildung 6.2.: Schematische Darstellung der Modulation des eingestrahlichten Lasers und der Detektion des modulierten Signals durch das AFM. (a) Aufbau aus der Vogelperspektive mit einem Modulator, der exemplarisch durch rotierende Sektorblenden dargestellt ist. (b) Vereinfachte Darstellung der modulierten Lichtimpulse, welche auf die Spitze und Probe auftreffen. Der gepulste Laser ist hier bei der Frequenz f_{mod} moduliert. Die Modulation ist durch die weiße Rechteckfunktion eingezeichnet.

Kraft F_1 getrieben. Die auf die Spitze und damit den Sensor wirkende Kraft wird durch $F_{\text{ts,opt}}(z(t)) = F_{\text{ts}}(z(t)) + F_{\text{opt}}(z(t))$ beschrieben, wobei hier $F_{\text{ts}}(z(t))$ die Spitzen-Proben-Kraft ohne eingestrahktes Licht ist und $F_{\text{opt}}(z(t))$ die zusätzliche optisch induzierte Kraft darstellt. Im Kap. 3.1.2 wurde bereits diskutiert, dass ein Federbalken auch in höheren Biegemoden schwingen kann. Unterschiedliche Biegemoden können zur unabhängigen Detektion verschiedener Signale verwendet werden [78]. Die Laserintensität, und damit $F_{\text{opt}}(z(t))$, wird hierzu bei der Resonanzfrequenz der n -ten Biegemode f_n moduliert. Daraus folgt, dass der Sensor bei seiner Resonanzfrequenz optisch getrieben wird. Die gemessene Amplitude A_n ist ein Maß für die optische Kraft. Die Bewegungsgleichung der n -ten Biegemode ist dabei:

$$\ddot{z}_n(t) + \frac{k_n}{m^*} z_n(t) = \frac{F_{\text{opt}}(z(t))}{m^*} \text{rect}(f_{\text{mod}}, t) + \frac{F_{\text{ts}}(z(t))}{m^*}. \quad (6.2)$$

Die Modulation des Lasers wird hier durch die Rechteckfunktion $\text{rect}(f_{\text{mod}} = f_n, t)$ dargestellt. Anschaulich ist der Aufbau und die Modulation des eingestrahlichten Lasers (aus der Vogelperspektive) in Abb. 6.2a gezeigt. Exemplarisch ist hier die Modulation durch rotierende Sektorblenden dargestellt. Diese Intensitätsmodulation ist nochmals genauer in Abb. 6.2b gezeigt. Die Lichtimpulse sind hier mit einem Rechtecksignal überlagert, das die Modulation der Intensität der Laserstrahlung mit der Frequenz f_{mod} symbolisiert. Gibt es eine durch den Laser induzierte Kraft, wird auch diese mit f_{mod} moduliert. Ist $f_{\text{mod}} = f_n$, führt dies zur resonanten Erregung der n -ten Biegemode. In der Folge ist die gemessene Amplitude A_n ein Maß für die optisch induzierte Kraft. Um simultan zur optischen Anregung der n -ten Biegemode des AFM-Sensors die Topographie aufzuzeichnen, muss die Frequenzverschiebung in einer anderen Biegemode Δf_n detektiert werden, welche als Regelgröße für die Höhenkontrolle dient. Eine weitere Möglichkeit der Höhenregelung wäre das simultane Messen eines

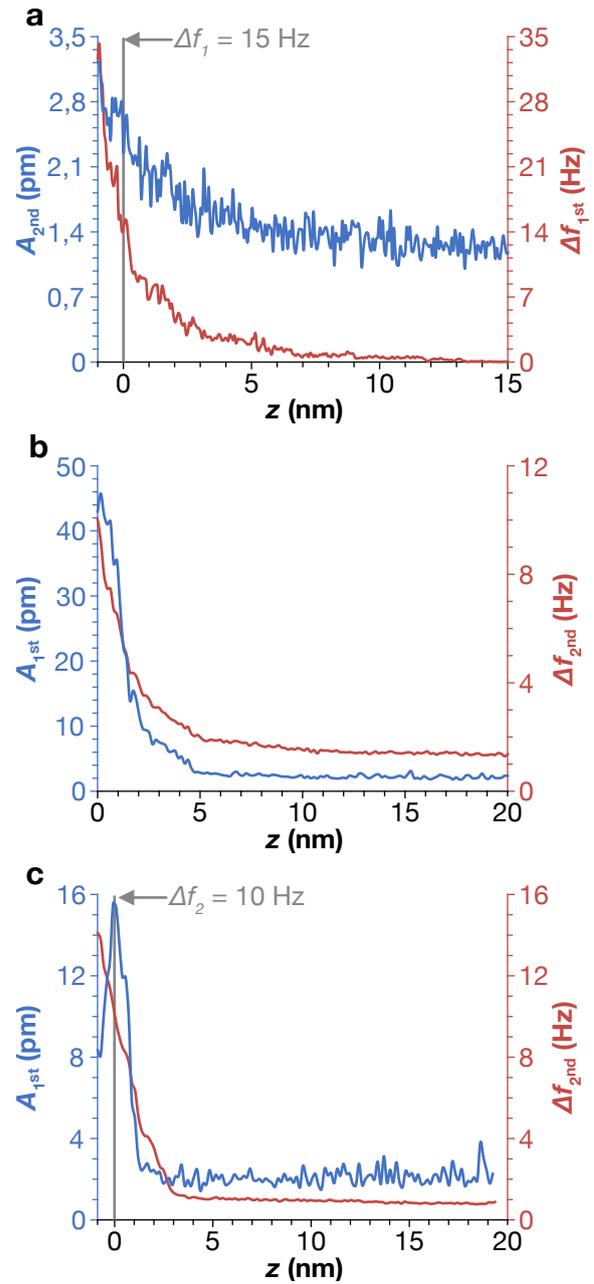
Tunnelstroms, so dass dieser als Parameter für die z -Regelung verwendet werden kann.

Mit der Erkenntnis, dass eine durch eine modulierte Laserstrahlung hervorgerufene optische Kraft mittels der resonanten Treibung einer Biegemode des Federbalkens gemessen werden kann, soll nun erläutert werden, dass mit einem solchen Messaufbau auch Anregungs-Abfrage-Experimente durchgeführt werden können, wie in Ref. [67] im sichtbaren Frequenzbereich demonstriert. Wie bereits zuvor beschrieben, werden bei einem solchen Experiment zwei unterschiedliche Laserimpulse, einer zum Anregen und einer zum Abfragen, benötigt. Sie werden mit den unterschiedlichen Frequenzen $f_{\text{mod},1}$ und $f_{\text{mod},2}$ moduliert. Ist die Differenzfrequenz $\Delta f_{\text{mod}} = |f_{\text{mod},1} - f_{\text{mod},2}|$ (oder die Summe aus beiden $\Delta f_{\text{mod}} = f_{\text{mod},1} + f_{\text{mod},2}$) gleich der Resonanzfrequenz einer Biegemode f_n des Sensors, so entsteht eine Modulation der Licht-induzierten Kräfte bei der Frequenz $\Delta f_{\text{mod}} = f_n$. Detektiert wird schließlich die Amplitude A_n . Anzumerken ist, dass weder die Modulationsfrequenz des Anregungsimpulses $f_{\text{mod},1}$ noch die des Abfrageimpulses $f_{\text{mod},2}$ mit einer Biegemode des Sensors koppelt.

In einer ersten experimentellen Testreihe in dieser Arbeit, welche nun vorgestellt wird, sollte sowohl die erste als auch die zweite Biegemode eines qPlus Sensors optisch angeregt werden. Verwendet wurde ein Yb:YAG- Laser mit einer Repetitionsrate von $f_{\text{Rep}} = 1,0025$ MHz, dessen Spektrum bei $\lambda = 1030$ nm zentriert war. Die 140 fs kurzen Impulse des Lasers wurden zur Erzeugung von Mittelinfrarotimpulsen mittels Differenzfrequenz-Generation verwendet. Hierzu wurde das Spektrum in einem nicht-linearen Kristall (LiGaS_2) mit dem Ausgangsspektrum eines optisch-parametrischen Verstärkungsprozesses gemischt (Zentralwellenlänge $\lambda_{\text{OPA}} = 1172$ nm) [226]. Die so generierten 64 fs kurzen Mittelinfrarotimpulse, deren Spektrum bei 35,6 THz zentriert war, wurden schließlich mittels eines akustooptischen Modulators bei der Frequenz f_{mod} moduliert und auf die Spitze fokussiert. Dies ist in der Abb. 6.2 illustriert. Die Leistung der Laserstrahlung, welche auf die Spitze auftrifft, wurde mit $P = 0,75$ mW abgeschätzt.

Um durch Licht-induzierte Kräfte eine Biegemode des qPlus Sensors resonant zu treiben, muss die Spitze zunächst nahe genug an der Probe sein, damit signifikante Kräfte wirken können. Dies ist unabhängig davon, ob die auf die Spitze wirkende Kraft durch thermische Ausdehnung oder durch eine Dipol-Dipol-Wechselwirkung hervorgerufen wird. Für die Messung wurde eine Goldprobe verwendet und als Spitzenmaterial wurde eine geätzte Wolframspitze (siehe Kap. 3.1.3) gewählt. Zu Beginn der Messungen wird die Spitze angenähert bis ein Δf -Sollwert erreicht ist. Dieser entspricht im Folgenden dem Referenzabstand $z = 0$. Detektiert wird schließlich die Amplitude A_n , welche mittels der modulierten Laserstrahlung, beziehungsweise der dadurch induzierten Kräfte, angeregt wird. In Abb. 6.3 werden Amplituden- und Δf -Abstandskurven gezeigt, welche die Abstandsabhängigkeit der optischen Kraft nachweisen sollen. Es ist jedoch anzumerken, dass hier die Modulationsfrequenz des Lasers manuell eingestellt wurde und deshalb die treibende Frequenz $f_{\text{mod}} := f_{\text{opt,treibend}}$ während der Messung konstant bleibt. Jedoch ändert sich in Abhängigkeit von der Spitzen-Proben-Wechselwirkung die Resonanzfrequenz der n -ten Biegemode f_n . Beim Referenzabstand $z = 0$ wird die Modula-

Abbildung 6.3: Optische Anregung der ersten oder zweiten Biegemode eines qPlus Sensors über einer Goldprobe. Die optische Anregung findet jeweils bei einer konstanten Frequenz $f_{\text{opt,treibend}} = f_{\text{mod}}$ statt. Abbildungsparameter: Wolframspitze, $f_{0,1\text{st}} = 22,6$ kHz, $f_{0,2\text{nd}} = 158,3$ kHz, $k_{1\text{st}} = 1,8$ kN/m, $k_{2\text{nd}} \sim 72$ kN/m. (a) Optisch angeregte Amplitude der zweiten Biegemode des qPlus Sensors (blau) als Funktion des relativen Abstandes zur Goldprobe. Der relative Nullpunkt ($z = 0$), oder auch Referenzabstand, entspricht hier dem Annäherungspunkt der geätzten Wolframspitze bis $\Delta f_{1\text{st}} = 15$ Hz ist. Zudem ist bei diesem Spitzen-Proben-Abstand $f_{\text{mod}} = f_{2\text{nd}}$. Das simultan zur Amplitude aufgezeichnete $\Delta f_{1\text{st}}$ -Abstandsspektrum ist in roter Farbe dargestellt. Die Amplitude der ersten Biegemode betrug $A_{1\text{st}} = 500$ pm. (b) Optische Anregung der ersten Biegemode in Abhängigkeit des relativen Spitzen-Proben-Abstands z . Beim relativen Abstand $z = 0$ gilt $f_{\text{mod}} = f_{1\text{st}}$. Die erste Biegemode wurde optisch bis zu einer Amplitude von $A_{1\text{st}} = 45$ pm angeregt. Die simultan mechanisch angeregte Amplitude der zweiten Biegemode betrug $A_{2\text{nd}} = 350$ pm. (c) Veranschaulichung der Problematik, wenn das optische Treiben der ersten Biegemode abseits deren Resonanzfrequenz $f_{1\text{st}}$ erfolgt. Beim Referenzabstand $z = 0$, der mit $\Delta f_{2\text{nd}} = 10$ Hz gewählt wurde, gilt $f_{\text{mod}} = f_{1\text{st}}$. Jedoch gilt bei $z < 0$ $\Delta f_{2\text{nd}} \neq 10$ Hz und die Amplitude bricht ein, trotz der stärkeren optischen Kraft in geringerem Spitzen-Proben-Abstand. Die hohe Güte der ersten Biegemode beträgt etwa 2700 und verstärkt diesen Effekt. Das simultan zur Amplitude aufgezeichnete $\Delta f_{2\text{nd}}$ -Abstandsspektrum ist in roter Farbe dargestellt. Die Amplitude der zweiten Biegemode betrug $A_{2\text{nd}} = 350$ pm.



tionsfrequenz angepasst bis das Signal maximal ist, sprich $f_n = f_{\text{mod}}$ gilt.

Bei den in Abb. 6.3a gezeigten Daten ist die optische Anregung der zweiten Biegemode zu sehen. Der Abstand zwischen Spitze und Probe wurde mittels der Frequenzverschiebung der ersten Biegemode $\Delta f_{1\text{st}}$ reguliert. In Abb. 6.3a wurde die Spitze auf den Sollwert $\Delta f_{1\text{st}} = 15$ Hz angenähert und an diesem Punkt wurde, wie zuvor beschrieben, die Modulationsfrequenz angepasst bis $A_{2\text{nd}}$ maximal ist. Bei $z = 0$ ist deshalb $f_{2\text{nd}} = f_{\text{mod}}$. In anderen Worten

wird einzig beim Referenzabstand $z = 0$ die zweite Biegemode resonant getrieben, da der Kraftgradient und in der Folge auch die Resonanzfrequenz abhängig vom Spitzen-Proben Abstand sind. Außerdem spielt hier die Güte $Q_{2\text{nd}} \approx 1110$ der zweiten Biegemode eine Rolle. Schließlich können die hier durchgeführten Messungen als eine Kombination aus FM-AFM und AM-AFM angesehen werden. Bei der ersten Biegemode wird hier die Frequenzverschiebung detektiert und demnach FM-AFM durchgeführt. Letztlich führt die etwa 40-fache Steifigkeit der zweiten Biegemode ($k \sim 72 \text{ kN/m}$) dazu, dass die optisch angeregte Amplitude in Abb. 6.3a maximal 3,5 pm beträgt. Außerdem ist in Abb. 6.3a, neben der Amplitude $A_{2\text{nd}}$ (blau) in Abhängigkeit des relativen Abstandes z , die simultan aufgezeichnete Frequenzverschiebung $\Delta f_{1\text{st}}$ (rot) dargestellt.

Als nächstes wird die optische Anregung der ersten Biegemode vorgestellt, wobei das Ziel war, ein größeres Signal und in der Folge auch ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis zu erhalten. Die in Abb. 6.3b gezeigte Anregung der ersten Biegemode offenbart, dass in der Tat die optischen Kräfte ausreichen, um bei einer Steifigkeit von 1,8 kN/m eine Amplitude von $A_{1\text{st}} = 45 \text{ pm}$ zu erreichen. Erneut sind in der Abbildung sowohl die Amplitude $A_{1\text{st}}$ in blauer Farbe als auch die Frequenzverschiebung $\Delta f_{2\text{nd}}$ in roter Farbe gezeigt.

Die Abb. 6.3c soll jedoch nochmals Bezug nehmen auf die zuvor geschilderte Problematik der konstanten Modulationsfrequenz. In geringerem Spitzen-Proben-Abstand wird erwartet, dass die optische Kraft stärker ist. Zugleich hat sich aber die Resonanzfrequenz $f_{1\text{nd}}$ verschoben und damit ist $f_{\text{mod}} \neq f_{1\text{st}}$. Deshalb bricht die optisch angeregte Amplitude für den relativen Abstand $z < 0$ wieder ein. Eine mögliche Erklärung für den bei der ersten Biegemode stärker ausgeprägten Effekt kann die höhere Güte der ersten Biegemode $Q_{1\text{st}} \approx 2700$ im Vergleich zur zweiten Biegemode $Q_{2\text{nd}} \approx 1100$ sein.

Eine weitere Problematik des hier verwendeten Messprinzips tritt auf, wenn über eine Probe gerastert und gleichzeitig lokale Unterschiede der optisch induzierten Kräfte gemessen werden sollen. Denn bei bimodalen Messungen ist zu beachten, dass hier zwei Biegemoden angeregt werden und so ist die z -Position der Spitze, also die effektive Auslenkung des Sensors, eine Superposition aller Biegemoden. Deshalb wird die zeitlich abhängige z -Position $z(t)$ beschrieben durch die Summe aller Biegemoden und der statischen Auslenkung z_0 :

$$z(t) = \sum_{n=0}^{\infty} z_n(t) . \quad (6.3)$$

In Ref. [10] wurde bereits diskutiert, dass das örtliche Auflösungsvermögen bei bimodalen Messungen abhängig von der Summe der Amplituden der beiden Biegemoden ist. Um eine hohe Sensitivität zu den kurzreichweitigen Kräften zu haben, ist eine Amplitude in der Größenordnung der Abklinglänge der zu messenden Kräfte wichtig [59]. In der Folge hat eine optisch angeregte Amplitude A_n einen Einfluss auf die in einer anderen Biegemode detektierte Frequenzverschiebung $\Delta f_{n'}$ ($n \neq n'$), weshalb eine aktive Höhenregelung den Spitzen-Proben-Abstand anpasst, um $\Delta f_{n'}$ konstant zu halten. Dies beeinflusst wiederum

die Stärke der optischen Kraft. Ferner kommt hinzu, dass die Messung von A_n auch durch dissipative Kräfte beeinflusst werden kann. So können beispielsweise Adsorbatfilme auf der Probe eine lokale Änderung der Amplitude verursachen.

Letztlich konnte mit den soeben vorgestellten Amplituden-Abstandskurven nachgewiesen werden, dass ein Licht-induziertes Signal gemessen werden kann. Neben den aufgezählten Problemen oder Herausforderungen steht die Frage im Raum, ob thermische Ausdehnung ein Grund für die optische Anregung sein kann. Aus diesem Grund sollen nun weitere vorläufige Messungen vorgestellt werden, die die genannten Probleme durch ein anderes Messprinzip umgehen und prüfen sollen, ob thermische Ausdehnung detektiert wird.

Die Idee der im Folgenden erklärten Messungen³ ist, die spektrale Signatur der gemessenen optisch induzierten Kraft zu untersuchen. Dafür wird die Wellenlänge λ einer schmalbandigen quasi-monochromatischen Laserwelle über einen bestimmten Wellenlängenbereich durchgestimmt und das AFM-Signal gegen λ , bzw. die Frequenz ν , aufgetragen. Anfangs des Kapitels wurde bereits erwähnt, dass derartige Spektroskopien typischerweise als AFM-IR bezeichnet werden. Verwendet wurde ein Quantenkaskadenlaser (engl.: quantum cascade laser, QCL) dessen Frequenz von 27,3 THz bis 35,6 THz durchstimmbare ist. Mittels des piezoelektrisch verstellbaren Parabolspiegels wurde die Laserstrahlung auf die Spitze des Rasterkraftmikroskops fokussiert. Als Probe wurde ein Quarz-Rohling eines qPlus Sensors verwendet. Bei Quarz sind im Frequenzbereich des QCLs optisch aktive Phononen (bei $\nu_1 = 32,13$ THz, $\nu_2 = 32,38$ THz und $\nu_3 = 34,87$ THz) zu erwarten [227, 228]. Quarz ist kristallines Siliziumdioxid SiO_2 , wobei für Anwendungen, wie z.B. Stimmgabeln, sogenanntes α -Quarz verwendet wird. Dessen Kristallstruktur ist trigonal-trapezoidisch [229]. Die Struktur ist in der rechten oberen Ecke der Abb. 6.4a gezeigt [229, 230]. Hier stimmt die x -Achse mit der kristallographischen a -Richtung und die z -Achse mit der kristallographischen c -Achse überein. Da Quarz ein anisotropes Material ist, sind u.a. die piezoelektrischen Konstanten und die thermischen Ausdehnungskoeffizienten abhängig von der Orientierung (relativ zu den Kristallachsen). Für den Verwendungszweck in Uhren wird die Temperaturabhängigkeit der Resonanzfrequenz angepasst, weshalb Quarz-Stimmgabeln typischerweise in einem 0° bis 5° Winkel zur y' -Achse geschnitten sind. Deshalb sind die Achsen des Quarz-Rohlings in Abb. 6.4a mit x, y und z bezeichnet. Der QCL selbst wird mit einer Repetitionsrate von 300 kHz und einer Impulsdauer $\tau = 1 \mu\text{s}$ betrieben. Diese Frequenz liegt weit genug von allen Biegemoden des qPlus Sensors entfernt. Nimmt man an, dass es zu einer thermischen Ausdehnung kommt, so wird im topographischen AFM-Modus die Höhendifferenz zwischen „Laser an“ und „Laser aus“ sichtbar. Wird die Laserstrahlung nochmals bei einer deutlich geringeren Frequenz f_{mod} mittels rotierenden Sektorblenden moduliert, so ergibt sich eine Modulation des Spitzen-Proben-Abstands, wie sie in Abb. 6.4b anschaulich gezeigt ist. Eine sogenannte hintergrundfreie Messung ist möglich, wenn das hier mit f_{mod} modulierte z -Signal bei dieser Frequenz wieder mit Hilfe eines Lock-in

³Bei den folgenden Messungen auf Quarz haben sowohl Michael Poloczek als auch Mia Seitz beigetragen, ersterer als Projekt-Praktikant und letztere als Bachelorandin.

