

# Optische Nahfeldmikroskopie und -spektroskopie als Werkzeug in der chemischen Analytik

**Renato Zenobi\* und Volker Deckert**

Die Erforschung der Welt im Nanometerbereich ist heute ein wichtiges Ziel vieler Wissenschaftszweige: in der Mikroelektronik, der supramolekularen Chemie, aber auch in der Biologie, wenn es darum geht, die Funktionsweise molekularer „Maschinen“ zu verstehen. Zentral dafür ist eine aussagekräftige chemische Analytik, die Informationen über den Nanometerbereich liefert. Während die Elementanalytik mit einer Auflösung von einigen dutzend Nanometern heute fast Routine ist, bereitet die Analytik der *molekularen* Zusammensetzung mit einer Auflösung von  $< 1 \mu\text{m}$  große Probleme. Leider liefern sowohl die Rastertunnelmikroskopie als auch die Rasterkraftmikroskopie kaum chemische Informationen. Diese Anforderungen erfüllt jedoch die Nahfeldmikroskopie (scanning near-field optical

microscopy, SNOM), gewissermaßen die optische Variante der Rastersondenmikroskopie. In Kombination mit optischer Spektroskopie ist es möglich, molekulare Analysen mit einer Auflösung von 50 nm durchzuführen. Bei der SNOM wird eine winzige Lichtquelle in einem Abstand von wenigen Nanometern über die zu analysierende Probenoberfläche geführt. Im optischen Nahfeld wird ein Fleck beleuchtet, dessen Dimensionen nicht durch die Abbé-Diffraktionsgrenze, sondern ausschließlich durch die Dimensionen der Lichtquelle begrenzt werden. Die reproduzierbare Fabrikation guter SNOM-Sonden ist seit kurzem mit einem chemischen Ätzverfahren möglich geworden. Geätzte SNOM-Sonden zeichnen sich durch eine hohe optische Transmission, die bis zu 1000-mal höher als diejenige konven-

tioneller (gezogener) SNOM-Spitzen ist, aus, und halten auch den hohen Leistungsdichten von Laserpulsen stand. Dies ermöglicht nicht nur Abbildungen mit optischem Kontrast, wie sie von der konventionellen Lichtmikroskopie bekannt sind, sondern auch spektroskopische Untersuchungen sowie eine Probenahme durch Laserablation im Nanometerbereich. Das abgetragene Material kann über beträchtliche Distanzen transportiert werden und steht deshalb für die chemische Analyse mit komplementären, hochempfindlichen Methoden, z.B. der Massenspektrometrie, zur Verfügung.

**Stichwörter:** Analytische Methoden • Massenspektrometrie • Oberflächenanalyse • Optische Nahfeldmikroskopie • Optische Spektroskopie

## 1. Einleitung

Ein großer Durchbruch in den Oberflächenwissenschaften gelang mit der Entwicklung der Rastersondenmikroskopie, vorab der Rastertunnelmikroskopie (scanning tunneling microscopy, STM), die den Erfindern Heinrich Rohrer und Gerd Binnig den Nobelpreis in Physik im Jahr 1986 einbrachte.<sup>[1–3]</sup> Schon bald entwickelten sich daraus eine Vielzahl verwandter Methoden, die alle auf dem Verschieben einer scharfen Spitze gegenüber der Probenoberfläche durch Piezoelemente beruhen. Beispiele für solche abgeleiteten Techniken sind die

Rasterkraftmikroskopie (atomic force microscopy, AFM), die elektrochemische und die magnetische Rastermikroskopie. Pool hat dafür den Begriff „Kinder der STM“ geprägt.<sup>[4]</sup>

Von besonderem Interesse für die Anwendung in den molekularen Wissenschaften ist die optische Nahfeldmikroskopie (scanning near-field optical microscopy, SNOM),<sup>[5–8]</sup> gewissermaßen das „optische“ Kind der STM. Mit der optischen Nahfeldmikroskopie kann Licht auf einen Fleck von weniger als 100 nm Durchmesser konzentriert werden und sie ist somit eine vielversprechende Methode zur molekularen Analytik im Nanometerbereich. Betzig und Trautmann beanspruchten 1992 sogar für sich, eine örtliche Auflösung von 12 nm erreicht zu haben,<sup>[9]</sup> allerdings, wie sich herausstellte, erst nachdem die Größe der SNOM-Spitze aus den experimentellen Daten durch Dekonvolution ermittelt worden war. Eine ähnliche Auflösung konnte seither von anderen Forschungsgruppen nie erreicht werden. Das Be-