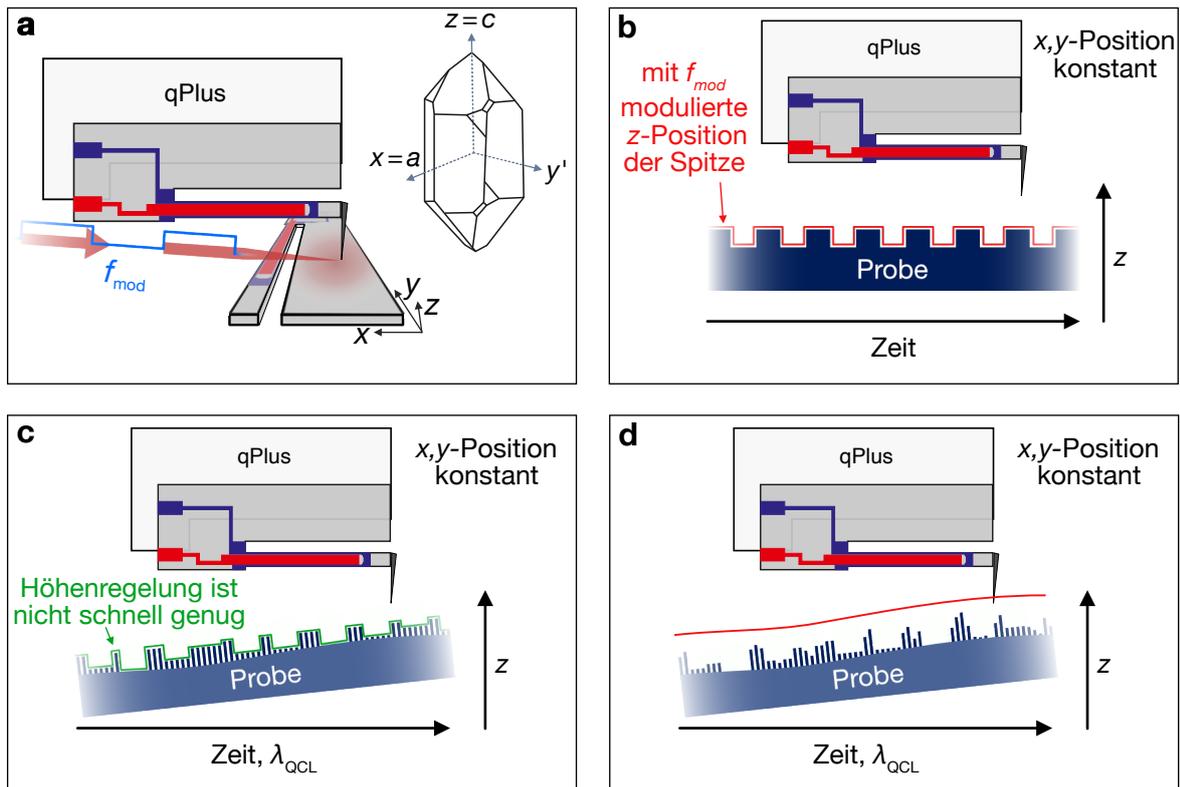


Abbildung 6.4.: Messung von thermischer Ausdehnung mittels FM-AFM. (a) Illustration der Einstrahlung von gepulster Laserstrahlung, welche zudem mit der Frequenz f_{mod} moduliert ist. Als Probe wird ein Quarz-Rohling eines qPlus Sensors verwendet. Auf der rechten Seite ist die Struktur von Quarz mit eingezeichneten Kristallachsen zu sehen. (b) Vereinfachte Darstellung des erwarteten z -Signals an einer konstanten x,y -Position, wenn eine thermische Ausdehnung bei der Frequenz f_{mod} auftritt. (c) Um das optisch induzierte Signal von thermischer Drift unterscheiden zu können, muss f_{mod} groß genug sein. Hier dargestellt ist die Problematik, dass die Bandbreite der Höhenregelung nicht groß genug ist. Die Spitze folgt in diesem Fall nicht mehr der schnellen Höhenänderung, wobei sich die Zeitachse im Bild von der in Teilbild (b) unterscheidet. (d) Hintergrundfreie Messung der wellenlängenabhängigen thermischen Ausdehnung. Die Spitze befindet sich in quasi-konstanter Höhe und das Δf Signal wird aufgezeichnet. Eine Demodulation von Δf bei f_{mod} offenbart die optisch induzierte Änderung.

Verstärkers demoduliert wird. Bei den Messungen und den Illustrationen in der Abb. 6.4 ist die laterale Position der Spitze konstant. Ruft man sich nochmals in Erinnerung, dass thermische Drift auch ohne eine optisch induzierte Ausdehnung der Probe in Erscheinung tritt (siehe Kap. 3.2.5), dann ist es wichtig, dass die Licht-induzierte Ausdehnung schneller moduliert ist als die thermische Drift. Sonst ist das Signal von Drift und Licht-induzierter thermischer Ausdehnung schwer zu unterscheiden. Dies ist insbesondere wichtig, wenn die Wellenlänge des QCLs verstimmte werden soll, um eine Wellenlängenabhängigkeit der Ausdehnung der Probe zu beobachten. Diese Messungen können sich über mehrere Minuten hinziehen. Wird die Messung im topographischen Modus durchgeführt, so wird zwar die thermische Drift

6. Ausblick auf ein Lichtfeld-induziertes Rasterkraftmikroskop

und eine Verkipfung der Probe kompensiert, aber zugleich kann es sein, dass die Höhenregelung nicht schnell genug ist, um der mit f_{mod} modulierten Ausdehnung der Probe folgen zu können. Dies ist in Abb. 6.4c vereinfacht skizziert. Die hier gewollte Lösung ist eine noch deutlich langsamere Höhenregelung, um nur noch die vergleichsweise langsame thermische Drift zu kompensieren. Dies wurde bereits mehrfach in dieser Arbeit als quasi-konstante Höhe bezeichnet. In diesem Fall folgt die Spitze der in Abb. 6.4d rot eingezeichneten Linie. Das optisch induzierte Signal ist dann im Kanal der Frequenzverschiebung Δf sichtbar. Somit muss für diese Art der Detektion die Modulation schneller als z und langsamer als der Phasenregler sein. Die gewählte Modulationsfrequenz war $f_{\text{mod}} = 167$ Hz. Typischerweise wird bei FM-AFM bei Raumtemperatur eine Bandbreite von $B = 100$ Hz für den Phasenregler verwendet. Jedoch muss B größer als die Modulationsfrequenz der Laserstrahlung sein, wobei anzumerken ist, dass die Erhöhung der Bandbreite B auch das Detektorrauschen negativ beeinflusst, was bereits im Kap. 4 näher diskutiert wurde. Bei den im Folgenden gezeigten Daten betrug $B = 500$ Hz. Wird schließlich Δf bei der Frequenz f_{mod} demoduliert, so ist eine hintergrundfreie Messung der thermischen Ausdehnung möglich.

Für die experimentellen Messungen wurde ein qPlus Sensor mit einer geätzten Wolframspitze verwendet und ein Quarz-Rohling eines qPlus Sensors auf den Probenhalter aufgeklebt. Die abgebildete Topographie von Quarz ist in Abb. 6.5a zu sehen. Auffällig ist eine Vielzahl von wenige Nanometer tiefen Löchern, welche im Falschfarbenbild in dunklerer Farbe dargestellt sind. Ebenso gibt es genauso hohe Erhebungen, welche als hellere Punkte zu sehen sind. Die Spitze wurde auf einer flachen Terrasse positioniert und mit dem Quantenkaskadenlaser wurde die Wellenlänge des eingestrahlten Lichts verstimmt. In quasi-konstanter Höhe ist schließlich Δf in Abhängigkeit von der Frequenz des QCLs ν_{QCL} aufgezeichnet worden. Angewandt wurde das Messprinzip, welches bereits in Abb. 6.4c und im zugehörigen Text erläutert wurde. Um ein hintergrundfreies Signal auftragen zu können, wurde Δf bei f_{mod} mittels eines Lock-in-Verstärkers demoduliert, was im Folgenden als Δf_{demod} bezeichnet wird. Die Messung wurde zudem für eine Vielzahl von eingestrahlten Leistungen wiederholt. Um einen besseren Vergleich zu ermöglichen, sind in Abb. 6.5b die auf die Leistung P normierten Daten, sprich $\Delta f_{\text{demod}}/P$, dargestellt. Die nicht-normierten Daten sind im Anhang A.5 zu finden. Aus der Abb. 6.5b ist ersichtlich, dass sich qualitativ das Verhalten für alle eingestrahlten Leistungen von 0,2 mW bis 3,5 mW gleicht. Das heißt, dass das detektierte Signal linear mit der Leistung und der Intensität der Laserstrahlung skaliert. Dies lässt auf eine thermische Ausdehnung der Probe schließen. Bei näherer Betrachtung des spektralen Verlaufs fällt auf, dass Δf_{demod} zwischen 31 THz und 32 THz eine Stufenkante aufweist. Bei ungefähr 34,7 THz ist eine schmalbandige Spitze zu sehen. Eine Reflexionsmessung sollte überprüfen, ob das gemessene Signal auf eine wellenlängenabhängige Absorption der Strahlung zurückzuführen ist. Der Aufbau ist in der Abb. 6.5c gezeigt. Der Laserstrahl wird hier über einen Parabolspiegel auf die zu vermessende Probe fokussiert und der reflektierte Anteil der Strahlung wird mit einem Leistungsmessgerät detektiert. Als Referenz wird eine Goldprobe verwendet, da das

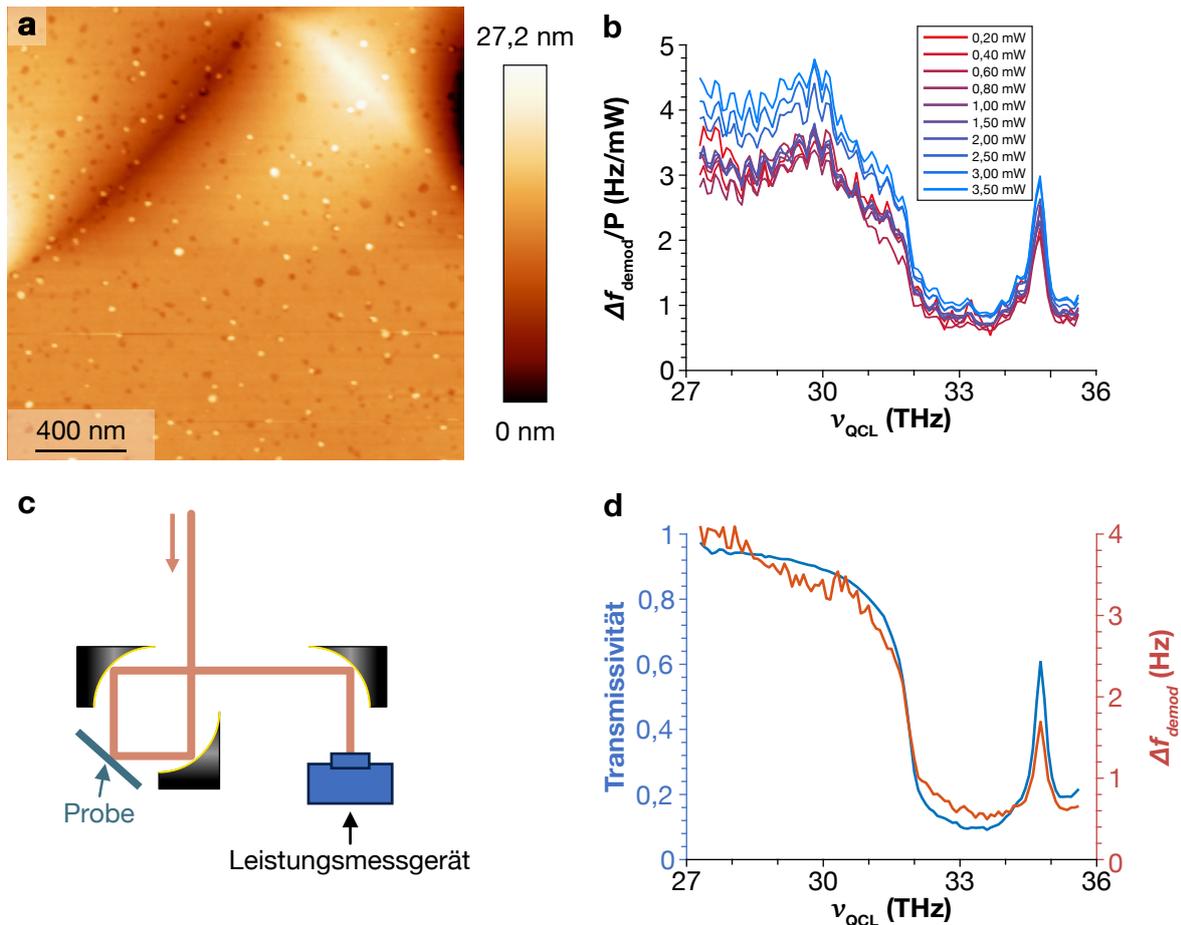


Abbildung 6.5.: FM-AFM-basierte Infrarotspektroskopie auf dem Quarz-Rohling eines qPlus Sensors. (a) Mit dem AFM abgebildete Topographie der Quarzprobe. Sichtbar ist eine Vielzahl von bis zu wenige Nanometer tiefen Defekten, welche im Falschfarbenbild dunklere Stellen sind. Die helleren Punkte auf der Probe sind hingegen bis zu wenige Nanometer hoch. Abbildungsparameter: Wolframspitze, $f_0 = 37,1$ kHz, $k = 3,5$ kN/m, $\Delta f = 20$ Hz und $A = 300$ pm. (b) Bei der Modulationsfrequenz des QCLs f_{mod} detektierter Frequenzkontrast, welcher in quasi-konstanter Höhe aufgezeichnet wurde. Die demodulierte Frequenzverschiebung Δf_{demod} ist über einen weiten Bereich der Leistung in Abhängigkeit von der Frequenz ν_{QCL} des QCLs aufgezeichnet worden. Gezeigt ist die auf die Leistung P normierte Frequenzverschiebung $\Delta f_{\text{demod}}/P$. Abbildungsparameter: Wolframspitze, quasi-konstante Höhe, $f_0 = 26,1$ kHz, $k = 1,8$ kN/m, $\Delta f = 30$ Hz und $A = 300$ pm. (c) Aufbau zur Messung der Reflektivität des Quarz-Rohlings. Die Frequenz des QCLs wird durchgestimmt und der reflektierte Anteil wird mit einem Leistungsmessgerät detektiert. (d) Überlagerung von gemessener Transmissivität der Probe (blaue Linie) mit dem detektierten Kontrast der Frequenzverschiebung Δf_{demod} (rote Linie). Abbildungsparameter: Wolframspitze, quasi-konstante Höhe, $P = 0,5$ mW, $f_0 = 26,1$ kHz, $k = 1,8$ kN/m, $\Delta f = 10$ Hz und $A = 300$ pm.

Reflexionsverhalten von Gold im gewählten Spektralbereich näherungsweise flach ist und nahezu die vollständige eingestrahelte Leistung reflektiert wird. Zur Auswertung der mit dem Quarz-Rohling gemessenen Reflexion wird der vom Quarz reflektierte Anteil durch den von

der Goldprobe reflektierten Anteil dividiert. Die an der ersten Grenzfläche von Luft und Quarz transmittierte Leistung folgt mit $T = 1 - R$. Stellt man, wie in Abb. 6.5d, die Transmissivität $T = 1 - R$ (blau) zusammen mit den Messdaten für Δf_{demod} (rot) dar, so sticht deren qualitative Ähnlichkeit ins Auge. Zurückzuführen ist das Reflexionsverhalten von Quarz auf den allgemeinen Zusammenhang:

$$R = \frac{|n - 1|^2}{|n + 1|^2}, \quad (6.4)$$

wobei hier n der komplexe Brechungsindex ist. Hierbei ist n von der komplexen dielektrischen Funktion abhängig, welche für Quarz in den Ref. [227, 231] gemessen wurde. Die dielektrische Funktion ε ist eine Superposition von Lorentzoszillatoren, wobei jeder ein Phonon mit Resonanzfrequenz, Oszillatorstärke und Güte darstellt. Die in den Ref. [227, 231] bestimmte Reflektivität ist in Einklang mit der in dieser Arbeit gemessenen. Aufgrund der Übereinstimmung der an der Grenzfläche zur Probe transmittierten Leistung mit der gemessenen Frequenzverschiebung kann darauf geschlossen werden, dass die gesamte transmittierte Leistung in thermische Engie übergeht und so die Probe in Abhängigkeit von der Wellenlänge ausgedehnt wird.

6.2. Diskussion und Zusammenfassung

Die Kombination von Ultrakurzzeitphysik und Rasterkraftmikroskopie verspricht ein großes Potential, um eine hohe zeitliche Auflösung mit einer guten räumlichen Auflösung zu vereinen. In diesem Kapitel wurde soeben ein Ausblick auf den derzeitigen Stand des Projekts gegeben. Eine anfängliche Herausforderung bestand darin, ein Rasterkraftmikroskop zu entwickeln, das einen verbesserten Zugang zu Spitze und Probe bietet, um mit einem Parabolspiegel Laserstrahlung auf die Spitze und Probe fokussieren zu können. Deshalb wurde eine ausführliche Beschreibung der Konstruktion eines kombinierten Rasterkraft- und Rastertunnelmikroskops im Kap. 3.2 abgehandelt.

Die in diesem Kapitel präsentierten Messungen konzentrierten sich zunächst auf den Nachweis, dass durch optisch induzierte Kräfte sowohl die erste als auch die zweite Biegemode des qPlus Sensors getrieben werden kann. Verbesserungswürdig an der Umsetzung war, dass die optisch angeregte Biegemode bei einer konstanten Frequenz getrieben wurde. Die Abstandsregelung zwischen Spitze und Probe erfolgte im FM-AFM Modus mittels der mechanisch getriebenen Biegemode. Die optisch induzierte Kraft ist jedoch abhängig vom Spitzen-Proben-Abstand. Dies ist unabhängig davon, ob dies Pauli-Repulsion aufgrund von thermischer Ausdehnung ist, oder eine induzierte Dipol-Dipol-Wechselwirkung. Letztlich konnte aus den Messungen mitgenommen werden, dass der qPlus Sensor optisch getrieben werden kann, aber eine Aussage über einen gemessenen Kontrast der optisch getriebenen Amplitude (v.a. beim Rastern über die Probe) nur bedingt möglich ist.