[\*] Prof. R. Zenobi, Dr. V. Deckert  
Laboratorium für Organische Chemie  
ETH Zürich  
Universitätsstraße 16, 8092 Zürich (Schweiz)  
Fax: (+41) 1-632-12-92  
E-mail: zenobi@org.chem.ethz.ch

leuchten eines so kleinen Flecks ist mit konventionellen optischen Methoden, z.B. durch Fokussierung eines Laserstrahls, unmöglich. Ebenso ist es nicht möglich, Punkte, die näher als  $\lambda/2$  zusammenliegen, mit konventioneller optischer Mikroskopie bei der Beobachtungswellenlänge  $\lambda$  aufzulösen. Diese Limitierung kommt durch die Abbé-Diffraktionsgrenze zustande. Im sichtbaren Bereich sollte zwar eine örtliche Auflösung von 200–250 nm theoretisch möglich sein, jedoch wird in der Praxis die Grenze von 0.5–1  $\mu\text{m}$  kaum je unterschritten, außer mit konfokalen Mikroskopen mit Ölimmersionsobjektiven. Diese haben jedoch wieder andere Nachteile. Die Diffraktionsgrenze ist auch der Grund dafür, dass bei lithographischen Methoden in der Mikroelektronik und anderen Gebieten zunehmend kurzwellige ultraviolette Strahlung oder sogar Röntgenstrahlen zum Belichten verwendet werden, wobei jedoch die Kosten für die Anlagen und besonders für die Optik gewaltig ansteigen.

Die Möglichkeit, Licht im sichtbaren, im nahen ultravioletten oder im infraroten Spektralbereich auf einen Fleck zu konzentrieren, der kleiner ist als die Diffraktionsgrenze, eröffnet die Anwendung der unterschiedlichsten spektroskopischen Methoden auf Problemstellungen in der Chemie, der Biologie, den Materialwissenschaften und anderen Gebieten, bei denen die molekulare Zusammensetzung nanometergroßer Objekte im Mittelpunkt steht. Die Analyse der Elementzusammensetzung einer Probe im Nanometerbereich ist relativ gut etabliert, wobei die Scanning-Auger-Mikroskopie, die Sekundärionen-Massenspektrometrie sowie gewisse Formen der Elektronenstrahl-Mikroanalyse zum Einsatz kommen können.<sup>[10]</sup> Diese Methoden erfordern allerdings eine spezielle Probenpräparation und Ultrahochvakuum-Bedingungen. Ein Ionen- oder Elektronenstrahl wird dabei auf einen Fleck von <100 nm fokussiert, dabei werden die meisten chemischen Bindungen gebrochen. Die chemische Analyse der molekularen Zusammensetzung mit ähnlicher

räumlicher Auflösung war bisher praktisch unmöglich, wird aber zurzeit in einigen Forschungsgruppen durch die Kombination von spektroskopischen mit SNOM-Methoden angegangen. Ein großer Vorteil dieser Strategie ist, dass bei Atmosphärendruck gearbeitet werden kann.

## 2. Experimentelles

Unser experimenteller Aufbau (Abbildung 1) basiert auf kommerziell erhältlichen optische Nahfeldmikroskopen (Modelle Lumina und Aurora, ThermoMicroscopes, früher Topometrix, Santa Clara). Laserlicht wird über eine Glasfaser in die Nahfeld-Spitze eingekoppelt und beleuchtet so die Probenoberfläche. Der Probenstisch wird relativ zur Spitze bewegt, sodass der optische Strahlengang unverändert bleibt. Das von der Probe gestreute oder emittierte Licht wird darauf mit Mikroskopobjektiven hoher numerischer Apertur entweder in Transmission oder in Reflexion (nicht abgebildet) gesammelt. Das gesammelte Licht passiert einige Filter und wird entweder auf einen empfindlichen Detektor (für Fluoreszenzmessungen) oder auf den Eintrittsspalt eines Spektrographen abgebildet. Letzterer ist für besonders hohen Lichtdurchsatz optimiert und enthält in unserem Fall ein holographisches Transmissionsgitter sowie eine Optik mit hoher numerischer Apertur (Holospec f/1.8i, Kaiser Optical Systems, Ann Arbor).