Ein weiterer optischer Aufbau hat sich deshalb darauf fokussiert, die spektrale Signatur von Quarz zu bestimmen. Hierzu wurde ein Quarz-Rohling eines qPlus Sensors als Probe verwendet. Das Messprinzip ähnelt der am Anfang des Kapitels beschriebenen AFM-IR. Ein Quantenkaskadenlaser mit durchstimmbarer optischer Frequenz wurde verwendet, um das Antwortverhalten der Phononen im Quarzkristall, im Frequenzbereich von 27,3 THz bis 35,6 THz, zu untersuchen. Die Antwort der Quarzprobe wurde mit dem Rasterkraftmikroskop, auf einem konstanten Ort der Probe, mittels der Frequenzverschiebung in quasi-konstanter Höhe gemessen. Um eine hintergrundfreie Messung zu ermöglichen, wurde der QCL bei einer Frequenz f_{mod} moduliert, weshalb es zu einer Modulation der gemessenen Frequenzverschiebung Δf kommt. Eine Demodulation von Δf bei f_{mod} sorgte so dafür, dass ein Frequenzkontrast von wenigen hundert Millihertz gemessen werden konnte (siehe Abb. 6.5). Außerdem zeigte sich, dass die detektierte Frequenzverschiebung linear mit der Leistung, beziehungsweise der Intensität, der Laserstrahlung einhergeht. Dies legt eine thermische Ausdehnung der Probe nahe. Das so verschobene Spitzen-Proben-Potential führt dazu, dass sich ein Δf_{demod} Kontrast ergibt. Zum Nachweis, dass die Ergebnisse auf die Anregung von kollektiven Gitterschwingungen zurückzuführen sind, wurde die Reflektivität von Quarz bestimmt. Es konnte gezeigt werden, dass die Transmissivität ($T = 1 - R$) (durch die Oberfläche der Quarzprobe) qualitativ mit den AFM-Messungen übereinstimmt. Die Reflektivität ist hier durch die dielektrische Funktion von Quarz bestimmt, welche wiederum von der Resonanzfrequenz der Phononen abhängt [227, 231]. Es wird angenommen, dass es in der Folge der optischen Anregung der Phononen zu einer Dissipation der Energie kommt. Dies hat zur Folge, dass sich der Quarzkristall thermisch ausdehnt. Zur Bestimmung der Größenordnung der (maximalen) thermischen Ausdehnung wurde in einem weiteren Experiment der QCL im Dauerstrich mit einer Leistung von etwa 1 mW betrieben. Durch das Blocken und Entblocken des Laserstrahls, bei aktiver Spitzen-Proben-Abstandsregelung, konnte eine Höhendifferenz von etwa 3 nm gemessen werden. Betrachtet man die lineare thermische Ausdehnung eines Festkörpers der Dicke D , so ergibt sich bei einer Temperaturänderung ΔT eine Längenänderung $\Delta D = \alpha \cdot D_0 \cdot \Delta T$. Dabei ist α der materialspezifische Längenausdehnungskoeffizient und D_0 die ursprüngliche Dicke. Bei Quarz beträgt $\alpha = 7,5 \times 10^{-6} \text{ K}^{-1}$ (bei 25 °C und parallel zur c -Achse [229]) und bei dem hier verwendeten Quarz-Rohling eines qPlus Sensors ist $D_0 = 127 \mu\text{m}$. Eine Ausdehnung von 3,0 nm ist somit auf eine Temperaturänderung $\Delta T = 3,1 \text{ °C}$ zurückzuführen. Daraus folgt, dass bei Festkörpern geringer Dicke oder gar bei Monolagen nur eine deutlich abgeschwächte thermische Ausdehnung zu erwarten ist. Dies kann in Zukunft bewusst verwendet werden, wenn Effekte abseits von thermischer Ausdehnung gemessen werden sollen.

Ferner sollen an dieser Stelle noch geplante Verbesserungen am Aufbau und den Methoden diskutiert werden. Eine Herausforderung, welche im bisherigen Text noch keine Erwähnung fand, ist die Fokussierung der Laserstrahlung auf die Spitze. Bisher wurde der Parabolspiegel zunächst grob positioniert bis die Streuung der Laserstrahlung an der Spitze maximal war. Hierzu wurde das Reflexionsbild auf der Probe mit dem Auge betrachtet. Die Feinpositionierung

6. Ausblick auf ein Lichtfeld-induziertes Rasterkraftmikroskop

erfolgte anschließend mit der piezoelektrisch verfahrbaren Positioniereinheit, bis das detektierte AFM-Signal maximal war. Eine adäquate Kamera mit Zoom-Objektiv ist deshalb als eine Verbesserung angedacht. Des Weiteren stellte sich heraus, dass mit den elektrochemisch geätzten Wolfram- oder Platin-Iridium-Spitzen keine Tunnelströme detektiert werden konnten. Es wird angenommen, dass sich eine isolierende Oxidschicht auf den Spitzen ausgebildet hat. Jedoch sind metallische Spitzen notwendig, um eine hohe Feldüberhöhung zu erreichen [232]. Im Vergleich mit geschnittenen Spitzen haben geätzte Spitzen den Vorteil einer reproduzierbar scharfen Spitzengeometrie. In Zukunft besteht zum einen die Möglichkeit, das Ätzprotokoll zu überarbeiten, um eine Oxidation während des Ätzvorgangs zu verhindern oder zum anderen die Spitzen nachträglich zu behandeln. Hier stehen beispielsweise die Feldemission oder eine Ionenfeinstrahlanlage zur Verfügung.

Abschließend wurde in diesem Kapitel ein erster Ausblick auf ein Lichtfeld-induziertes Rasterkraftmikroskop gegeben. Außerdem hat sich die Stabilität des im Kap. 3.2 beschriebene Rasterkraftmikroskops nicht nur bewährt, sondern es konnten auch erfolgreich optisch induzierte Kräfte gemessen werden. Die in diesem Kapitel geschilderten Messungen legen damit die Grundlage für die nächsten instrumentellen Verbesserungen mit dem Ziel, atomare Auflösung an Luft mit Femtosekunden-Zeitauflösung zu kombinieren.

7. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit setzt sich aus mehreren Teilen zusammen, welche im Folgenden nochmals zusammengefasst werden. Deren grobe Unterteilung erfolgt in einen instrumentellen Teil (Kapitel 3), in Rasterkraftmikroskopie-Studien an Luft oder in Flüssigkeiten (Kapitel 4 und 5) und in das zum Abschluss der Arbeit vorgestellte Konzept eines Lichtfeld-induzierten Rasterkraftmikroskops (Kapitel 6).

Im Kapitel 3 wurde ein neues AFM für Messungen in Umgebungsbedingungen vorgestellt. Das Ziel der Neuentwicklung war, eine Kombination mit Lichtmikroskopen und ultraschneller Optik zu ermöglichen. Bisherige Experimente an Luft und in Flüssigkeiten wurden mit Mikroskopen durchgeführt, die ursprünglich für die Verwendung in Ultrahochvakuumkammern entwickelt wurden. Die Mikroskopköpfe sind in der Regel von äußeren Schwingungen entkoppelt und weisen eine hohe Stabilität auf. Jedoch ist typischerweise ein freier optischer Zugang zu Spitze und Probe in Vakuumkammern nicht relevant, weshalb auch bei Messungen an Luft die Kombination mit optischen Instrumenten nur begrenzt möglich ist. Das in dieser Arbeit aufgebaute kombinierte Rasterkraft- und Rastertunnelmikroskop soll zum einen die Stabilität vorheriger Mikroskope erhalten und zum anderen einen freien optischen Zugang zu Spitze und Probe ermöglichen. Außerdem war eine Voraussetzung für die Kombination mit ultraschneller Optik, dass die Position der Spitze innerhalb des Laserfokus konstant bleibt. Deshalb wurde ein Mikroskop auf Basis eines Probenscanners aufgebaut. Das grundsätzliche Design des Mikroskopkopfes orientierte sich hier weitgehend an dem in Ref. [100] konzipierten Tieftemperatur-Rasterkraftmikroskop. Der Aufbau des in Einzelteile untergliederten Mikroskops wurde im Kapitel im Detail besprochen. Die Eigenmoden des Metallarms, auf den der qPlus Sensor aufgeschraubt ist, wurden explizit untersucht. Dynamische Simulationen des gesamten Sensorhalters, auf Basis der Methode der finiten Elemente, offenbarten Eigenfrequenzen bei 17,8 kHz, 30,4 kHz und 64,4 kHz. Obwohl diese in der Nähe der Resonanzfrequenzen eines qPlus Sensors mit Spitze liegen können, wurde aufgrund der besonders in Umgebungsbedingungen zu erwartenden hohen Dämpfung, und damit geringen Güten, gefolgert, dass keine Versteifung oder Veränderung des Sensorhalters notwendig ist. Dies wurde durch die Evaluation der Stabilität und des Auflösungsvermögens des Mikroskops deutlich. Hierzu wurde ein Testgitter, bestehend aus Siliziumdioxid- und Gold-Quadraten auf einem Silizium-Substrat, kontinuierlich abgerastert. Ein Vergleich von unterschiedlichen Aufnahmen konnte nicht nur zur Analyse der Nichtlinearität, der Hysterese und des Kriechens des zur Feinpositionierung verwendeten Röhrenpiezos verwendet werden, sondern auch zur Bestimmung der thermischen Drift. Die so bestimmte thermische Driftgeschwindigkeit ist

7. Zusammenfassung

$< 0,2 \text{ nm/min}$ in alle Raumrichtungen. Außerdem demonstrierten Messungen auf Muskovit und Graphit, dass atomare Auflösung sowohl im AFM- als auch im STM-Modus möglich ist. Ferner ist am Mikroskop ein Stromverstärker montiert, der es ermöglicht, eine elektrische Spannung an die Spitze anzulegen und gleichzeitig einen Strom an der Spitze zu messen. Dadurch können elektrochemische Signale aufgezeichnet werden. Zur Demonstration und um einen Ausblick auf zukünftige Messungen zu gewähren, wurde eine Cyclovoltammetrie durchgeführt. Die elektrochemische Rastermikroskopie, auch bereits in Kombination mit einem AFM, ist von besonderem Interesse in der Batterieforschung [233–236]. Diese gewinnt vermehrt an Bedeutung, auch im Hinblick auf das ökologische Ziel die derzeitigen CO_2 -Emissionen zu verringern, indem Strom aus erneuerbaren Energiequellen gewonnen und gespeichert wird. Neben diesem Forschungsbereich ist die Kombination von AFM mit SECM auch in Biologie von Interesse, denn so kann beispielsweise die Aktivität von Enzymen untersucht werden [237, 238].

Ferner hat sich ein großer Teil der Arbeit mit der hochauflösenden Abbildung von biologischen Proben in Flüssigkeiten beschäftigt. Den in Kapitel 4 zusammengetragenen Ergebnissen geht die Entwicklung einer Flüssigkeitszelle voraus, welche im Kapitel 3 näher beschrieben wurde. Verglichen mit den in Ref. [63] beschriebenen Messungen in einem Flüssigkeitstropfen, ermöglicht die neue Wanne eine längere Messzeit und kontrolliertere wässrige Umgebungen, da sie ein größeres Volumen hält, welches nicht so schnell verdunstet. In Kapitel 3 wurde zudem ein Ausblick auf eine abgedeckte Wanne gezeigt. In den Deckel ist dabei ein kleines Loch geschnitten, da bei Messungen mit qPlus Sensoren nur die Spitze in die Flüssigkeit eintaucht und nicht der komplette Sensor. Dass nur die Spitze eintaucht, ist der elektrischen Detektion der qPlus Sensoren geschuldet, da ionische Lösungen einen Kurzschluss erzeugen würden. Im Rahmen der Arbeit wurden Messungen in der Flüssigkeitszelle (ohne Deckel) durchgeführt. Außerdem wurde das Resonanzverhalten in Abhängigkeit von der Eintauchtiefe der Spitze in die Flüssigkeit ausgewertet. Es zeigte sich, dass bei Messungen mit steifen qPlus Sensoren in Flüssigkeiten eine einzelne Resonanzspitze erhalten bleibt. Für die Phasenregelung der Frequenzmodulations-Rasterkraftmikroskopie ist hier von Bedeutung, dass die Phase zwischen treibendem und gemessenem Signal auch in Flüssigkeiten stets monoton verläuft. Dies wurde für alle Tiefen bestätigt. Ferner wurde auch die Güte der Schwingung aus den Resonanzkurven bei den verschiedenen Eintauchtiefen in Wasser bestimmt. Die Güte des verwendeten Sensors betrug an Luft etwa 1600 und fiel zunächst exponentiell mit zunehmender Tiefe ab. Bei einer Tiefe von $700 \mu\text{m}$ näherte sich die Güte einem Wert von 300. Eine Auswertung des minimalen detektierbaren Kraftgradienten $\delta\langle k_{ts} \rangle_{\min}$ zeigte, dass dieser in Flüssigkeiten in einer Größenordnung von 50 mN/m liegt und ein ähnliches Niveau erreicht, wie das eines auf Silizium-Sensoren basierten AFMs. Jedoch zeigte die Auswertung von $\delta\langle k_{ts} \rangle_{\min}$ in Abhängigkeit von der Bandbreite B , dass die Rastergeschwindigkeit bei qPlus Sensoren nicht annähernd so schnell gewählt werden kann wie bei den weichen Silizium-Sensoren. Zurückzuführen ist dies auf das Detektorrauschen, das schneller mit B wächst als das thermische Rauschen

und das Oszillatorrauschen. Beim verwendeten qPlus Sensor wurde das Detektorrauschen ab einem Wert von etwa $B = 300$ Hz dominant. Ferner wurde in dieser Arbeit der Nachweis erbracht, dass atomare Auflösung in unterschiedlichen biologisch-relevanten Flüssigkeiten erreicht werden kann. Hierzu wurde die Honigwabenstruktur von Muskovit in Wasser, in der Pufferlösung Tris-HCl und in dem Zellkulturmedium HAM abgebildet. Letztere Lösung wies eine nicht-transparente rosa Färbung auf, was aufgrund der elektrischen Detektion der AFM-Signale bei qPlus Sensoren unproblematisch ist. Dies zeigt, dass beispielsweise Blutzellen in Blut abgebildet werden könnten, vorausgesetzt die Zellen sind auf einem Substrat immobilisiert. Bevor sich Studien auf solch komplexere biologische Proben fokussieren, wurde im Rahmen dieser Arbeit außerdem gezeigt, dass biologische Proben trotz der hohen Steifigkeit der qPlus Sensoren abgebildet werden können, ohne dabei Schaden zu nehmen. Die ausgewählten Proben wurden auf einem Substrat immobilisiert, was ebenso diskutiert wurde. Ein Teil des Kapitels konzentrierte sich auf die Abbildung von einzelnen DNA-Strängen und von DNA-Origami. Die einzelnen Stränge wurden in einer Tris-Pufferlösung untersucht und in der gezeigten Messung sind topographische Merkmale entlang des DNA-Strangs sichtbar. Jedoch stellte sich heraus, dass bei den hier gezeigten Messungen eine Immobilisierung der DNA-Stränge auf einem Muskovit-Substrat, mit Hilfe von Magnesiumionen, nicht ausreichend stabil war, um einzelne Stränge molekular oder gar atomar aufgelöst abbilden zu können. Neben der Untersuchung von einzelnen Strängen, gewinnen gefaltete DNA-Origami immer mehr an Interesse in der Nanotechnologie und Nanomedizin [22, 23, 239]. Die in dieser Arbeit untersuchten DNA-Origami-Dreiecke sind vergleichsweise äußerst stabil und können so auch getrocknet werden. Die AFM-Messungen an Luft offenbarten eine hohe Bedeckung des Silizium-Substrats mit DNA-Origami. Außerdem wurde untersucht, ab welcher Frequenzverschiebung mit einem qPlus AFM die sensitiven DNA-Dreiecke manipuliert werden, was bei der durchgeführten Messung erst bei $\Delta f = 1,5$ kHz eintrat. Die Messungen demonstrierten, dass die DNA-Proben nicht-destruktiv abgebildet werden, aber eine Auflösung der molekularen Struktur der gefalteten DNA-Stränge konnte nicht erzielt werden. Um ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis zu erreichen, wurden die getrockneten DNA-Origami-Proben mit einem Tieftemperatur-Rasterkraftmikroskop untersucht. Interessanterweise stimmte die erwartete Faltung der DNA-Origami nur bedingt mit der bei tiefen Temperaturen gemessenen Topographie überein. Zurückgeführt wurde die schlechtere Abbildungsqualität auf die teils starke Oxidation des Silizium-Substrats und auf eine mögliche Adsorption von Molekülen. Dies zeigt, dass neben dem Signal-Rausch-Verhältnis des AFMs die Immobilisation und die Sauberkeit der DNA-Proben zur hochauflösenden Abbildung entscheidend sind. Der abschließende Teil des Kapitels fokussierte sich auf die Abbildung von Doppellipidschichten, welche der Hauptbestandteil von Zellmembranen sind. Bei den in dieser Arbeit gezeigten Daten wurden Lipide aus einem Eigelb verwendet. Die mit dem AFM aufgezeichnete Frequenzverschiebung zeigte hierbei die Anordnung der Kopfgruppen innerhalb der Doppellipidschicht. Neben dieser Errungenschaft wurde überdies bei einer weiteren AFM-Messung einer Doppellipidschicht, die von der selben

7. Zusammenfassung

Lipidlösung stammt, eine andere Anordnung der Lipide offenbart. Eine mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Strukturen sind die abweichenden Fettsäurereste der Lipide innerhalb der Membran [187, 188]. Des Weiteren wurden bei der Messung lokale Unterschiede in der Dämpfung der Doppellipidschicht festgestellt, wobei die Ursache noch unklar ist. Jedoch zeigt diese Beobachtung, dass das Potential besteht, die Steifigkeit von Zellmembranen auf molekularer Ebene zu studieren. Letztlich demonstrieren die in diesem Kapitel gezeigten Ergebnisse, dass mit einem qPlus AFM in biologisch-relevanten Umgebungen sowohl die atomare Struktur von Festkörpern aufgelöst werden kann als auch die molekulare Struktur biologischer Proben.

Im Kapitel 5 wurde die Reaktivität von Übergangsmetall-Dichalkogeniden (TMDCs) gegenüber Luftmolekülen mit Hilfe eines Rasterkraftmikroskops untersucht. Untersucht wurden Molybdändisulfid MoS_2 , Molybdändiselenid MoSe_2 , Wolframdisulfid WS_2 und Wolframdiselenid WSe_2 an Luft. Die Kristalle bestehen aus einzelnen Schichten, die durch Van-der-Waals-Kräfte zusammengehalten werden. Deshalb ist es möglich, einzelne Lagen mittels eines Klebefilms zu exfolieren. In der hier durchgeführten Studie wurden keine einzelnen Monolagen untersucht, sondern die frisch gespaltenen Oberflächen der ursprünglichen Kristalle. Das Alleinstellungsmerkmal der Rasterkraftmikroskopie ist die Möglichkeit, die Oberflächenbeschaffenheit direkt an Luft untersuchen zu können, ohne eine weitere Präparation der Probe. Die aufgezeichneten topographischen AFM-Bilder der Sulfide MoS_2 und WS_2 zeigten große flache Terrassen, ohne einen Hinweis auf Kontamination. Atomare Auflösung konnte auf beiden Proben erreicht und deren hexagonale Struktur gezeigt werden. Langzeitmessungen über mehrere Tage hinweg änderten nichts an der Sauberkeit der Probenoberfläche. Jedoch konnte zwei Wochen nach dem Exfolieren einer WS_2 -Oberfläche eine mobile Struktur auf atomaren Skalen abgebildet werden. Aufgrund der Höhe der Struktur von 0,25 nm wurde sie einer auf der Oberfläche kondensierten geordneten Wasserschicht zugeordnet. Die Anordnung der Wassermoleküle folgte hier der darunter liegenden hexagonalen Struktur von WS_2 . Die AFM-Messungen auf den Oberflächen der Selenide MoSe_2 und WSe_2 zeigten im Gegensatz zu den Sulfiden eine großflächige Bedeckung mit Adsorbaten. Außerdem ließ die sukzessive Abbildung von MoSe_2 , über zwei Tage hinweg, erkennen, dass die adsorbierten Partikel über Zeit aggregieren. Dies zeigt sich am ausgewerteten Bedeckungsgrad, da er sich nach zwei Tagen von anfänglichen 80 % auf 52 % reduziert hat, wobei sich die mittlere Höhe von 1,5 nm auf 2,2 nm verändert hat. Auf den AFM-Aufnahmen von WSe_2 war hingegen eine kontinuierliche Höhenverteilung der Partikel zu sehen, die bis zu 2 nm hoch waren und die Oberfläche zu 49 % bedeckten. Anzumerken ist, dass auf den beiden ausgewählten Seleniden zwischen den Adsorbaten die atomare Struktur von MoSe_2 beziehungsweise WSe_2 abgebildet werden konnte, was den Schluss erlaubt, dass die Oberflächenstruktur der TMDCs nicht durch die Partikel beeinflusst wird. Da die AFM-Messungen zeigten, dass bereits direkt nach dem Exfolieren der Proben die Kontaminationen vorhanden waren, wurde ein WSe_2 Kristall in einer Ultrahochvakuumkammer gespalten. Auf den daraufhin erfolgten AFM-Aufnahmen in der Ultrahochvakuumkammer

sind keine Adsorbate zu erkennen, weshalb gefolgert wird, dass die Kontaminationen der Selenide nicht vor dem Exfolieren präsent sind. Genaue Rückschlüsse auf die auf den Seleniden abgelagerten Luftmoleküle konnten nicht getroffen werden. Die in dieser Arbeit durchgeführte energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX) konnte bisher keine weiteren Erkenntnisse bringen. Dennoch sind die gezeigten Ergebnisse aufschlussreich, da mit dem AFM direkt die Reaktivität der Selenide gegenüber Molekülen aus der Luft nachgewiesen wurde und zudem auch offene Fragen bezüglich einem möglichen Bedeckungsgrad und der entsprechenden Höhe der Partikel beantwortet werden konnten. Außerdem geben die Ergebnisse den Hinweis darauf, dass beispielsweise bei einer Stapelung von TMDCs zu Heterostrukturen die Sulfide zu bevorzugen sind, wenn sie an Luft hergestellt werden. Ferner wurden bereits erste Versuche unternommen, die nach der Spaltung an Luft vorhandenen Partikel im Hochvakuum durch Aufheizen zu desorbieren, was auch gelang. Weitere Messungen und Untersuchungen sollen hier folgen. Als Ausblick soll noch erwähnt werden, dass AFM-Messungen auf Graphen bereits zeigten, dass die Reaktivität mit der Anzahl an Schichten skalieren kann und so AFM-Messungen von Mono- oder Bilagen-TMDCs zukünftig neue Erkenntnisse bereithalten [211].