Um den Abstand zwischen Spitze und Probe konstant zu halten wird im Allgemeinen eine optisch detektierte Scherkraft-Rückkopplung benutzt,<sup>[11, 12]</sup> obwohl auch andere Methoden zum Einsatz kommen können.<sup>[13–17]</sup> Um die Scherkräfte zu nutzen wird die SNOM-Spitze auf ihre Eigenresonanzfrequenz zum Schwingen angeregt. Die Amplitude der Oszillation ist klein, sinkt aber nochmals deutlich, sobald die Spitze in etwa 5–15 nm Entfernung von der Probenober-

*Renato Zenobi ist Professor für Analytische Chemie an der ETH Zürich (Schweiz). Er ist einer der Gründer und zurzeit Leiter des Kompetenzzentrums Analytik an der ETH Zürich. Sein Diplom erwarb er 1986 an der ETH Zürich, seinen Dokortitel 1990 an der Stanford University. Nach Postdoc-Aufenthalt an der University of Pittsburgh und der University of Michigan, Ann Arbor, kehrte er 1992 in die Schweiz zurück, wo er bis 1994 als Alfred-Werner-Stipendiat an der Ecole Polytechnique Fédérale in Lausanne arbeitete. 1995 wurde er an die ETH Zürich berufen. Seine Forschungsinteressen liegen auf dem Gebiet der lasergestützten Analytik, hauptsächlich der Laser-Massenspektrometrie und der optischen Nahfeldmikroskopie und -spektroskopie.*



R. Zenobi



V. Deckert

*Volker Deckert ist Habilitand an der ETH Zürich (Schweiz). Er erwarb 1991 sein Diplom und 1994 seinen Dokortitel an der Universität Würzburg, wo er auf dem Gebiet der Raman-Spektroskopie forschte. Anschließend war er Postdoc an der University of Tokyo und an der Kanagawa Academy of Science and Technology (1994/1995), wo er auf dem Gebiet der nichtlinearen und zeitaufgelösten Laserspektroskopie arbeitete. Seit 1993 arbeitet er als freier Mitarbeiter der Firma Photometrics, Tucson, AZ (USA), an der Entwicklung von Spektroskopie-Software. 1996 ging er an die ETH Zürich, wo er zurzeit das Team Oberflächenanalytik und -spektroskopie in der Gruppe von Prof. R. Zenobi leitet.*

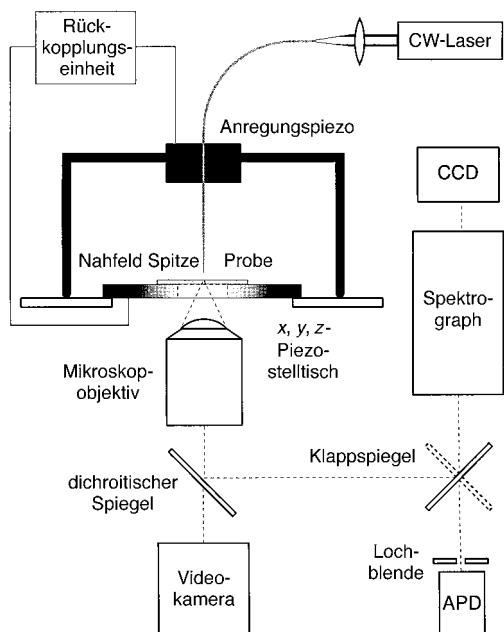


Abbildung 1. Experimenteller Aufbau: Die Probe befindet sich auf einem piezoelektrischen  $x, y, z$ -Scantisch. Die SNOM-Spitze wird entweder von einem Schwing-Piezoelement (abgebildet) oder von einer Stimmgabel (nicht abgebildet) gehalten. Zur Abstandskontrolle zwischen Spitze und Probe wird eine Scherkraftdämpfung durch einen Rückkopplungsschaltkreis benutzt. Das Laserlicht eines CW-Lasers (CW = continuous wave) zur Beleuchtung der Probe wird in das Ende einer optischen Faser eingekoppelt. Gestreutes Licht wird entweder in Transmission (abgebildet) oder in Reflexion (nicht abgebildet) mit konventioneller Fernfeldoptik gesammelt. Als Detektoren werden Avalanche-Photodioden (APD) bzw. ein optischer Spektrograph mit einem CCD-Chip (CCD = charge-coupled device) benutzt. Das Streulicht wird durch Verwendung einer vor der APD montierten Lochblende bzw. durch den Eintrittspalt des Spektrographen unterdrückt.

fläche ist. Die Gründe für diese Dämpfung sind noch nicht völlig geklärt; wahrscheinlich spielt eine Kombination aus Reibung, Kontaktwechselwirkungen sowie Adhäsionskräften durch einen dünnen Wasserfilm auf der Probenoberfläche eine Rolle.<sup>[18, 19]</sup> Im „Constant-gap“-Modus regelt die Rückkopplung die Dämpfung der Schwingung der Spitze und damit deren Abstand zur Oberfläche auf einen konstanten Wert, gewöhnlich weniger als 10 nm. Bei flachen Proben wird der „Constant-height“-Modus bevorzugt, um durch die Topographie induzierte Artefakte zu vermeiden.<sup>[20]</sup> Solche Scans werden ohne Rückkopplung durchgeführt, sobald eine bestimmte Distanz zwischen Spitze und Probenoberfläche eingestellt wurde.

Die Spitze ist der heikelste Teil jeder SNOM-Apparatur. In diesem Aufsatz werden wir ausschließlich über Experimente, die mit „Apertur-SNOM-Spitzen“ durchgeführt wurden, berichten, d.h. mit Spitzen, deren Öffnung an ihrem Ende kleiner als die Wellenlänge des einfallenden Lichtes ist. Dabei handelt es sich um Glasfasern, die sich vorn verjüngen und auf der Seite mit Metall bedampft wurden, um eine Apertur zu bilden.<sup>[12, 21]</sup> Es werden aber auch andere Arten von Sonden eingesetzt, z.B. emittierende Spitzen<sup>[22]</sup> oder aperturlose Sonden.<sup>[23–28]</sup> Ein großer Lichtdurchsatz, eine gut definierte, kreisförmige Öffnung am Ende, kein seitliches Austreten von Licht durch Defekte im Metallfilm, sowie eine hohe Zerstörungsschwelle sind die wichtigsten Eigenschaften, die eine

gute SNOM-Spitze aufweisen sollte. Etliche Methoden wurden bereits für deren Fabrikation vorgeschlagen. Eine Technik, die derjenigen für die Herstellung einer Pipette ähnelt, das adiabatische Ziehen von optischen Fasern, die dazu mittels eines  $\text{CO}_2$ -Lasers geheizt werden, ist zurzeit am weitesten verbreitet.<sup>[29, 30]</sup> In einigen Fällen wurden winzige Glassplitter als tetraedrische SNOM-Spitzen eingesetzt,<sup>[31, 32]</sup> wieder andere Gruppen setzen auf eine Mikrofrästechnik unter Verwendung eines fokussierten Ionenstrahls, um sehr gut definierte Aperturen zu erhalten.<sup>[33, 34]</sup> Auch mikrofabrizierte Spitzen wurden kürzlich vorgestellt<sup>[35–38]</sup> und werden wohl in naher Zukunft auch kommerziell erhältlich sein.