Abgeschlossen wurde der experimentelle Teil dieser Dissertation in Kapitel 6 mit einem Ausblick auf ein Lichtfeld-induziertes Rasterkraftmikroskop. Ziel des vorgestellten Projekts ist, atomare Auflösung mit Femtosekunden-Zeitauflösung zu kombinieren. In der Zusammenfassung von Kapitel 4 wurde bereits angerissen, dass die Rastergeschwindigkeit bei AFMs, insbesondere mit qPlus Sensoren, keine hohe Zeitauflösung erlaubt, da das Rauschniveau stark mit der Bandbreite der Phasenregelung skaliert. Um insbesondere Prozesse auf ultrakurzen Zeitskalen zu untersuchen, werden Lichtimpulse auf die AFM-Spitze fokussiert. Die durch das Licht zwischen Spitze und Probe hervorgerufenen Kräfte werden mit dem AFM gemessen. Zur Fokussierung der Laserstrahlung mittels eines Parabolspiegels ist hier ein freier Zugang zu Spitze und Probe nötig. Hier kommt das in Kapitel 3 vorgestellte Mikroskop zur Anwendung, dessen Entwicklung mit dem hier dargelegten Lichtfeld-induzierten Rasterkraftmikroskop einherging. Im Kapitel 6 wurde nun ein Ausblick auf zwei Messmethoden gewährt. Zum einen wurde die Intensität der Laserstrahlung bei der Resonanzfrequenz einer Biegemode moduliert und so diese optisch getrieben. Die Höhenregelung erfolgte, indem gleichzeitig die Frequenzverschiebung einer weiteren Biegemode detektiert wurde. Obwohl sowohl die erste als auch die zweite Biegemode des qPlus Sensors erfolgreich optisch angeregt werden konnten, war nachteilig, dass die Modulationsfrequenz der Laserstrahlung konstant blieb. So war es nicht möglich aus den aufgezeichneten Spektren eine valide Aussage über die Abstandsabhängigkeit der optisch induzierten Kraft abzuleiten. Ferner konnten aus den Experimenten der Lichtfeld-induzierten Anregung noch keine Erkenntnisse über die zugrunde liegenden optisch induzierten Prozesse gewonnen werden. Der andere Teil dieses Ausblick-Kapitels beschäftigte sich deshalb mit der Frage, welche spektrale Signatur die gemessenen Kräfte aufweisen. Hierzu wurde eine Quarzprobe untersucht und ein Quantenkaskadenlaser verwendet, dessen schmalbandiges Laserlicht in der Wellenlänge durchstimmbare ist. Gemessen wurde schließlich

7. Zusammenfassung

die Frequenzverschiebung der ersten Biegemode in Abhängigkeit von der Wellenlänge des eingestrahlten Lichts. Da die Laserstrahlung abseits der Resonanzfrequenz mit f_{mod} moduliert wurde, ergab sich keine resonante Treibung, sondern eine Modulation der in quasi-konstanter Höhe detektierten Frequenzverschiebung. Für ein hintergrundfreies Signal wurde die Frequenzverschiebung mittels eines Lock-in Verstärkers bei f_{mod} demoduliert. Außerdem zeigte sich, dass das Signal linear mit der Leistung skaliert, was auf eine thermische Ausdehnung der Probe hindeutet. Weitere Aufschlüsse brachte eine Reflexionsmessung der auf die Quarzprobe eingestrahlten Leistung. Die an der Probenoberfläche (in die Probe) transmittierte Leistung stimmte qualitativ mit dem gemessenen AFM-Signal überein. Im untersuchten Bereich von 27,3 THz bis 35,6 THz hat Quarz mehrere optische Phononenmoden. Diese beeinflussen die dielektrische Funktion und damit das Reflexions- und Absorptionsverhalten der Probe. Letztlich kommt es zu einer wellenlängenabhängigen Absorption von Energie, weshalb in Abhängigkeit von der Wellenlänge eine thermische Ausdehnung beobachtet wurde. Das Kapitel konnte so erfolgreich einen Ausblick auf Lichtfeld-induzierte Rasterkraftmikroskopie geben und dient als Grundlage für die zukünftigen Entwicklungen dieses Projekts.

Summa summarum hat diese Arbeit die Frequenzmodulations-Rasterkraftmikroskopie an Luft und in Flüssigkeiten weitergebracht. Zum einen wurde der instrumentelle Aufbau optimiert und für zukünftige Projekte ausgerichtet. Zum anderen wurde demonstriert, dass biologische Proben mit qPlus Sensoren untersucht werden können und molekularer Auflösung bereits damit möglich ist. Außerdem wurden neue Erkenntnisse über das Verhalten von Übergangsmetall-Dichalkogeniden an Luft gewonnen und es wurde gezeigt, dass das entwickelte universelle qPlus AFM auch zur Kombination mit ultraschneller Optik geeignet ist.

Publikationsliste

Die folgenden Liste zählt alle Publikationen auf, die bis zum Einreichen des Promotionsgesuchs veröffentlicht sind und bei denen der Autor dieser hier vorliegenden Arbeit entweder Erst- oder Co-Autor ist.

- Pürckhauer, K., Weymouth, A. J., Pfeffer, K., Kullmann, L., Mulvihill, E., Krahn, M. P., Müller, D. J. & Giessibl, F. J. (2018). Imaging in Biologically-Relevant Environments with AFM Using Stiff qPlus Sensors. *Scientific Reports*, **8**(1), 9330.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-27608-6>
- Pürckhauer, K., Kirpal, D., Weymouth, A. J., & Giessibl, F. J. (2019). Analysis of Airborne Contamination on Transition Metal Dichalcogenides with Atomic Force Microscopy Revealing That Sulfur Is the Preferred Chalcogen Atom for Devices Made in Ambient Conditions. *ACS Applied Nano Materials*, **2**(5), 2593–2598.
<https://doi.org/10.1021/acsanm.9b00526>
- Kirpal, D. J., Pürckhauer, K., Weymouth, A. J., & Giessibl, F. J. (2019). Ion mobility and material transport on KBr in air as a function of the relative humidity. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, **10**, 2084–2093.
<https://doi.org/10.3762/bjnano.10.203>
- Pürckhauer, K., Maier, S., Merkel, A., Kirpal, D. J., & Giessibl, F. J. (2020). Combined atomic force microscope and scanning tunneling microscope with high optical access achieving atomic resolution in ambient conditions. *Review of Scientific Instruments*, **91**(8), 083701.
<https://doi.org/10.1063/5.0013921>

A. Anhang

A.1. Theoretische Beschreibung der Mechanik höherer Biegemoden

Im Folgenden wird ausführlicher gezeigt, wie die Steifigkeit und Sensitivität höherer Biegemoden eines schwingenden Balkens berechnet werden können. Der Balken hat die Dimensionen der Länge L , der Breite b und der Dicke d . Zunächst wird die Bewegungsgleichung der transversalen Schwingung eines an einer unendlich großen und unendlich steifen Masse befestigten Balkens aufgestellt. Diese kann wie folgt ausgedrückt werden [75, 240]:

$$\frac{d^2 z}{dt^2} + \frac{E_Y d^2}{12\rho} \frac{d^4 z}{dx^4} = 0. \quad (\text{A.1})$$

Für die Randbedingungen der Differentialgleichung gilt deshalb zum einen, dass der bei $x = 0$ fixierte Balken gerade aus der Wand kommt und zum anderen, dass der Balken bei $x = L$ frei ist. Aus ersterem folgt für die Biegelinie $\phi(x)$

$$\phi(0) = 0 \quad \frac{d\phi(0)}{dx} = 0. \quad (\text{A.2})$$

Das Drehmoment ist durch $M(x) \propto \frac{d^2 z}{dx^2}$ gegeben und verschwindet am freien Balkenende bei $x = L$ [75]. Zudem wirkt keine externe Kraft $F = \frac{dM}{dx}$ und es gilt

$$\frac{d^2 \phi(L)}{dx^2} = 0 \quad \frac{d^3 \phi(L)}{dx^3} = 0. \quad (\text{A.3})$$

Die Lösung dieser Differentialgleichung ist [75]

$$z = \sum_{n=1}^{\infty} A_n \sin(\omega_n t + \delta_n) \phi_n, \quad (\text{A.4})$$

mit den Amplituden A_n und den Kreisfrequenzen ω_n . Die Lösung ist dabei die Superposition aller Schwingungsmoden n . Die Biegelinie $\phi_n(x)$ kann geschrieben werden als [75]

$$\phi_n(x) = (\sin \alpha_n + \sinh \alpha_n) \left(\cos \frac{\alpha_n x}{L} - \cosh \frac{\alpha_n x}{L} \right) - (\cos \alpha_n + \cosh \alpha_n) \left(\sin \frac{\alpha_n x}{L} - \sinh \frac{\alpha_n x}{L} \right), \quad (\text{A.5})$$

A. Anhang

mit den Eigenwerten α_n . Für diese gilt [75]

$$\alpha_n^4 = \frac{12 \cdot \rho \cdot \omega_n^2 \cdot L^4}{E_Y \cdot d^2}, \quad (\text{A.6})$$

wobei ω_n die Kreisfrequenz der n -ten Mode ist. Setzt man die Randbedingungen ein, so folgt für die Eigenwerte der ersten beiden Biegemoden:

$$\alpha_1 = 1,88 \quad \alpha_2 = 4,69. \quad (\text{A.7})$$

Für die Resonanzfrequenz der zweiten Biegemode gilt deshalb:

$$\omega_2 = \omega_1 \cdot \left(\frac{\alpha_2}{\alpha_1} \right)^2 = \omega_1 \cdot 6,22. \quad (\text{A.8})$$

Setzt man den Balken aus infinitesimal kleinen Querschnitten zusammen, so lässt sich die gesamte Energie W des Oszillators durch Integration der mechanischen Spannung entlang der Balkenlänge L angeben [75]:

$$W = \underbrace{\frac{E \cdot I}{2} \int_0^L \left(\frac{d^2 z}{dx^2} \right)^2 dx}_{\text{potentielle Energie}} + \underbrace{\frac{\rho \cdot b \cdot d}{2} \int_0^L \left(\frac{dz}{dt} \right)^2 dx}_{\text{kinetische Energie}}. \quad (\text{A.9})$$

Da die in Gl. (A.4) angegebene Auslenkung z die Summe aller Biegemoden ist, muss zum Berechnen der Steifigkeit der n -ten Biegemode nur die jeweilige Biegelinie ϕ_n betrachtet werden. Setzt man das bereits erwähnte Flächenträgheitsmoment eines rechtwinkligen Balkens $I = \frac{d^3 \cdot b}{12 \cdot \rho}$ ein, so kann die Steifigkeit durch das Gleichsetzen der potentiellen Energie, hier Verzerrungsenergie, mit der Energie eines harmonischen Oszillators berechnet werden:

$$\frac{E \cdot b \cdot d^3}{24} \int_0^L \left(A_n \frac{d^2 \phi_n}{dx^2} \right)^2 dx = \frac{k}{2} A_n^2. \quad (\text{A.10})$$

Für die Steifigkeit der n -ten Biegemode folgt schließlich

$$k_n = \frac{E \cdot b \cdot d^3}{12} \int_0^L \left(\frac{d^2 \phi_n}{dx^2} \right)^2 dx, \quad (\text{A.11})$$

zu erwähnen ist, dass dies die sogenannte dynamische Steifigkeit ist. Sie unterscheidet sich beispielsweise in der ersten Biegemode um ungefähr 3% von der Näherung in Gl. (3.1), da zuvor eine homogene Spannung entlang des Balkens angenommen wurde [76, 240].

Für das Verhältnis der Steifigkeiten der ersten und zweiten Biegemode folgt:

$$\frac{k_{2\text{nd}}}{k_{1\text{st}}} = \frac{\int_0^L \left(\frac{d^2 \phi_{2\text{nd}}}{dx^2} \right)^2 dx}{\int_0^L \left(\frac{d^2 \phi_{1\text{st}}}{dx^2} \right)^2 dx} = 39,5 . \quad (\text{A.12})$$

In Ref. [76] wurde das Verhältnis zwischen der Steifigkeit der zweiten Biegemode $k_{2\text{nd}}$ und der statischen Steifigkeit der ersten Biegemode mit einem Faktor 40,2 angegeben [76]. In Ref. [240] wurde die Steifigkeit der zweiten Biegemode über das Hinzufügen einer Masse berechnet und ein Faktor von 39,3 zwischen erster und zweiter Biegemode bestimmt. Beide Literaturwerte liegen nahe an dem hier berechneten Wert.

Die Sensitivität kann analog zum Kap. 3.1.1 durch die Integration der Oberflächenladungsdichte σ_{Ladung} (über die Elektrodenlänge L_e) gewonnen werden. Werden Gl. (3.5)-(3.7) kombiniert, so gilt für die Ladung q :

$$q = 2 \cdot \int_0^{L_e} dx \int_{-b/2}^{b/2} dy \sigma_{\text{Ladung}} = 2 \cdot \int_0^{L_e} dx \int_{-b/2}^{b/2} dy \sigma_{\text{mech}} \cdot d_{21} \quad (\text{A.13})$$

$$= 2 \cdot \int_0^{L_e} dx \int_{-b/2}^{b/2} dy \epsilon_n \cdot E_Y \cdot d_{21} . \quad (\text{A.14})$$

Für die Dehnung ϵ_n der n -ten Biegelinie gilt [66]:

$$\epsilon_n(x, z = t/2) = \frac{d}{2} \frac{d^2 \phi_n}{dx^2} . \quad (\text{A.15})$$

Deshalb folgt für die Sensitivität $S_{q,n}$ der n -ten Biegemode schließlich:

$$S_{q,n} = \frac{q}{A} = \frac{b \cdot d \cdot d_{21} \cdot E_Y}{A} \int_0^{L_e} \frac{d^2 \phi_n}{dx^2} dx . \quad (\text{A.16})$$

Daraus lässt sich das Verhältnis zwischen der Sensitivität der zweiten und der ersten Biegemode berechnen:

$$\frac{S_{q,2\text{nd}}}{S_{q,1\text{st}}} = \frac{\int_0^{L_e} \frac{d^2 \phi_{2\text{nd}}}{dx^2} dx}{\int_0^{L_e} \frac{d^2 \phi_{1\text{st}}}{dx^2} dx} = 3,1 . \quad (\text{A.17})$$

Anzumerken ist, dass die Elektrodenlänge L_e bei höheren Biegemoden einen größeren Einfluss auf die Sensitivität hat. Die Ursache ist, dass die Ladungsträgerdichte proportional zur Balkenkrümmung ist. Diese ist bei $x = 0$ maximal und nimmt entlang des Balkens monoton ab. Jedoch hat sie in der ersten Mode über die gesamte Biegelinie das gleiche Vorzeichen. Höhere Biegemoden weisen Knotenpunkte und dementsprechend stark über die Balkenlänge

A. Anhang

variierende Krümmungen, bzw. Ladungsträgerdichten, mit unterschiedlichen Vorzeichen auf. Für die detektierte Ladung ist die Länge der Elektrode somit von entscheidender Bedeutung. Der Vorzeichenwechsel verringert somit die Sensitivität, aber sie ist dennoch für höhere Biegemoden aufgrund der größeren mechanischen Spannung, bei gleicher Schwingungsamplitude, insgesamt größer.

A.2. Übergangsmetall-Dichalkogenide: Ergänzende Daten

A.2.1. Molybdändiselenid

In Abb. A.1 ist ein Vergleich der in Vorwärts- (a) und Rückwärts-Richtung (b) abgerasteren MoSe₂ Oberfläche zu sehen. Die gezeigten Aufnahmen sind während der im Kap. 5.2 beschriebenen Langzeitmessung entstanden.

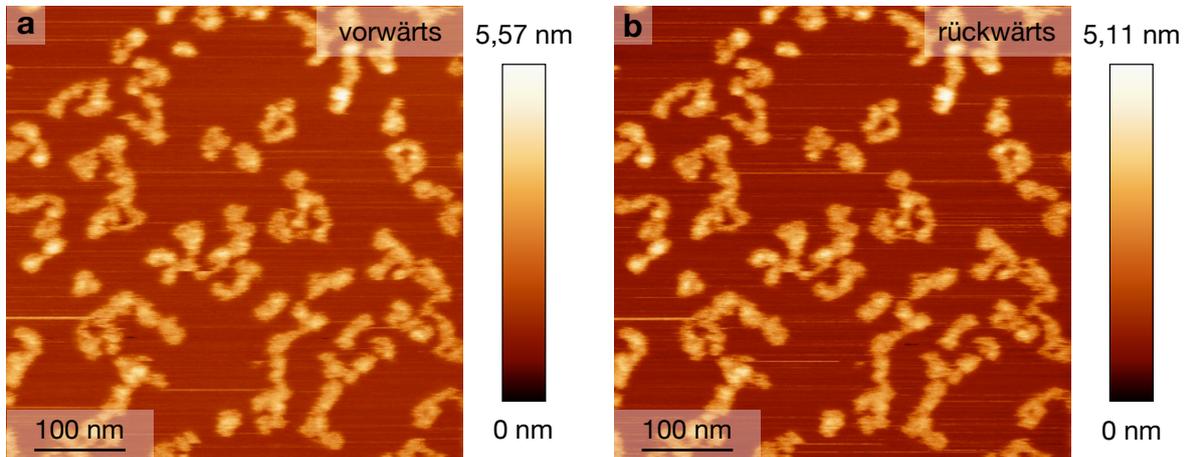


Abbildung A.1.: Vergleich zweier FM-AFM-Aufnahmen von MoSe₂ an Luft. Abbildungsparameter: Saphirspitze, $f_0 = 46,8$ kHz, $k = 3,5$ kN/m, $\Delta f = 10$ Hz, $A = 500$ pm. (a) Vorwärts-Richtung. (b) Rückwärts-Richtung.

A.2.2. EDX-Daten

Die folgenden Bilder zeigen die auf MoS₂ (Abb. A.2), WS₂ (Abb. A.3) und WSe₂ (Abb. A.4) aufgezeichneten EDX-Spektren. Die Spektren wurden sowohl direkt im Anschluss an die mechanische Exfoliation der Kristalle durchgeführt als auch nach einer 17 Stunden andauernden Luftexposition (siehe Abb. A.2.1). Außerdem sind zusätzlich SEM Bilder der Probenoberflächen gezeigt, auf denen auch die Position der Datenakquisition markiert ist.