Eine ausgezeichnete und sehr praktische Methode der Spitzenherstellung basiert auf einer Ätztechnik, wobei der Meniskus zwischen der Ätzflüssigkeit (Flusssäure) und einer organischen Phase als Schutzschicht den Ätzwinkel bestimmt.<sup>[39]</sup> Geätzte Spitzen zeichnen sich durch einen höheren Lichtdurchsatz aus, weil ihr Öffnungswinkel im Vergleich mit denen gezogener Spitzen deutlich größer ist.<sup>[38–42]</sup> Allerdings ist die Ausbeute an „guten“ Spitzen beim Ätzen relativ gering. Eine besser reproduzierbare und noch effizientere Herstellungsmethode, das „tube etching“, wurde kürzlich in unserer Gruppe entwickelt.<sup>[43]</sup> Bei diesem Verfahren wird der Polymermantel der Faser vor dem Ätzen nicht entfernt. Vermutlich durch Konvektion kommt es dennoch zur Bildung einer Spitze, wobei der Ätzvorgang durch den Polymermantel vor Temperaturschwankungen und Erschütterungen geschützt ist. Das Resultat sind sehr gute Spitzen mit großem Kegelwinkel und glatten Oberflächen, auf die leicht eine homogene und kompakte Aluminiumschicht aufgedampft werden kann. Sie können mit guter Reproduzierbarkeit und in guter Ausbeute hergestellt werden. Am Rande sei erwähnt, dass auch die Zusammensetzung des Glases, aus dem die Fasern bestehen, auf die Qualität einen großen Einfluss hat, z.B. beeinflusst sie den Ätzvorgang oder kann in ungünstigen Fällen zu optischen Störsignalen bei den SNOM-Experimenten führen, etwa durch Raman-Streuung durch das Fasermaterial (siehe Abschnitt 3.2).

Die linke Seite von Abbildung 2 zeigt eine elektronenmikroskopische Aufnahme einer durch die „Tube-etching“-Methode hergestellten SNOM-Spitze, die mit Aluminium bedampft wurde. Der große Kegelwinkel ist sofort erkennbar, und eine Apertur mit einem Durchmesser von deutlich unter 100 nm ist in der Vergrößerung zu erkennen. Auf der rechten Seite ist der Unterschied zwischen der topographischen und der optischen Spitze illustriert. Manchmal bildet ein Metall-

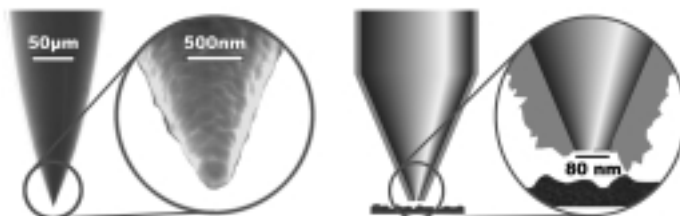


Abbildung 2. Elektronenmikroskopische Aufnahme einer SNOM-Spitze, die mit dem „Tube-etching“-Verfahren hergestellt wurde, sowie vergrößerte Ansicht der Spitzenregion (linke Bildhälfte). Darstellung zur Herkunft des Versatzes zwischen der optischen und der topographischen Abbildung (rechte Bildhälfte).

korn der Beschichtung das äußerste Ende der Spitze, sodass das Zentrum der Apertur einige Duzend nm davon entfernt sein kann. Dies kann zu einem Versatz der optischen und topographischen Bilder und zu Fehlinterpretationen der SNOM-Daten führen.

### 3. Resultate und Diskussion

#### 3.1. Fluoreszenz-Imaging mit geätzten Faserspitzen

Fluoreszenz ist die weitaus am häufigsten angewandte bildgebende Methode, mit welcher ein chemischer Kontrast in optischen nahfeldspektroskopischen Bildern erhalten wird. Allerdings ist die Auflösung moderner konfokaler fluoreszenzmikroskopischer Verfahren oft auch sehr gut und für viele Fragestellungen ausreichend.<sup>[44]</sup> Die zu detektierenden Moleküle müssen mit einer fluoreszierenden Substanz markiert werden, falls nicht ihre Eigenfluoreszenz genutzt werden kann. Die Fluoreszenzsignale sind im Allgemeinen recht intensiv, sodass es mit der SNOM sogar möglich ist, Einzelmoleküle nachzuweisen. Faszinierende Beispiele, bei denen Einzelmoleküldetektion Verwendung fand, wurden von Betzig et al.,<sup>[45]</sup> Xie et al.<sup>[46–48]</sup> sowie van Hulst et al.<sup>[49]</sup> beschrieben.