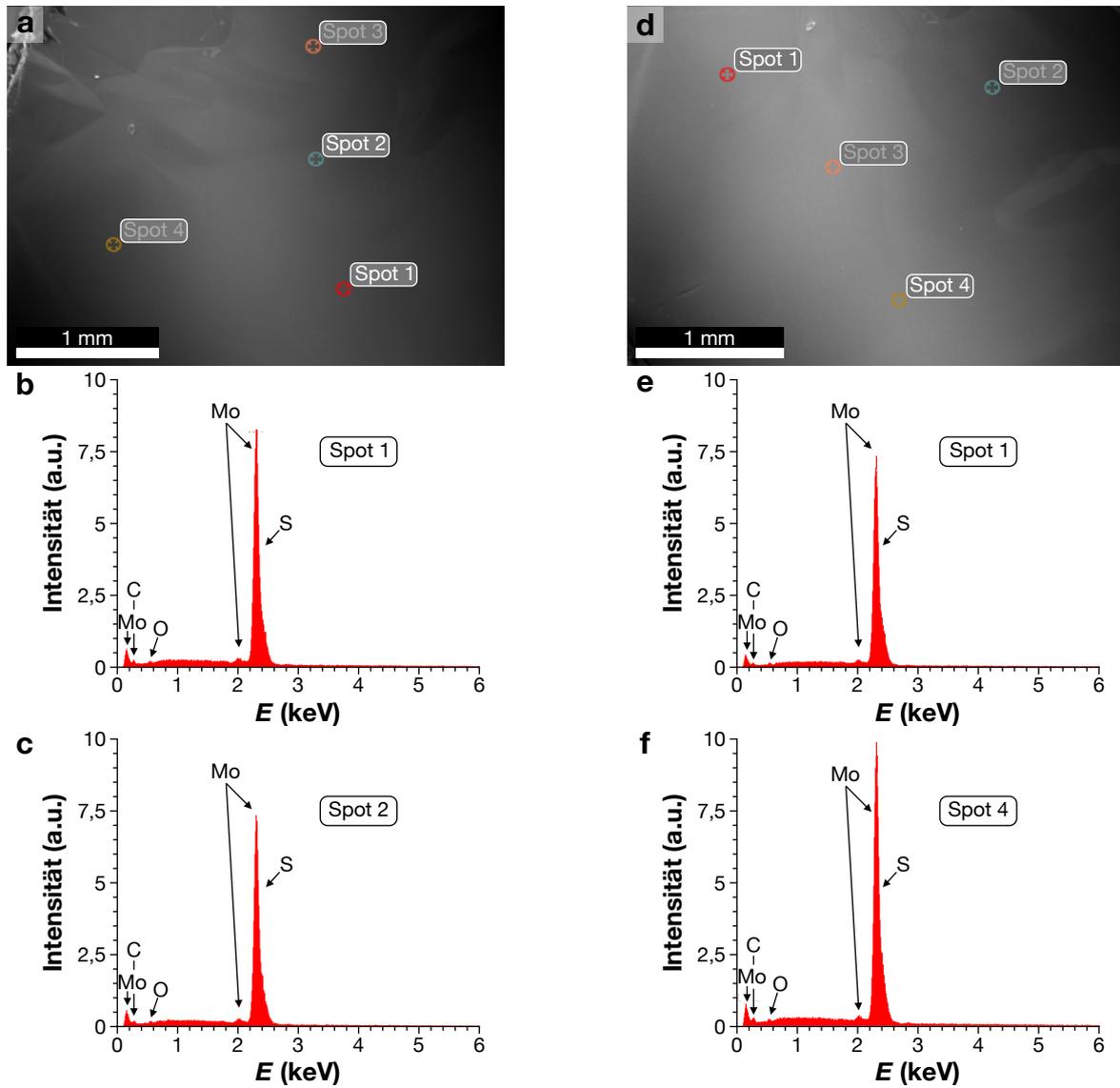


Abbildung A.2.: EDX-Spektren auf MoS₂. Die Probe wurde an Luft gespalten und für die Daten in (a)-(c) direkt im Anschluss ins SEM transferiert und bei (d)-(f) nach 17 Stunden Luftexposition. (a),(b) SEM-Aufnahme der Probenoberfläche mit markierten Analysepunkten. (b),(c) EDX-Spektren direkt nach dem Spalten an Luft. (e),(f) EDX-Spektren nach 17 Stunden Luftexposition.

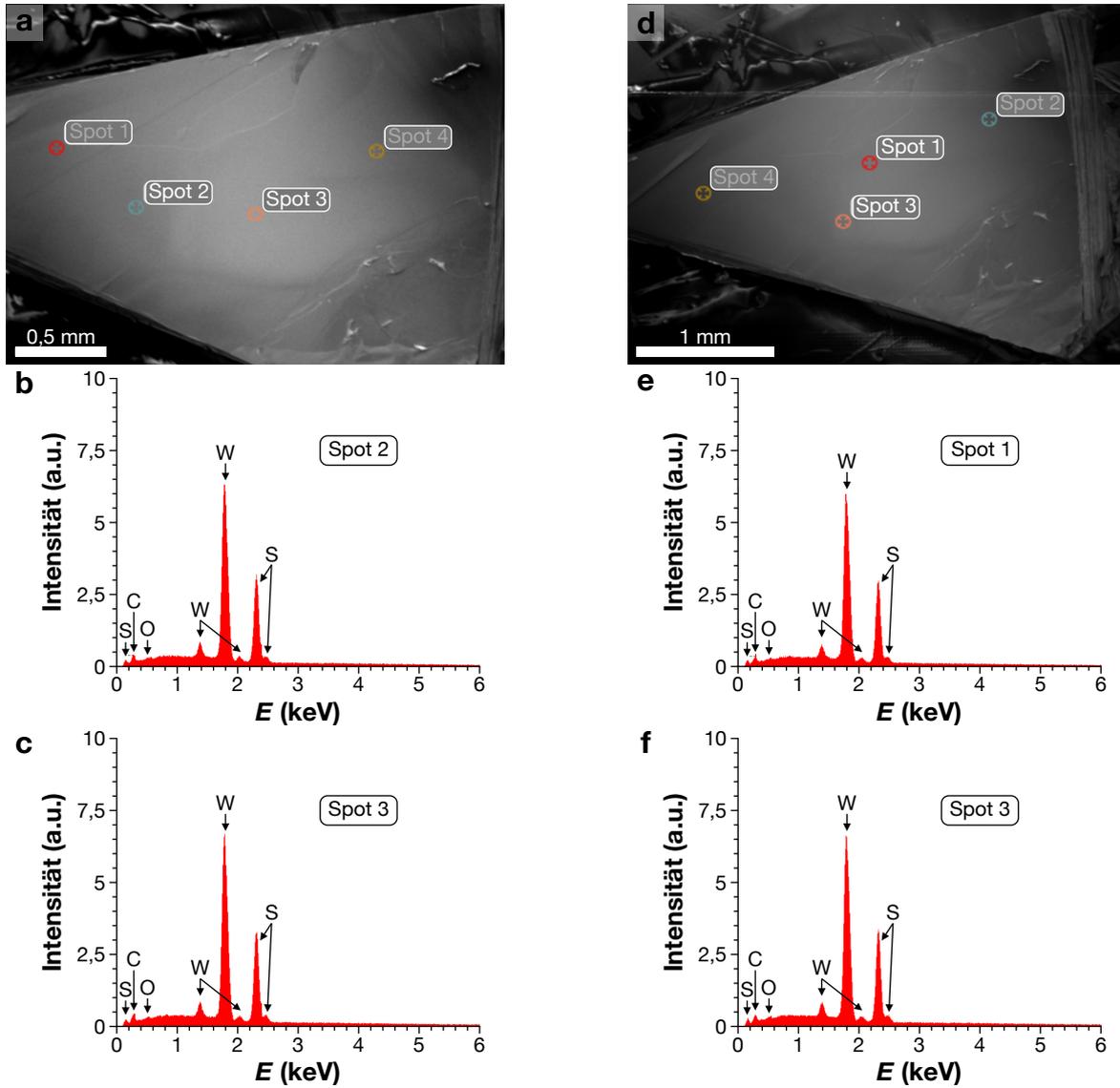


Abbildung A.3.: EDX-Spektren auf WS_2 . Die Probe wurde an Luft gespalten und für die Daten in (a)-(c) direkt im Anschluss ins SEM transferiert und bei (d)-(f) nach 17 Stunden Luftexposition. (a),(b) SEM-Aufnahme der Probenoberfläche mit markierten Analysepunkten. (b),(c) EDX-Spektren direkt nach dem Spalten an Luft. (e),(f) EDX-Spektren nach 17 Stunden Luftexposition.

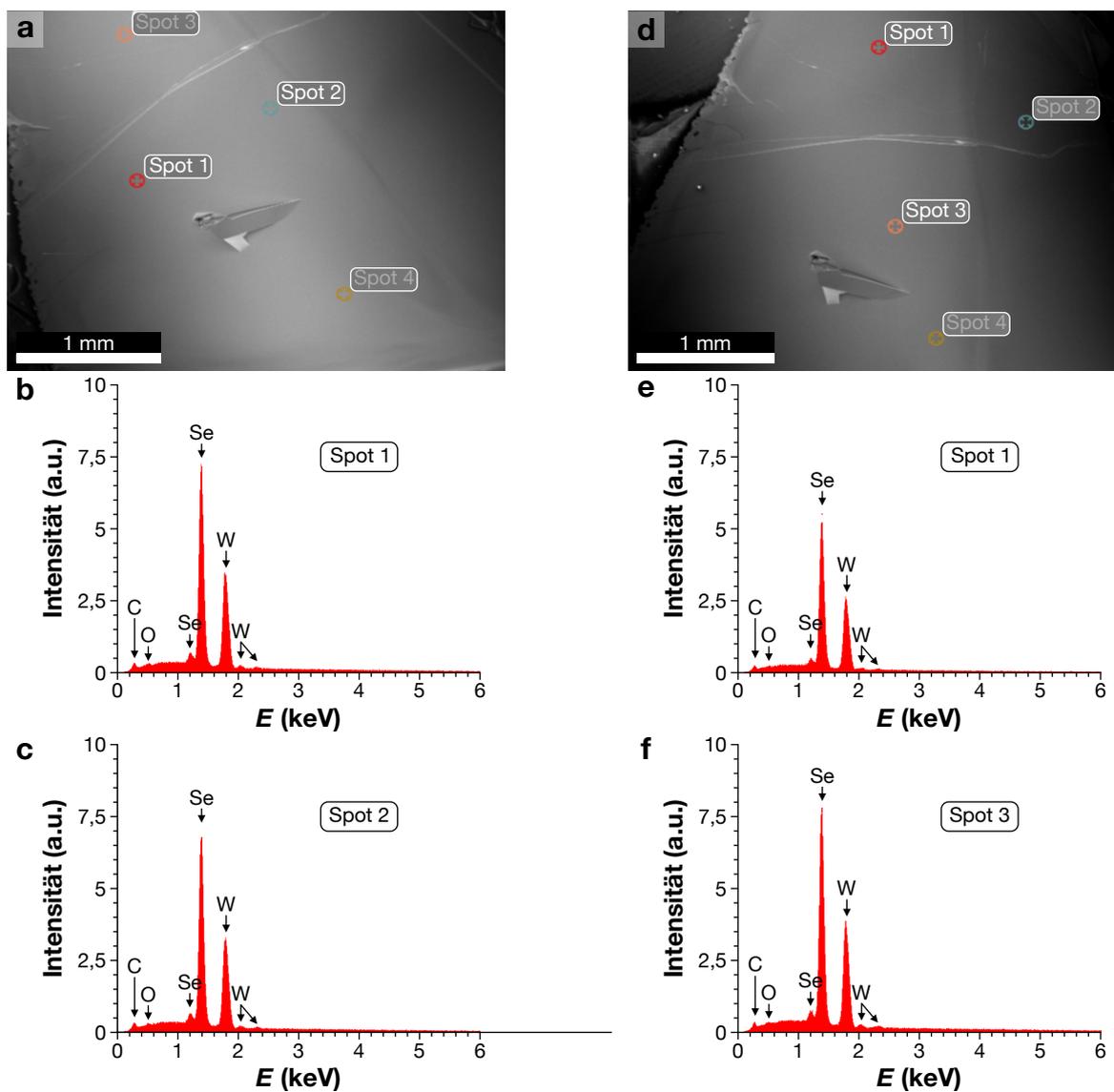


Abbildung A.4.: EDX-Spektren auf WSe_2 . Die Probe wurde an Luft gespalten und für die Daten in (a)-(c) direkt im Anschluss ins SEM transferiert und bei (d)-(f) nach 17 Stunden Luftexposition. (a),(b) SEM-Aufnahme der Probenoberfläche mit markierten Analysepunkten. (b),(c) EDX-Spektren direkt nach dem Spalten an Luft. (e),(f) EDX-Spektren nach 17 Stunden Luftexposition.

A.3. Lichtfeld-induziertes AFM: Ergänzende Daten

In der Abb. A.5a sind die leistungsabhängigen und bei f_{mod} demodulierten Frequenzverschiebungen Δf_{demod} in Abhängigkeit von der durchgestimmten Frequenz ν_{QCL} des Quantenkaskadenlasers zu sehen. Die jeweiligen Leistungen sind, wie im Bild beschrieben, farblich kodiert. In der Abb. A.5b ist der simultan aufgezeichnete z -Kanal gezeigt. Die Höhenregung sollte bei diesen Messungen einzig der langsamen thermischen Drift folgen, jedoch sind bei Leistungen $\geq 1,5 \text{ mW}$ deutliche Spitzen sichtbar. Diese sind der optisch induzierten thermischen Ausdehnung der Probe zuzuordnen. Eine Möglichkeit ist, dass die Höhenregung zu schnell reagiert hat und so das Signal im Δf -Kanal abgeschwächt hat. Eine andere Überlegung ist, dass die Spitze der zeitlich gleichgerichteten Komponente der Pauli-Repulsion folgt.

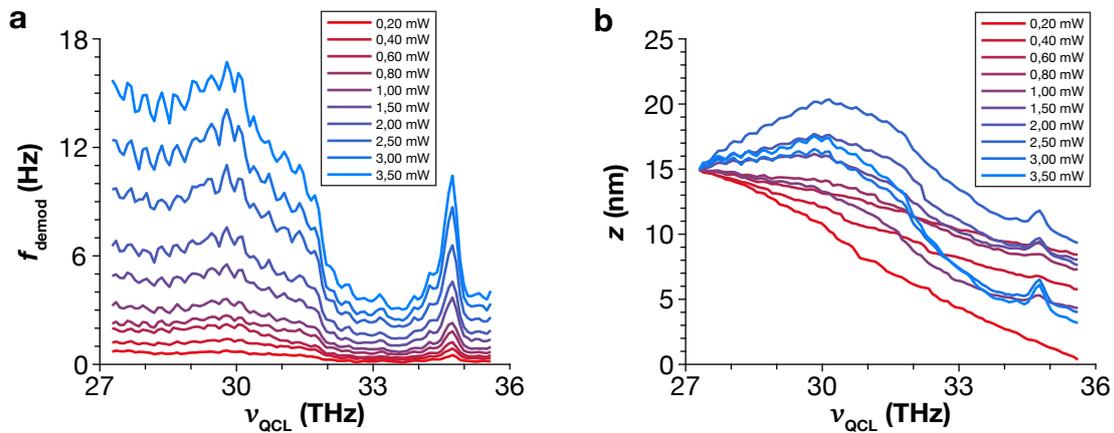


Abbildung A.5.: FM-AFM-basierte Infrarotspektroskopie auf dem Quarz-Rohling eines qPlus Sensors. Abbildungsparameter: Wolframspitze, quasi-konstante Höhe, $f_0 = 26,1 \text{ kHz}$, $k = 1,8 \text{ kN/m}$, $\Delta f = 30 \text{ Hz}$ und $A = 300 \text{ pm}$. (a) Bei der Modulationsfrequenz des QCLs f_{mod} detektierter Frequenzkontrast in Abhängigkeit von der Frequenz ν_{QCL} des QCLs. Aufgetragen sind die Daten für eingestrahelte Leistungen zwischen $0,2 \text{ mW}$ und $3,5 \text{ mW}$. (b) Darstellung des simultan zur Frequenzverschiebung aufgezeichneten z -Kanals. Dieser ist ebenso für die Leistungen zwischen $0,2 \text{ mW}$ und $3,5 \text{ mW}$ gezeigt.

Literatur

- [1] G. Binnig, H. Rohrer, C. Gerber und E. Weibel, "Surface Studies by Scanning Tunneling Microscopy," *Physical Review Letters*, Jg. 49, Nr. 1, S. 57–61, 1982.
- [2] G. Binnig, H. Rohrer, C. Gerber und E. Weibel, " 7×7 Reconstruction on Si(111) Resolved in Real Space," *Physical Review Letters*, Jg. 50, Nr. 2, S. 120–123, 1983.
- [3] G. Binnig, C. F. Quate und C. Gerber, "Atomic Force Microscope," *Physical Review Letters*, Jg. 56, Nr. 9, S. 930–933, 1986.
- [4] F. J. Giessibl, "High-speed force sensor for force microscopy and profilometry utilizing a quartz tuning fork," *Applied Physics Letters*, Jg. 73, Nr. 26, S. 3956–3958, 1998.
- [5] F. J. Giessibl, "The qPlus sensor, a powerful core for the atomic force microscope," *Review of Scientific Instruments*, Jg. 90, Nr. 1, S. 11 101, 2019.
- [6] L. Gross, F. Mohn, N. Moll, P. Liljeroth und G. Meyer, "The chemical structure of a molecule resolved by atomic force microscopy," *Science*, Jg. 325, Nr. 5944, S. 1110–1114, 2009.
- [7] T. Fukuma, K. Kobayashi, K. Matsushige und H. Yamada, "True atomic resolution in liquid by frequency-modulation atomic force microscopy," *Applied Physics Letters*, Jg. 87, Nr. 3, S. 34 101, 2005.
- [8] A. M. Baró und R. G. Reifenberger, *Atomic force microscopy in liquid: biological applications*. John Wiley & Sons, 2012.
- [9] D. S. Wastl, A. J. Weymouth und F. J. Giessibl, "Optimizing atomic resolution of force microscopy in ambient conditions," *Physical Review B*, Jg. 87, Nr. 24, S. 245 415, 2013.
- [10] H. Ooe, D. Kirpal, D. S. Wastl, A. J. Weymouth, T. Arai und F. J. Giessibl, "Amplitude dependence of image quality in atomically-resolved bimodal atomic force microscopy," *Applied Physics Letters*, Jg. 109, Nr. 14, S. 141 603, 2016.
- [11] H. Ooe und T. Arai, "Layer-by-layer dissolution and recovery of KBr(001) surfaces covered with a nanometer-thick water film caused by a pressing tip controlled by frequency modulation atomic force microscopy," *Applied Physics Express*, Jg. 12, Nr. 11, S. 115 002, 2019.
- [12] Y. Yamada, T. Ichii, T. Utsunomiya und H. Sugimura, "Simultaneous detection of vertical and lateral forces by bimodal AFM utilizing a quartz tuning fork sensor with a long tip," *Japanese Journal of Applied Physics*, Jg. 58, Nr. 9, S. 095 003, 2019.

- [13] D. S. Wastl, M. Judmann, A. J. Weymouth und F. J. Giessibl, “Atomic Resolution of Calcium and Oxygen Sublattices of Calcite in Ambient Conditions by Atomic Force Microscopy Using qPlus Sensors with Sapphire Tips,” *ACS Nano*, Jg. 9, Nr. 4, S. 3858–3865, 2015.
- [14] D. S. Wastl, A. J. Weymouth und F. J. Giessibl, “Atomically Resolved Graphitic Surfaces in Air by Atomic Force Microscopy,” *ACS Nano*, Jg. 8, Nr. 5, S. 5233–5239, 2014.
- [15] M. K. Rehmann, Y. B. Kalyoncu, M. Kisiel, N. Pascher, F. J. Giessibl, F. Müller, K. Watanabe, T. Taniguchi, E. Meyer, M.-H. Liu und D. M. Zumbühl, “Characterization of hydrogen plasma defined graphene edges,” *Carbon*, Jg. 150, S. 417–424, 2019.
- [16] T. Ichii, M. Fujimura, M. Negami, K. Murase und H. Sugimura, “Frequency Modulation Atomic Force Microscopy in Ionic Liquid Using Quartz Tuning Fork Sensors,” *Japanese Journal of Applied Physics*, Jg. 51, Nr. 8S3, 08KB08, 2012.
- [17] Y. Yamada, T. Ichii, T. Utsunomiya und H. Sugimura, “Visualizing polymeric liquid/solid interfaces by atomic force microscopy utilizing quartz tuning fork sensors,” *Japanese Journal of Applied Physics*, 2020.
- [18] T. Ichii, S. Ichikawa, Y. Yamada, M. Murata, T. Utsunomiya und H. Sugimura, “Solvation structure on water-in-salt/mica interfaces and its molality dependence investigated by atomic force microscopy,” *Japanese Journal of Applied Physics*, Jg. 59, Nr. SN, SN1003, 2020.
- [19] S. Ido, K. Kimura, N. Oyabu, K. Kobayashi, M. Tsukada, K. Matsushige und H. Yamada, “Beyond the helix pitch: direct visualization of native DNA in aqueous solution,” *ACS Nano*, Jg. 7, Nr. 2, S. 1817–1822, 2013.
- [20] C. Leung, A. Bestembayeva, R. Thorogate, J. Stinson, A. Pyne, C. Marcovich, J. Yang, U. Drechsler, M. Despont, T. Jankowski u. a., “Atomic force microscopy with nanoscale cantilevers resolves different structural conformations of the DNA double helix,” *Nano letters*, Jg. 12, Nr. 7, S. 3846–3850, 2012.
- [21] P. W. K. Rothmund, “Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns,” *Nature*, Jg. 440, Nr. 7082, S. 297–302, 2006.
- [22] F. Hong, F. Zhang, Y. Liu und H. Yan, “DNA Origami: Scaffolds for Creating Higher Order Structures,” *Chemical Reviews*, Jg. 117, Nr. 20, S. 12 584–12 640, 2017.
- [23] H. Ramezani und H. Dietz, “Building machines with DNA molecules,” *Nature Reviews Genetics*, Jg. 21, Nr. 1, S. 5–26, 2020.
- [24] M. Hirsch-Kauffmann, M. Schweiger und M.-R. Schweiger, *Biologie und molekulare Medizin: für Mediziner und Naturwissenschaftler*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2015.

- [25] O. Fritsche, *Biologie für Einsteiger*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2015.
- [26] C. Jaussi, *Biochemie*, Ser. Springer-Lehrbuch. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2005, S. 99–110.
- [27] Q. H. Wang, K. Kalantar-Zadeh, A. Kis, J. N. Coleman und M. S. Strano, “Electronics and optoelectronics of two-dimensional transition metal dichalcogenides,” *Nature Nanotechnology*, Jg. 7, Nr. 11, S. 699–712, 2012.
- [28] Nobel Media AB 2020. “Press release.” (2010), Adresse: <https://www.nobelprize.org/prizes/physics/2010/press-release/> (besucht am 01.09.2020).
- [29] K. S. Novoselov, D. Jiang, F. Schedin, T. J. Booth, V. V. Khotkevich, S. V. Morozov und A. K. Geim, “Two-dimensional atomic crystals,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Jg. 102, Nr. 30, S. 10 451–10 453, 2005.
- [30] B. Radisavljevic, A. Radenovic, J. Brivio, V. Giacometti und A. Kis, “Single-layer MoS₂ transistors,” *Nature Nanotechnology*, Jg. 6, Nr. 3, S. 147–150, 2011.
- [31] K. S. Novoselov, A. Mishchenko, A. Carvalho und A. H. Castro Neto, “2D materials and van der Waals heterostructures,” *Science*, Jg. 353, Nr. 6298, aac9439, 2016.
- [32] C. Stampfer, B. Beschoten und S. Staacks, “Vielfalt in zwei Dimensionen,” *Physik Journal*, Jg. 18, Nr. 10, S. 29–34, 2019.
- [33] Z. Peng, R. Yang, M. A. Kim, L. Li und H. Liu, “Influence of O₂, H₂O and airborne hydrocarbons on the properties of selected 2D materials,” *RSC Advances*, Jg. 7, Nr. 43, S. 27 048–27 057, 2017.
- [34] D. J. Kirpal, K. Pürckhauer, A. J. Weymouth und F. J. Giessibl, “Ion mobility and material transport on KBr in air as a function of the relative humidity,” *Beilstein Journal of Nanotechnology*, Jg. 10, S. 2084–2093, 2019.
- [35] P. K. Hansma, G. Schitter, G. E. Fantner und C. Prater, “High-Speed Atomic Force Microscopy,” *Science*, Jg. 314, Nr. 5799, S. 601–602, 2006.
- [36] T. Ando, “High-speed atomic force microscopy and its future prospects,” *Biophysical Reviews*, Jg. 10, Nr. 2, S. 285–292, 2018.
- [37] S. Morita, F. J. Giessibl, E. Meyer und R. Wiesendanger, *Noncontact Atomic Force Microscopy*. Cham: Springer International Publishing, 2015.
- [38] M. Dantus, R. M. Bowman und A. H. Zewail, “Femtosecond laser observations of molecular vibration and rotation,” *Nature*, Jg. 343, Nr. 6260, S. 737–739, 1990.
- [39] A. Othonos, “Probing ultrafast carrier and phonon dynamics in semiconductors,” *Journal of Applied Physics*, Jg. 83, Nr. 4, S. 1789–1830, 1998.

- [40] C. Jin, E. Y. Ma, O. Karni, E. C. Regan, F. Wang und T. F. Heinz, “Ultrafast dynamics in van der Waals heterostructures,” *Nature Nanotechnology*, Jg. 13, Nr. 11, S. 994–1003, 2018.
- [41] T. L. Cocker, D. Peller, P. Yu, J. Repp und R. Huber, “Tracking the ultrafast motion of a single molecule by femtosecond orbital imaging,” *Nature*, Jg. 539, Nr. 7628, S. 263–267, 2016.
- [42] P. Merkl, F. Mooshammer, P. Steinleitner, A. Girnghuber, K.-Q. Lin, P. Nagler, J. Holler, C. Schüller, J. M. Lupton, T. Korn, S. Ovesen, S. Brem, E. Malic und R. Huber, “Ultrafast transition between exciton phases in van der Waals heterostructures,” *Nature Materials*, Jg. 18, Nr. 7, S. 691–696, 2019.
- [43] F. London, “Zur Theorie und Systematik der Molekularkräfte,” *Zeitschrift für Physik*, Jg. 63, Nr. 3-4, S. 245–279, 1930.
- [44] H. C. Hamaker, “The London - van der Waals attraction between spherical particles,” *Physica*, Jg. 4, Nr. 10, S. 2404–2407, 1937.
- [45] J. N. Israelachvili, “Van der Waals Forces between Particles and Surfaces,” in *Intermolecular and Surface Forces*, Third Edit, San Diego: Elsevier, 2011, S. 253–289.
- [46] F. J. Giessibl, “Forces and frequency shifts in atomic-resolution dynamic-force microscopy,” *Physical Review B*, Jg. 56, Nr. 24, S. 16 010, 1997.
- [47] J. N. Munday, F. Capasso und V. A. Parsegian, “Measured long-range repulsive Casimir–Lifshitz forces,” *Nature*, Jg. 457, Nr. 7226, S. 170–173, 2009.
- [48] B. M. Law und F. Rieutord, “Electrostatic forces in atomic force microscopy,” *Physical Review B*, Jg. 66, Nr. 3, S. 035 402, 2002.
- [49] W. Pauli, “Über den Zusammenhang des Abschlusses der Elektronengruppen im Atom mit der Komplexstruktur der Spektren,” *Zeitschrift für Physik*, Jg. 31, Nr. 1, S. 765–783, 1925.
- [50] J. E. Jones und S. Chapman, “On the determination of molecular fields. —II. From the equation of state of a gas,” *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character*, Jg. 106, Nr. 738, S. 463–477, 1924.
- [51] F. Huber, J. Berwanger, S. Polesya, S. Mankovsky, H. Ebert und F. J. Giessibl, “Chemical bond formation showing a transition from physisorption to chemisorption,” *Science*, Jg. 366, Nr. 6462, S. 235–238, 2019.
- [52] Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg. “Zusammensetzung der Luft.” (2020), Adresse: <https://www.lubw.baden-wuerttemberg.de/luft/zusammensetzung-der-luft> (besucht am 01.08.2020).

- [53] S. Santos und A. Verdaguer, "Imaging Water Thin Films in Ambient Conditions Using Atomic Force Microscopy," *Materials*, Jg. 9, Nr. 3, S. 182, 2016.
- [54] B. Bhushan, "Adhesion and stiction: Mechanisms, measurement techniques, and methods for reduction," *Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures*, Jg. 21, Nr. 6, S. 2262, 2003.
- [55] H.-J. Butt, B. Cappella und M. Kappl, "Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications," *Surface Science Reports*, Jg. 59, Nr. 1-6, S. 1–152, 2005.
- [56] D. S. Wastl, "Atomar aufgelöste Rasterkraftmikroskopie an Luft: Aufbau, Technik, Optimierung und Anwendung auf Graphit, Graphen, Kaliumbromid, Calcit und Molekülfilmern," Doktorarbeit, Universität Regensburg, 2015.
- [57] A. Engel und D. J. Müller, "Observing single biomolecules at work with the atomic force microscope," *Nature Structural & Molecular Biology*, Jg. 7, Nr. 9, S. 715–718, 2000.
- [58] D. Fotiadis, S. Scheuring, S. A. Müller, A. Engel und D. J. Müller, "Imaging and manipulation of biological structures with the AFM," *Micron*, Jg. 33, Nr. 4, S. 385–397, 2002.
- [59] F. J. Giessibl, "Advances in atomic force microscopy," *Reviews of modern physics*, Jg. 75, Nr. 3, S. 949, 2003.
- [60] F. J. Giessibl, "Subatomic Features on the Silicon (111)-(7x7) Surface Observed by Atomic Force Microscopy," *Science*, Jg. 289, Nr. 5478, S. 422–425, 2000.
- [61] M. Emmrich, F. Huber, F. Pielmeier, J. Welker, T. Hofmann, M. Schneiderbauer, D. Meuer, S. Polesya, S. Mankovsky, D. Kodderitzsch, H. Ebert und F. J. Giessibl, "Subatomic resolution force microscopy reveals internal structure and adsorption sites of small iron clusters," *Science*, Jg. 348, Nr. 6232, S. 308–311, 2015.
- [62] K. Kobayashi, H. Yamada und K. Matsushige, "Frequency noise in frequency modulation atomic force microscopy," *Review of Scientific Instruments*, Jg. 80, Nr. 4, S. 43708, 2009.
- [63] E. Wutscher und F. J. Giessibl, "Atomic force microscopy at ambient and liquid conditions with stiff sensors and small amplitudes," *Review of Scientific Instruments*, Jg. 82, Nr. 9, S. 93703, 2011.
- [64] 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*, Jg. 69, Nr. 2, S. 668–673, 1991.
- [65] F. J. Giessibl, H. Bielefeldt, S. Hembacher und J. Mannhart, "Calculation of the optimal imaging parameters for frequency modulation atomic force microscopy," *Applied Surface Science*, Jg. 140, Nr. 3, S. 352–357, 1999.

- [66] R. C. Tung, T. Wutscher, D. Martinez-Martin, R. G. Reifenberger, F. Giessibl und A. Raman, “Higher-order eigenmodes of qPlus sensors for high resolution dynamic atomic force microscopy,” *Journal of Applied Physics*, Jg. 107, Nr. 10, S. 104508, 2010.
- [67] J. Jahng, J. Brocious, D. A. Fishman, S. Yampolsky, D. Nowak, F. Huang, V. A. Apkarian, H. K. Wickramasinghe und E. O. Potma, “Ultrafast pump-probe force microscopy with nanoscale resolution,” *Applied Physics Letters*, Jg. 106, Nr. 8, S. 083113, 2015.
- [68] F. J. Giessibl, “Vorrichtung zum berührungslosen Abtasten von Oberflächen und Verfahren dafür,” DE 19633546 C2, Deutsches Patent- und Markenamt, 2000.
- [69] O. E. Dagdeviren, Y. Miyahara, A. Mascaro und P. Grütter, “Calibration of the oscillation amplitude of electrically excited scanning probe microscopy sensors,” *Review of Scientific Instruments*, Jg. 90, Nr. 1, S. 013703, 2019.
- [70] M. Lee, B. Kim, S. An und W. Jhe, “Dynamic Responses of Electrically Driven Quartz Tuning Fork and qPlus Sensor: A Comprehensive Electromechanical Model for Quartz Tuning Fork,” *Sensors*, Jg. 19, Nr. 12, S. 2686, 2019.
- [71] J. E. Sader, J. W. M. Chon und P. Mulvaney, “Calibration of rectangular atomic force microscope cantilevers,” *Review of Scientific Instruments*, Jg. 70, Nr. 10, S. 3967–3969, 1999.
- [72] C. J. Chen, *Introduction to Scanning Tunneling Microscopy*, Second Edi. Oxford: Oxford University Press, 2007.
- [73] J. Welker, F. de Faria Elsner und F. J. Giessibl, “Application of the equipartition theorem to the thermal excitation of quartz tuning forks,” *Applied Physics Letters*, Jg. 99, Nr. 8, S. 84102, 2011.
- [74] F. Huber, “Charakterisierung und Optimierung des Auslenkungsrauschens von Vorverstärkern für piezoelektrische Kraftsensoren,” Bachelorarbeit, Universität Regensburg, 2011.
- [75] H.-J. Butt und M. Jaschke, “Calculation of thermal noise in atomic force microscopy,” *Nanotechnology*, Jg. 6, Nr. 1, S. 1–7, 1995.
- [76] G. Hähner, “Dynamic spring constants for higher flexural modes of cantilever plates with applications to atomic force microscopy,” *Ultramicroscopy*, Jg. 110, Nr. 7, S. 801–806, 2010.
- [77] T. R. Rodríguez und R. García, “Compositional mapping of surfaces in atomic force microscopy by excitation of the second normal mode of the microcantilever,” *Applied Physics Letters*, Jg. 84, Nr. 3, S. 449–451, 2004.
- [78] R. Garcia und E. T. Herruzo, “The emergence of multifrequency force microscopy,” *Nature Nanotechnology*, Jg. 7, Nr. 4, S. 217–226, 2012.

- [79] Y. F. Dufrêne, T. Ando, R. Garcia, D. Alsteens, D. Martinez-Martin, A. Engel, C. Gerber und D. J. Müller, “Imaging modes of atomic force microscopy for application in molecular and cell biology,” *Nature Nanotechnology*, Jg. 12, Nr. 4, S. 295–307, 2017.
- [80] A. J. Weymouth, “Non-contact lateral force microscopy,” *Journal of Physics: Condensed Matter*, Jg. 29, Nr. 32, S. 323 001, 2017.
- [81] Y. Yamada, T. Ichii, T. Utsunomiya und H. Sugimura, “Simultaneous detection of vertical and lateral forces by bimodal AFM utilizing a quartz tuning fork sensor with a long tip,” *Japanese Journal of Applied Physics*, Jg. 58, Nr. 9, S. 095 003, 2019.
- [82] G. H. Simon, M. Heyde und H.-P. Rust, “Recipes for cantilever parameter determination in dynamic force spectroscopy: spring constant and amplitude,” *Nanotechnology*, Jg. 18, Nr. 25, S. 255 503, 2007.
- [83] D. Kirpal, “Dynamische Rasterkraftmikroskopie unter Umgebungsbedingungen mit verschiedenen Biegemoden,” Masterarbeit, Universität Regensburg, 2016.
- [84] D. van Vörden, M. Lange, M. Schmuck, N. Schmidt und R. Möller, “Spring constant of a tuning-fork sensor for dynamic force microscopy,” *Beilstein Journal of Nanotechnology*, Jg. 3, Nr. 1, S. 809–816, 2012.
- [85] J. Falter, M. Stieffermann, G. Langewisch, P. Schurig, H. Hölscher, H. Fuchs und A. Schirmeisen, “Calibration of quartz tuning fork spring constants for non-contact atomic force microscopy: direct mechanical measurements and simulations,” *Beilstein Journal of Nanotechnology*, Jg. 5, Nr. 1, S. 507–516, 2014.
- [86] K. G. Foote und D. N. MacLennan, “Comparison of copper and tungsten carbide calibration spheres,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, Jg. 75, Nr. 2, S. 612–616, 1984.
- [87] J. E. Comeforo, R. A. Hatch, R. A. Humphrey und W. Eitel, “Synthetic Mica Investigations: I, A Hot-Pressed Machinable Ceramic Dielectric,” *Journal of the American Ceramic Society*, Jg. 36, Nr. 9, S. 286–294, 1953.
- [88] Maximex GmbH & Co. KG. “J-B Weld: Anleitung.” (2006), Adresse: <https://cdn-reichelt.de/documents/datenblatt/D800/90255JBWELLDANLD4X.pdf> (besucht am 05.08.2020).
- [89] Epoxy Technology Inc., *EPO-TEK® H20E: Technical Data Sheet*, Rev. XVII, Datenblatt, 2019, Rev. XVII.
- [90] E. R. Dobrovinskaya, L. A. Lytvynov und V. Pishchik, “Properties of Sapphire,” in *Sapphire*, Boston, MA: Springer US, 2009, S. 55–176.
- [91] V. Pishchik, L. A. Lytvynov und E. R. Dobrovinskaya, *Sapphire*. Boston, MA: Springer US, 2009.

- [92] D. S. Wastl, “Dynamische Rasterkraftmikroskopie mit Quarzsensoren unter Umgebungsbedingungen und in Flüssigkeiten,” Diplomarbeit, Universität Regensburg, 2011.
- [93] I. Ekvall, E. Wahlström, D. Claesson, H. Olin und E. Olsson, “Preparation and characterization of electrochemically etched W tips for STM,” *Measurement Science and Technology*, Jg. 10, Nr. 1, S. 11–18, 1999.
- [94] B.-F. Ju, Y.-L. Chen und Y. Ge, “The art of electrochemical etching for preparing tungsten probes with controllable tip profile and characteristic parameters,” *Review of Scientific Instruments*, Jg. 82, Nr. 1, S. 013707, 2011.
- [95] A. I. Oliva, A. Romero G., J. L. Peña, E. Anguiano und M. Aguilar, “Electrochemical preparation of tungsten tips for a scanning tunneling microscope,” *Review of Scientific Instruments*, Jg. 67, Nr. 5, S. 1917–1921, 1996.
- [96] J. P. Ibe, P. P. Bey, S. L. Brandow, R. A. Brizzolara, N. A. Burnham, D. P. DiLella, K. P. Lee, C. R. K. Marrian und R. J. Colton, “On the electrochemical etching of tips for scanning tunneling microscopy,” *Journal of Vacuum Science & Technology A: Vacuum, Surfaces, and Films*, Jg. 8, Nr. 4, S. 3570–3575, 1990.
- [97] T. Hagedorn, M. E. Ouali, W. Paul, D. Oliver, Y. Miyahara und P. Grütter, “Refined tip preparation by electrochemical etching and ultrahigh vacuum treatment to obtain atomically sharp tips for scanning tunneling microscope and atomic force microscope,” *Review of Scientific Instruments*, Jg. 82, Nr. 11, S. 113903, 2011.
- [98] M. Kulawik, M. Nowicki, G. Thielsch, L. Cramer, H.-P. Rust, H.-J. Freund, T. P. Pearl und P. S. Weiss, “A double lamellae dropoff etching procedure for tungsten tips attached to tuning fork atomic force microscopy/scanning tunneling microscopy sensors,” *Review of Scientific Instruments*, Jg. 74, Nr. 2, S. 1027–1030, 2003.
- [99] L. A. Hockett und S. E. Creager, “A convenient method for removing surface oxides from tungsten STM tips,” *Review of Scientific Instruments*, Jg. 64, Nr. 1, S. 263–264, 1993.
- [100] M. Emmrich, “Subatomare Auflösung auf Adatomen und kraftfeldabhängige laterale Manipulation mit einem eigenentwickelten Tieftemperatur-Rasterkraftmikroskop,” Doktorarbeit, University of Regensburg, 2015.
- [101] L. Libioulle, Y. Houbion und J.-M. Gilles, “Very sharp platinum tips for scanning tunneling microscopy,” *Review of Scientific Instruments*, Jg. 66, Nr. 1, S. 97–100, 1995.
- [102] M. Kupper, “Very Sharp Platinum Tips by Electrochemical Etching,” Bachelorarbeit, Technische Universität Graz, 2012.
- [103] A. H. Sørensen, U. Hvid, M. W. Mortensen und K. A. Mørch, “Preparation of platinum/iridium scanning probe microscopy tips,” *Review of Scientific Instruments*, Jg. 70, Nr. 7, S. 3059–3067, 1999.

- [104] K. Pürckhauer, S. Maier, A. Merkel, D. Kirpal und F. J. Giessibl, “Combined atomic force microscope and scanning tunneling microscope with high optical access achieving atomic resolution in ambient conditions,” *Review of Scientific Instruments*, Jg. 91, Nr. 8, S. 083 701, 2020.
- [105] J. Hu, X.-D. Xiao, D. F. Ogletree und M. Salmeron, “Imaging the Condensation and Evaporation of Molecularly Thin Films of Water with Nanometer Resolution,” *Science*, Jg. 268, Nr. 5208, S. 267–269, 1995.
- [106] S. H. Pan, E. W. Hudson und J. C. Davis, “ ^3He refrigerator based very low temperature scanning tunneling microscope,” *Review of Scientific Instruments*, Jg. 70, Nr. 2, S. 1459–1463, 1999.
- [107] S.-i. Park und C. F. Quate, “Scanning tunneling microscope,” *Review of Scientific Instruments*, Jg. 58, Nr. 11, S. 2010–2017, 1987.
- [108] OSNABRUEGGE GmbH & Co. KG, *Werkstoff 1.3981 / KOVAR*, Datenblatt, 2009.
- [109] Epoxy Technology Inc., *EPO-TEK® H70E: Technical Data Sheet*, Rev. XIII, Datenblatt, 2019.
- [110] R. v. Mises, “Mechanik der festen Körper im plastisch- deformablen Zustand,” *Nachrichten von der Gesellschaft der Wissenschaften zu Göttingen, Mathematisch-Physikalische Klasse*, Jg. 1913, S. 582–592, 1913.
- [111] M. Ternes, C. González, C. P. Lutz, P. Hapala, F. J. Giessibl, P. Jelínek und A. J. Heinrich, “Interplay of Conductance, Force, and Structural Change in Metallic Point Contacts,” *Phys. Rev. Lett.*, Jg. 106, Nr. 1, S. 16 802, 2011.
- [112] A. Labuda, Y. Miyahara, L. Cockins und P. H. Grütter, “Decoupling conservative and dissipative forces in frequency modulation atomic force microscopy,” *Phys. Rev. B*, Jg. 84, Nr. 12, S. 125 433, 2011.
- [113] G. Binnig und D. P. E. Smith, “Single-tube three-dimensional scanner for scanning tunneling microscopy,” *Review of Scientific Instruments*, Jg. 57, Nr. 8, S. 1688–1689, 1986.
- [114] Texas Instruments Inc., *OPA657 1.6-GHz, Low-Noise, FET-Input Operational Amplifier*, Datenblatt, 2015.
- [115] F. Huber und F. J. Giessibl, “Low noise current preamplifier for qPlus sensor deflection signal detection in atomic force microscopy at room and low temperatures,” *Review of Scientific Instruments*, Jg. 88, Nr. 7, S. 73 702, 2017.
- [116] Analog Devices Inc., *AD823, Dual, 16 MHz, Rail-to-Rail FET Input Amplifier*, Datenblatt, Norwood, Massachusetts, USA, 2011.
- [117] Texas Instruments. “LM137, LM337-N 3-Terminal Adjustable Negative Regulators.” (2016), Adresse: <http://www.ti.com> (besucht am 31.01.2020).

- [118] J. Federau, *Operationsverstärker*. Wiesbaden: Springer Vieweg, 2017.
- [119] EBL Products Inc., *PIEZOCERAMIC TUBES*, Datenblatt, East Hartford, 2018.
- [120] C.-L. Jia, S.-B. Mi, K. Urban, I. Vrejoiu, M. Alexe und D. Hesse, “Atomic-scale study of electric dipoles near charged and uncharged domain walls in ferroelectric films,” *Nature Materials*, Jg. 7, Nr. 1, S. 57–61, 2008.
- [121] T. Hegewald, “Modellierung des nichtlinearen Verhaltens piezokeramischer Aktoren,” Doktorarbeit, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg (FAU), 2008.
- [122] S. Hembacher, F. J. Giessibl, J. Mannhart und C. F. Quate, “Revealing the hidden atom in graphite by low-temperature atomic force microscopy,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Jg. 100, Nr. 22, 12539 LP –12 542, 2003.
- [123] J. H. K. Pfisterer, Y. Liang, O. Schneider und A. S. Bandarenka, “Direct instrumental identification of catalytically active surface sites,” *Nature*, Jg. 549, Nr. 7670, S. 74–77, 2017.
- [124] K. Pürckhauer, A. J. Weymouth, K. Pfeffer, L. Kullmann, E. Mulvihill, M. P. Krahn, D. J. Müller und F. J. Giessibl, “Imaging in Biologically-Relevant Environments with AFM Using Stiff qPlus Sensors,” *Scientific Reports*, Jg. 8, Nr. 1, S. 9330, 2018.
- [125] “Teflon®,” in *Encyclopedic Dictionary of Polymers*, J. W. Gooch, Hrsg. New York, NY: Springer New York, 2007, S. 955.
- [126] DuPont Fluoroproducts, *Teflon® PTFE - Properties Handbook*, Wilmington, USA, 2017.
- [127] Nobel Media AB 2020. “Prize announcement.” (2017), Adresse: <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2017/prize-announcement/> (besucht am 20.05.2020).
- [128] N. C. Santos und M. A. R. B. Castanho, “An overview of the biophysical applications of atomic force microscopy,” *Biophysical chemistry*, Jg. 107, Nr. 2, S. 133–149, 2004.
- [129] J. K. H. Hörber und M. J. Miles, “Scanning probe evolution in biology,” *Science*, Jg. 302, Nr. 5647, S. 1002–1005, 2003.
- [130] A. D. L. Humphris, J. Tamayo und M. J. Miles, “Active quality factor control in liquids for force spectroscopy,” *Langmuir*, Jg. 16, Nr. 21, S. 7891–7894, 2000.
- [131] J. Tamayo, A. D. L. Humphris und M. J. Miles, “Piconewton regime dynamic force microscopy in liquid,” *Applied Physics Letters*, Jg. 77, Nr. 4, S. 582–584, 2000.
- [132] T. E. Schäffer, J. P. Cleveland, F. Ohnesorge, D. A. Walters und P. K. Hansma, “Studies of vibrating atomic force microscope cantilevers in liquid,” *Journal of Applied Physics*, Jg. 80, Nr. 7, S. 3622–3627, 1996.
- [133] W. Han, S. M. Lindsay und T. Jing, “A magnetically driven oscillating probe microscope for operation in liquids,” *Applied Physics Letters*, Jg. 69, Nr. 26, S. 4111–4113, 1996.

- [134] I. Revenko und R. Proksch, “Magnetic and acoustic tapping mode microscopy of liquid phase phospholipid bilayers and DNA molecules,” *Journal of Applied Physics*, Jg. 87, Nr. 1, S. 526–533, 2000.
- [135] G. C. Ratcliff, D. A. Erie und R. Superfine, “Photothermal modulation for oscillating mode atomic force microscopy in solution,” *Applied physics letters*, Jg. 72, Nr. 15, S. 1911–1913, 1998.
- [136] A. Labuda, K. Kobayashi, D. Kiracofe, K. Suzuki, P. H. Grütter und H. Yamada, “Comparison of photothermal and piezoacoustic excitation methods for frequency and phase modulation atomic force microscopy in liquid environments,” *AIP Advances*, Jg. 1, Nr. 2, S. 22136, 2011.
- [137] Y. Lyubchenko, L. Shlyakhtenko, R. Harrington, P. Oden und S. Lindsay, “Atomic force microscopy of long DNA: imaging in air and under water.,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Jg. 90, Nr. 6, S. 2137–2140, 1993.
- [138] P. A. Wiggins, T. van der Heijden, F. Moreno-Herrero, A. Spakowitz, R. Phillips, J. Widom, C. Dekker und P. C. Nelson, “High flexibility of DNA on short length scales probed by atomic force microscopy,” *Nature Nanotechnology*, Jg. 1, Nr. 2, S. 137–141, 2006.
- [139] P. R. Heenan und T. T. Perkins, “Imaging DNA Equilibrated onto Mica in Liquid Using Biochemically Relevant Deposition Conditions,” *ACS Nano*, Jg. 13, Nr. 4, S. 4220–4229, 2019.
- [140] T. Fukuma, M. J. Higgins und S. P. Jarvis, “Direct imaging of lipid-ion network formation under physiological conditions by frequency modulation atomic force microscopy,” *Physical Review Letters*, Jg. 98, Nr. 10, S. 106101, 2007.
- [141] M.-P. Mingeot-Leclercq, M. Deleu, R. Brasseur und Y. F. Dufrêne, “Atomic force microscopy of supported lipid bilayers,” *Nature Protocols*, Jg. 3, Nr. 10, S. 1654, 2008.
- [142] R. P. Richter und A. R. Brisson, “Following the Formation of Supported Lipid Bilayers on Mica: A Study Combining AFM, QCM-D, and Ellipsometry,” *Biophysical Journal*, Jg. 88, Nr. 5, S. 3422–3433, 2005.
- [143] D. J. Müller und A. Engel, “Atomic force microscopy and spectroscopy of native membrane proteins,” *Nature Protocols*, Jg. 2, Nr. 9, S. 2191, 2007.
- [144] M. Pfreundschuh, D. Martinez-Martin, E. Mulvihill, S. Wegmann und D. J. Müller, “Multiparametric high-resolution imaging of native proteins by force-distance curve-based AFM,” *Nature Protocols*, Jg. 9, Nr. 5, S. 1113, 2014.
- [145] Y. Liang, D. Fotiadis, S. Filipek, D. A. Saperstein, K. Palczewski und A. Engel, “Organization of the G protein-coupled receptors rhodopsin and opsin in native membranes,” *Journal of Biological Chemistry*, Jg. 278, Nr. 24, S. 21655–21662, 2003.

- [146] E. W. Radoslovich, "The structure of muscovite, $\text{KAl}_2(\text{Si}_3\text{Al})\text{O}_{10}(\text{OH})_2$," *Acta Crystallographica*, Jg. 13, Nr. 11, S. 919–932, 1960.
- [147] Y.-H. Chu, "Van der Waals oxide heteroepitaxy," *npj Quantum Materials*, Jg. 2, Nr. 1, S. 67, 2017.
- [148] T. Fukuma, Y. Ueda, S. Yoshioka und H. Asakawa, "Atomic-Scale Distribution of Water Molecules at the Mica-Water Interface Visualized by Three-Dimensional Scanning Force Microscopy," *Physical Review Letters*, Jg. 104, Nr. 1, S. 016 101, 2010.
- [149] K. Müller und C. Chang, "Electric dipoles on clean mica surfaces," *Surface Science*, Jg. 14, Nr. 1, S. 39–51, 1969.
- [150] G. Gstraunthaler und T. Lindl, *Zell- und Gewebekultur*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013, S. 69–87.
- [151] R. J. Driscoll, M. G. Youngquist und J. D. Baldeschwieler, "Atomic-scale imaging of DNA using scanning tunnelling microscopy," *Nature*, Jg. 346, Nr. 6281, S. 294–296, 1990.
- [152] P. G. Arscott, G. Lee, V. A. Bloomfield und D. F. Evans, "Scanning tunnelling microscopy of Z-DNA," *Nature*, Jg. 339, Nr. 6224, S. 484–486, 1989.
- [153] D. D. Dunlap und C. Bustamante, "Images of single-stranded nucleic acids by scanning tunnelling microscopy," *Nature*, Jg. 342, Nr. 6246, S. 204–206, 1989.
- [154] C. Bustamante, J. Vesenka, C. L. Tang, W. Rees, M. Guthold und R. Keller, "Circular DNA molecules imaged in air by scanning force microscopy," *Biochemistry*, Jg. 31, Nr. 1, S. 22–26, 1992.
- [155] H. G. Hansma, J. Vesenka, C. Siegerist, G. Kelderman, H. Morrett, R. L. Sinsheimer, V. Elings, C. Bustamante und P. K. Hansma, "Reproducible Imaging and Dissection of Plasmid DNA Under Liquid with the Atomic Force Microscope," *Science*, Jg. 256, Nr. 5060, S. 1180–1184, 1992.
- [156] T. Thundat, D. Allison, R. Warmack und T. Ferrell, "Imaging isolated strands of DNA molecules by atomic force microscopy," *Ultramicroscopy*, Jg. 42-44, Nr. Part 2, S. 1101–1106, 1992.
- [157] J. Yang, K. Takeyasu und Z. Shao, "Atomic force microscopy of DNA molecules," *FEBS Letters*, Jg. 301, Nr. 2, S. 173–176, 1992.
- [158] A. Schaper, L. I. Pietrasanta und T. M. Jovin, "Scanning force microscopy of circular and linear plasmid DNA spread on mica with a quaternary ammonium salt," *Nucleic Acids Research*, Jg. 21, Nr. 25, S. 6004–6009, 1993.

- [159] S. J. T. van Noort, K. O. van der Werf, A. P. Eker, C. Wyman, B. G. de Grooth, N. F. van Hulst und J. Greve, "Direct Visualization of Dynamic Protein-DNA Interactions with a Dedicated Atomic Force Microscope," *Biophysical Journal*, Jg. 74, Nr. 6, S. 2840–2849, 1998.
- [160] L. S. Shlyakhtenko, A. Y. Lushnikov, A. Miyagi und Y. L. Lyubchenko, "Specificity of Binding of Single-Stranded DNA-Binding Protein to Its Target," *Biochemistry*, Jg. 51, Nr. 7, S. 1500–1509, 2012.
- [161] J. D. Watson und F. H. C. Crick, "Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid," *Nature*, Jg. 171, Nr. 4356, S. 737–738, 1953.
- [162] Z. Liu, Z. Li, H. Zhou, G. Wei, Y. Song und L. Wang, "Imaging DNA molecules on mica surface by atomic force microscopy in air and in liquid," *Microscopy Research and Technique*, Jg. 66, Nr. 4, S. 179–185, 2005.
- [163] P. Christen, R. Jaussi und R. Benoit, *Biochemie und Molekularbiologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2016.
- [164] A. H.-J. Wang, G. J. Quigley, F. J. Kolpak, J. L. Crawford, J. H. van Boom, G. van der Marel und A. Rich, "Molecular structure of a left-handed double helical DNA fragment at atomic resolution," *Nature*, Jg. 282, Nr. 5740, S. 680–686, 1979.
- [165] E. Wietek, "Abbildern von DNA mit qPlus Sensoren in Luft und Flüssigkeiten," Bachelorarbeit, Universität Regensburg, 2018.
- [166] K. Sanderson, "Bioengineering: What to make with DNA origami," *Nature*, Jg. 464, Nr. 7286, S. 158–159, 2010.
- [167] P. Rothmund, "Design of DNA origami," in *ICCAD-2005. IEEE/ACM International Conference on Computer-Aided Design, 2005.*, IEEE, S. 471–478.
- [168] A. M. Hung, C. M. Micheel, L. D. Bozano, L. W. Osterbur, G. M. Wallraff und J. N. Cha, "Large-area spatially ordered arrays of gold nanoparticles directed by lithographically confined DNA origami," *Nature Nanotechnology*, Jg. 5, Nr. 2, S. 121–126, 2010.
- [169] Q. Liu, C. Song, Z.-G. Wang, N. Li und B. Ding, "Precise organization of metal nanoparticles on DNA origami template," *Methods*, Jg. 67, Nr. 2, S. 205–214, 2014.
- [170] J. Bath und A. J. Turberfield, "DNA nanomachines," *Nature Nanotechnology*, Jg. 2, Nr. 5, S. 275–284, 2007.
- [171] A. Kuzuya und Y. Ohya, "Nanomechanical Molecular Devices made of DNA Origami," *Accounts of Chemical Research*, Jg. 47, Nr. 6, S. 1742–1749, 2014.
- [172] P. Wang, T. A. Meyer, V. Pan, P. K. Dutta und Y. Ke, "The Beauty and Utility of DNA Origami," *Chem*, Jg. 2, Nr. 3, S. 359–382, 2017.

- [173] Q. Zhang, Q. Jiang, N. Li, L. Dai, Q. Liu, L. Song, J. Wang, Y. Li, J. Tian, B. Ding und Y. Du, “DNA Origami as an In Vivo Drug Delivery Vehicle for Cancer Therapy,” *ACS Nano*, Jg. 8, Nr. 7, S. 6633–6643, 2014.
- [174] S. P. Surwade, S. Zhao und H. Liu, “Molecular Lithography through DNA-Mediated Etching and Masking of SiO₂,” *Journal of the American Chemical Society*, Jg. 133, Nr. 31, S. 11 868–11 871, 2011.
- [175] H. Kim, S. P. Surwade, A. Powell, C. O’Donnell und H. Liu, “Stability of DNA Origami Nanostructure under Diverse Chemical Environments,” *Chemistry of Materials*, Jg. 26, Nr. 18, S. 5265–5273, 2014.
- [176] S. P. Surwade, F. Zhou, B. Wei, W. Sun, A. Powell, C. O’Donnell, P. Yin und H. Liu, “Nanoscale Growth and Patterning of Inorganic Oxides Using DNA Nanostructure Templates,” *Journal of the American Chemical Society*, Jg. 135, Nr. 18, S. 6778–6781, 2013.
- [177] Y. Choi, C. Schmidt, P. Tinnefeld, I. Bald und S. Rödiger, “A new reporter design based on DNA origami nanostructures for quantification of short oligonucleotides using microbeads,” *Scientific Reports*, Jg. 9, Nr. 1, S. 4769, 2019.
- [178] E. Ukraintsev, A. Kromka, H. Kozak, Z. Reme und B. Rezek, “Artifacts in Atomic Force Microscopy of Biological Samples,” in *Atomic Force Microscopy Investigations into Biology - From Cell to Protein*, A. Kromka, Hrsg., Rijeka: InTech, 2012, Ch. 2.
- [179] W. Buselmaier und J. Haussig, *Biologie für Mediziner*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2018.
- [180] S. J. Singer und G. L. Nicolson, “The Fluid Mosaic Model of the Structure of Cell Membranes,” *Science*, Jg. 175, Nr. 4023, 720 LP –731, 1972.
- [181] E. Sezgin, I. Levental, S. Mayor und C. Eggeling, “The mystery of membrane organization: composition, regulation and roles of lipid rafts,” *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, Jg. 18, Nr. 6, S. 361–374, 2017.
- [182] R. G. Horn, “Direct measurement of the force between two lipid bilayers and observation of their fusion,” *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, Jg. 778, Nr. 1, S. 224–228, 1984.
- [183] J. Jass, T. Tjärnhage und G. Puu, “From Liposomes to Supported, Planar Bilayer Structures on Hydrophilic and Hydrophobic Surfaces: An Atomic Force Microscopy Study,” *Biophysical Journal*, Jg. 79, Nr. 6, S. 3153–3163, 2000.
- [184] H. Asakawa und T. Fukuma, “The molecular-scale arrangement and mechanical strength of phospholipid/cholesterol mixed bilayers investigated by frequency modulation atomic force microscopy in liquid,” *Nanotechnology*, Jg. 20, Nr. 26, S. 264 008, 2009.

- [185] H. Asakawa, S. Yoshioka, K.-i. Nishimura und T. Fukuma, “Spatial Distribution of Lipid Headgroups and Water Molecules at Membrane/Water Interfaces Visualized by Three-Dimensional Scanning Force Microscopy,” *ACS Nano*, Jg. 6, Nr. 10, S. 9013–9020, 2012.
- [186] J. F. Nagle und S. Tristram-Nagle, “Lipid bilayer structure,” *Current opinion in structural biology*, Jg. 10, Nr. 4, S. 474–480, 2000.
- [187] Merck KGaA. “Fatty Acid Distribution - Tissue Types - Avanti® Polar Lipids.” (2018), Adresse: <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biology/fatty-acid-distribution.html> (besucht am 01.04.2020).
- [188] Avanti Polar Lipids Inc. “840051 | Egg PC.” (2018), Adresse: <https://avantilipids.com/product/840051> (besucht am 01.04.2020).
- [189] B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, D. Morgan, M. Raff, K. Roberts und P. Walter, *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science, 2014.
- [190] N. Kučerka, J. F. Nagle, J. N. Sachs, S. E. Feller, J. Pencer, A. Jackson und J. Katsaras, “Lipid bilayer structure determined by the simultaneous analysis of neutron and X-ray scattering data,” *Biophysical journal*, Jg. 95, Nr. 5, S. 2356–2367, 2008.
- [191] Z. Al-Rekabi und S. Contera, “Multifrequency AFM reveals lipid membrane mechanical properties and the effect of cholesterol in modulating viscoelasticity,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Jg. 115, Nr. 11, S. 2658–2663, 2018.
- [192] T. Fukuma, M. J. Higgins und S. P. Jarvis, “Direct Imaging of Individual Intrinsic Hydration Layers on Lipid Bilayers at Ångstrom Resolution,” *Biophysical Journal*, Jg. 92, Nr. 10, S. 3603–3609, 2007.
- [193] K. Pürckhauer, D. Kirpal, A. J. Weymouth und F. J. Giessibl, “Analysis of Airborne Contamination on Transition Metal Dichalcogenides with Atomic Force Microscopy Revealing That Sulfur Is the Preferred Chalcogen Atom for Devices Made in Ambient Conditions,” *ACS Applied Nano Materials*, Jg. 2, Nr. 5, S. 2593–2598, 2019.
- [194] J. Lee, P. Dak, Y. Lee, H. Park, W. Choi, M. A. Alam und S. Kim, “Two-dimensional Layered MoS₂ Biosensors Enable Highly Sensitive Detection of Biomolecules,” *Scientific Reports*, Jg. 4, Nr. 1, S. 7352, 2015.
- [195] A. K. Geim und I. V. Grigorieva, “Van der Waals heterostructures,” *Nature*, Jg. 499, Nr. 7459, S. 419–425, 2013.
- [196] S. J. Haigh, A. Gholinia, R. Jalil, S. Romani, L. Britnell, D. C. Elias, K. S. Novoselov, L. A. Ponomarenko, A. K. Geim und R. Gorbachev, “Cross-sectional imaging of individual layers and buried interfaces of graphene-based heterostructures and superlattices,” *Nature Materials*, Jg. 11, Nr. 9, S. 764–767, 2012.

- [197] H. Qiu, L. Pan, Z. Yao, J. Li, Y. Shi und X. Wang, "Electrical characterization of back-gated bi-layer MoS₂ field-effect transistors and the effect of ambient on their performances," *Applied Physics Letters*, Jg. 100, Nr. 12, S. 123 104, 2012.
- [198] S. Tongay, J. Zhou, C. Ataca, J. Liu, J. S. Kang, T. S. Matthews, L. You, J. Li, J. C. Grossman und J. Wu, "Broad-Range Modulation of Light Emission in Two-Dimensional Semiconductors by Molecular Physisorption Gating," *Nano Letters*, Jg. 13, Nr. 6, S. 2831–2836, 2013.
- [199] M. H. Gass, U. Bangert, A. L. Bleloch, P. Wang, R. R. Nair und A. K. Geim, "Free-standing graphene at atomic resolution," *Nature Nanotechnology*, Jg. 3, Nr. 11, S. 676–681, 2008.
- [200] A. Kozbial, X. Gong, H. Liu und L. Li, "Understanding the Intrinsic Water Wettability of Molybdenum Disulfide (MoS₂)," *Langmuir*, Jg. 31, Nr. 30, S. 8429–8435, 2015.
- [201] Z. Li, Y. Wang, A. Kozbial, G. Shenoy, F. Zhou, R. McGinley, P. Ireland, B. Morganstein, A. Kunkel, S. P. Surwade, L. Li und H. Liu, "Effect of airborne contaminants on the wettability of supported graphene and graphite," *Nature Materials*, Jg. 12, Nr. 10, S. 925–931, 2013.
- [202] Z. Li, A. Kozbial, N. Nioradze, D. Parobek, G. J. Shenoy, M. Salim, S. Amemiya, L. Li und H. Liu, "Water Protects Graphitic Surface from Airborne Hydrocarbon Contamination," *ACS Nano*, Jg. 10, Nr. 1, S. 349–359, 2016.
- [203] J. Gao, B. Li, J. Tan, P. Chow, T.-M. Lu und N. Koratkar, "Aging of Transition Metal Dichalcogenide Monolayers," *ACS Nano*, Jg. 10, Nr. 2, S. 2628–2635, 2016.
- [204] A. P. Rooney, A. Kozikov, A. N. Rudenko, E. Prestat, M. J. Hamer, F. Withers, Y. Cao, K. S. Novoselov, M. I. Katsnelson, R. Gorbachev und S. J. Haigh, "Observing Imperfection in Atomic Interfaces for van der Waals Heterostructures," *Nano Letters*, Jg. 17, Nr. 9, S. 5222–5228, 2017.
- [205] R. C. Longo, R. Addou, S. KC, J.-Y. Noh, C. M. Smyth, D. Barrera, C. Zhang, J. W. P. Hsu, R. M. Wallace und K. Cho, "Intrinsic air stability mechanisms of two-dimensional transition metal dichalcogenide surfaces: basal versus edge oxidation," *2D Materials*, Jg. 4, Nr. 2, S. 25 050, 2017.
- [206] W. Jaegermann und D. Schmeisser, "Reactivity of layer type transition metal chalcogenides towards oxidation," *Surface Science*, Jg. 165, Nr. 1, S. 143–160, 1986.
- [207] Y. Ding, Y. Wang, J. Ni, L. Shi, S. Shi und W. Tang, "First principles study of structural, vibrational and electronic properties of graphene-like MX₂ (M=Mo, Nb, W, Ta; X=S, Se, Te) monolayers," *Physica B: Condensed Matter*, Jg. 406, Nr. 11, S. 2254–2260, 2011.
- [208] F. Wypych, T. Weber und R. Prins, "Scanning Tunneling Microscopic Investigation of 1T-MoS₂," *Chemistry of Materials*, Jg. 10, Nr. 3, S. 723–727, 1998.

- [209] R. Addou, L. Colombo und R. M. Wallace, “Surface Defects on Natural MoS₂,” *ACS Applied Materials & Interfaces*, Jg. 7, Nr. 22, S. 11 921–11 929, 2015.
- [210] T. Fukuma und R. Garcia, “Atomic- and Molecular-Resolution Mapping of Solid–Liquid Interfaces by 3D Atomic Force Microscopy,” *ACS Nano*, Jg. 12, Nr. 12, S. 11 785–11 797, 2018.
- [211] D. S. Wastl, F. Speck, E. Wutscher, M. Ostler, T. Seyller und F. J. Giessibl, “Observation of 4 nm Pitch Stripe Domains Formed by Exposing Graphene to Ambient Air,” *ACS Nano*, Jg. 7, Nr. 11, S. 10 032–10 037, 2013.
- [212] S. Maier, “Lichtfeld-induzierte-Rasterkraftmikroskopie: Konzept, Realisierung und erste Ergebnisse,” Masterarbeit, Universität Regensburg, 2019.
- [213] M. Shibata, H. Yamashita, T. Uchihashi, H. Kandori und T. Ando, “High-speed atomic force microscopy shows dynamic molecular processes in photoactivated bacteriorhodopsin,” *Nature Nanotechnology*, Jg. 5, Nr. 3, S. 208–212, 2010.
- [214] N. Kodera, D. Yamamoto, R. Ishikawa und T. Ando, “Video imaging of walking myosin V by high-speed atomic force microscopy,” *Nature*, Jg. 468, Nr. 7320, S. 72–76, 2010.
- [215] D. Peller, L. Z. Kastner, T. Buchner, C. Roelcke, F. Albrecht, N. Moll, R. Huber und J. Repp, “Sub-cycle atomic-scale forces coherently control a single-molecule switch,” *Nature*, Jg. 585, Nr. 7823, S. 58–62, 2020.
- [216] M. Eisele, T. L. Cocker, M. A. Huber, M. Plankl, L. Viti, D. Ercolani, L. Sorba, M. S. Vitiello und R. Huber, “Ultrafast multi-terahertz nano-spectroscopy with sub-cycle temporal resolution,” *Nature Photonics*, Jg. 8, Nr. 11, S. 841–845, 2014.
- [217] A. Dazzi und C. B. Prater, “AFM-IR: Technology and Applications in Nanoscale Infrared Spectroscopy and Chemical Imaging,” *Chemical Reviews*, Jg. 117, Nr. 7, S. 5146–5173, 2017.
- [218] F. Lu, M. Jin und M. A. Belkin, “Tip-enhanced infrared nanospectroscopy via molecular expansion force detection,” *Nature Photonics*, Jg. 8, Nr. 4, S. 307–312, 2014.
- [219] A. Ambrosio, L. A. Jauregui, S. Dai, K. Chaudhary, M. Tamagnone, M. M. Fogler, D. N. Basov, F. Capasso, P. Kim und W. L. Wilson, “Mechanical Detection and Imaging of Hyperbolic Phonon Polaritons in Hexagonal Boron Nitride,” *ACS Nano*, Jg. 11, Nr. 9, S. 8741–8746, 2017.
- [220] L. Novotny und B. Hecht, *Principles of Nano-Optics*, 2. Edition. Cambridge: Cambridge University Press, 2012.
- [221] H. U. Yang und M. B. Raschke, “Resonant optical gradient force interaction for nano-imaging and -spectroscopy,” *New Journal of Physics*, Jg. 18, Nr. 5, S. 053 042, 2016.

- [222] J. Jahng, E. O. Potma und E. S. Lee, “Tip-Enhanced Thermal Expansion Force for Nanoscale Chemical Imaging and Spectroscopy in Photoinduced Force Microscopy,” *Analytical Chemistry*, Jg. 90, Nr. 18, S. 11 054–11 061, 2018.
- [223] J. Jahng, J. Brocious, D. A. Fishman, F. Huang, X. Li, V. A. Tamma, H. K. Wickramasinghe und E. O. Potma, “Gradient and scattering forces in photoinduced force microscopy,” *Physical Review B*, Jg. 90, Nr. 15, S. 155 417, 2014.
- [224] B. T. O’Callahan, J. Yan, F. Menges, E. A. Muller und M. B. Raschke, “Photoinduced Tip–Sample Forces for Chemical Nanoimaging and Spectroscopy,” *Nano Letters*, Jg. 18, Nr. 9, S. 5499–5505, 2018.
- [225] J. Jahng, E. O. Potma und E. S. Lee, “Nanoscale spectroscopic origins of photoinduced tip–sample force in the midinfrared,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Jg. 116, Nr. 52, S. 26 359–26 366, 2019.
- [226] M. Knorr, J. Raab, M. Tauer, P. Merkl, D. Peller, E. Wittmann, E. Riedle, C. Lange und R. Huber, “Phase-locked multi-terahertz electric fields exceeding 13 MV/cm at a 190 kHz repetition rate,” *Optics Letters*, Jg. 42, Nr. 21, S. 4367, 2017.
- [227] L. Merten, “Zur Ultrarot-Dispersion zweiachsiger und einachsiger Kristalle,” *Zeitschrift für Naturforschung A*, Jg. 23, Nr. 8, S. 1183–1193, 1968.
- [228] R. Kitamura, L. Pilon und M. Jonasz, “Optical constants of silica glass from extreme ultraviolet to far infrared at near room temperature,” *Applied Optics*, Jg. 46, Nr. 33, S. 8118, 2007.
- [229] J. C. Brice, “Crystals for quartz resonators,” *Reviews of Modern Physics*, Jg. 57, Nr. 1, S. 105–146, 1985.
- [230] E. Momosaki und S. Kogure, “The application of piezoelectricity to watches,” *Ferroelectrics*, Jg. 40, Nr. 1, S. 203–216, 1982.
- [231] W. G. Spitzer und D. A. Kleinman, “Infrared Lattice Bands of Quartz,” *Physical Review*, Jg. 121, Nr. 5, S. 1324–1335, 1961.
- [232] A. Bouhelier, M. Beversluis, A. Hartschuh und L. Novotny, “Near-Field Second-Harmonic Generation Induced by Local Field Enhancement,” *Physical Review Letters*, Jg. 90, Nr. 1, S. 013 903, 2003.
- [233] Y. Takahashi, A. Kumatani, H. Munakata, H. Inomata, K. Ito, K. Ino, H. Shiku, P. R. Unwin, Y. E. Korchev, K. Kanamura und T. Matsue, “Nanoscale visualization of redox activity at lithium-ion battery cathodes,” *Nature Communications*, Jg. 5, Nr. 1, S. 5450, 2014.
- [234] K. Mahankali, N. K. Thangavel und L. M. Reddy Arava, “In Situ Electrochemical Mapping of Lithium–Sulfur Battery Interfaces Using AFM–SECM,” *Nano Letters*, Jg. 19, Nr. 8, S. 5229–5236, 2019.

- [235] E. Ventosa und W. Schuhmann, "Scanning electrochemical microscopy of Li-ion batteries," *Physical Chemistry Chemical Physics*, Jg. 17, Nr. 43, S. 28 441–28 450, 2015.
- [236] G. Zampardi, S. Klink, V. Kuznetsov, T. Erichsen, A. Maljusch, F. La Mantia, W. Schuhmann und E. Ventosa, "Combined AFM/SECM Investigation of the Solid Electrolyte Interphase in Li-Ion Batteries," *ChemElectroChem*, Jg. 2, Nr. 10, S. 1607–1611, 2015.
- [237] A. Kueng, C. Kranz, A. Lugstein, E. Bertagnolli und B. Mizaikoff, "Integrated AFM–SECM in Tapping Mode: Simultaneous Topographical and Electrochemical Imaging of Enzyme Activity," *Angewandte Chemie International Edition*, Jg. 42, Nr. 28, S. 3238–3240, 2003.
- [238] C. Kranz, A. Kueng, A. Lugstein, E. Bertagnolli und B. Mizaikoff, "Mapping of enzyme activity by detection of enzymatic products during AFM imaging with integrated SECM–AFM probes," *Ultramicroscopy*, Jg. 100, Nr. 3-4, S. 127–134, 2004.
- [239] R. M. Roth, N. C. Panoiu, M. M. Adams, R. M. Osgood, C. C. Neacsu und M. B. Raschke, "Resonant-plasmon field enhancement from asymmetrically illuminated conical metallic-probe tips," *Optics Express*, Jg. 14, Nr. 7, S. 2921–2931, 2006.
- [240] J. Kokavecz und A. Mechler, "Spring constant of microcantilevers in fundamental and higher eigenmodes," *Physical Review B*, Jg. 78, Nr. 17, S. 172 101, 2008.

Danksagung

Zuallererst möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Franz J. Gießibl für die Möglichkeit danken in seiner Gruppe Grundlagenforschung betreiben zu dürfen und insbesondere an der Zukunft der Rasterkraftmikroskopie an Luft mitwirken zu können. Ferner hat die Freiheit selbst bestimmen zu können, in welche Richtung die eigene Forschung getrieben werden soll, nicht nur die eigene Persönlichkeit reifen lassen, sondern war auch ein guter Nährboden für erfolgreiche Wissenschaft. Außerdem möchte ich mich für die stete Unterstützung, die wissenschaftlichen Diskussionen und nicht zuletzt für die Möglichkeit bedanken, mit der Nanosurf AG gemeinsam an einer kommerziellen Umsetzung unseres AFMs gearbeitet zu haben.

Außerdem danke ich Prof. Dr. Rupert Huber nicht nur für Erstellung des Zweitgutachtens dieser Dissertation, sondern auch für die Motivation und Unterstützung, um gemeinsam mit ihm und seiner Gruppe an der Umsetzung der Lichtfeld-induzierten Rasterkraftmikroskopie arbeiten zu dürfen. Für die bereits gewonnen Einblicke in die Welt der Ultrakurzzeitoptik bin ich überaus dankbar und bin in der frohen Erwartung, dass hier in Zukunft noch weitere bahnbrechende Ergebnisse folgen.

Mein Dank gilt auch allen aktuellen und ehemaligen Mitgliedern der AG Gießibl. Die Zusammenarbeit war mir stets eine Freude, denn sie hat den Weg einer Promotion, der neben den wissenschaftlichen Erfolgen zuweilen auch Misserfolge beinhalten kann, deutlich vereinfacht. Selbstverständlich möchte ich mich nochmals explizit bei Dominik Kirpal bedanken, denn die tolle Zusammenarbeit hat die unzähligen gemeinsamen Stunden im Labor, das Basteln an den Mikroskopen und nicht zuletzt das Analysieren der Daten deutlich leichter gemacht. Zudem danke ich ihm für das Korrekturlesen der Arbeit. Außerdem möchte ich mich noch bei Dr. Julian Berwanger bedanken, der mich abseits unserer wissenschaftlichen Diskussionen auch sportlich mit Tischtennis, Joga-Workout und Squash auf Trab gehalten hat. Danken möchte ich ebenso dem langjährigen Weggefährten Dr. Ferdinand Huber, dessen hilfsbereite Art so einige Arbeit im Labor erleichtert hat. Unvergessen sind seine Worte im Labor, an einem meiner ersten Arbeitstage: „Reiß alles raus und mach alles neu“. Nicht zuletzt möchte ich mich bei Alexander Liebig bedanken, der ebenso Teile der Arbeit korrekturgelesen hat, und mit dem ich zudem auch so manch lustige Geschichte auf Konferenzen erleben durfte.

Auf diesem Weg möchte ich mich auch noch bei Dr. Alfred J. Weymouth bedanken, der häufig auch meine erste Anlaufstelle bei Fragestellungen aller Art war. Auch wenn die gemeinsame Zeit am Tieftemperatur-Mikroskop vergleichsweise kurz ausfiel, so waren die Inbetriebnahme des Mikroskops und die gemeinsamen ersten Messungen eine Freude.

Literatur

Ein besonderer Dank gilt auch Simon Maier von der AG Huber, der mir nicht nur die Optik näher gebracht hat, sondern mit dem es auch eine Freude war gemeinsame Stunden im Labor zu teilen. Dankbar bin ich ihm auch für die Unterstützung durch das Korrekturlesen dieser Dissertation und dem Korrekturlesen der gemeinsamen Veröffentlichung. In diesem Zuge möchte ich mich auch noch bei Mia Seitz und Michael Polaczek bedanken, die bei den Lichtfeld-induzierten Messungen auf Quarz mitgewirkt haben.

Überdies möchte ich Anja Merkel danken, die nicht nur eine große Unterstützung bei der Konstruktion des „Orpheus 2“ war, sondern auch stets in überragender Zeit meine Änderungswünsche und Bestellungen umgesetzt hat.

Ferne danke ich auch nochmals Dr. Lars Kullmann und Prof. Dr. Michael P. Krahn, die entscheidend zur Probenpräparation der Doppellipidschichten beigetragen haben und so die molekulare Auflösung dieser erst möglich machten.

Des Weiteren möchte ich hier noch einen Dank an meine Freunde aus Studienzeiten und vom Hochschulsport aussprechen, die entscheidend zum Ausgleich abseits des universitären Lebens beigetragen haben.

Außerdem gilt der Dank all jenen, deren Namen ich hier nicht mehr explizit aufgeführt habe, und die mich dennoch ob wissenschaftlich oder privat auf diesem Weg begleitet und unterstützt haben.

Abschließend gebührt mein größter Dank meiner Familie, meinen Eltern und meinem Bruder Rafael, die mich nicht nur durch jedes Hoch, sondern auch durch jedes Tal, auf meinem Weg begleitet und mich stets unterstützt haben.

Enden möchte ich mit einem inspirierenden Zitat von Justus v. Liebig (1803-1873):

„Das Geheimnis aller Erfinder ist, nichts für unmöglich anzusehen.“