Eine vielversprechende Anwendung der SNOM in Kombination mit Fluoreszenzdetektion ist das Studium biologischer Nanostrukturen, im Speziellen subzellulärer Strukturen. Ein Beispiel aus unserem Laboratorium ist in Abbildung 3 A gezeigt. Dabei handelt es sich um Zellen aus einer Hunde-

niere (Madine-Darby canine kidney, MDCK), die mit Glutaraldehyd auf einem Objektträger fixiert und darauf zum Zerplatzen gebracht wurden, sodass die Innenseite der Zellwände für ein SNOM-Bildgebungsverfahren (-Imaging) zugänglich wurde.<sup>[50]</sup> Die Actin-Filamente des Cytoskeletts wurden mit einem rhodaminmarkierten Phalloidin selektiv angefärbt; sie erscheinen im Bild grün.

Abbildung 3 zeigt deutlich, dass durch SNOM feine Strukturen aufgelöst werden können. Zwar wurden spezielle konfokale Lasermikroskopie-Methoden, z.B. mit Zweiphotonenanregung, für Auflösungen von unter 200 nm entwickelt, doch beträgt die erreichte Auflösung in Abbildung 3 B ca. 300 nm, ein typischer Wert für die konfokale Fluoreszenz-Mikroskopie. Actinfilament-Bündel können so zwar aufgelöst werden, doch ist die Auflösung in Abbildung 3 A wesentlich besser als die in Abbildung 3 B.

Die Detektion durch optische Nahfeldspektroskopie ist nicht strikt auf Oberflächen beschränkt. Dies ist in Abbildung 4 illustriert. Hier wurden mit Fluoreszenzdetektion in Transmission fluoreszierende Latexkugeln, welche in einem dünnen Film aus Polyvinylbutyral (PVB) eingebettet

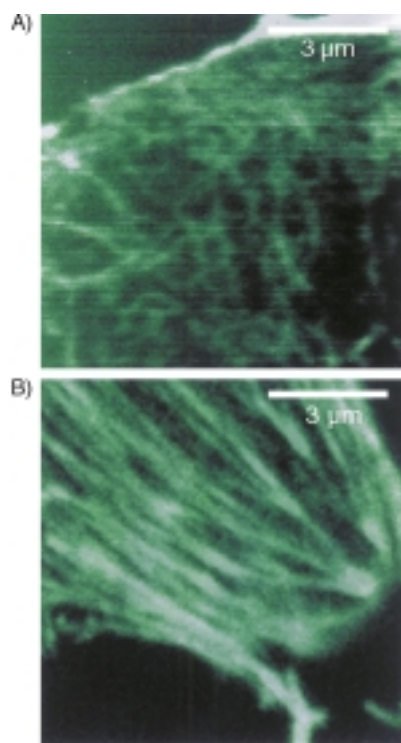


Abbildung 3. A) SNOM-Fluoreszenz-Bild des Cytoskeletts von Madine-Darby-Hunde-Nierenzellen die mit einem Fluoreszenzfarbstoff selektiv angefärbt wurden (Einzelheiten siehe Text). B) Konfokale fluoreszenzmikroskopische Aufnahme eines anderen Ausschnitts derselben Probe.

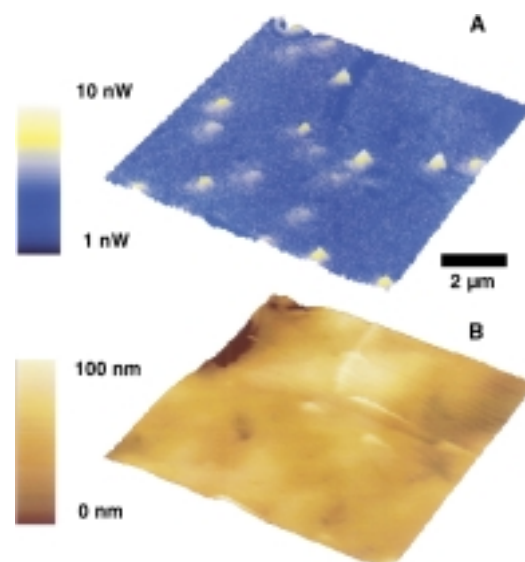


Abbildung 4. A) SNOM-Fluoreszenz-Bild und B) Topographie-Bild einer 10 × 10 µm großen Region eines PVB-Films, der fluoreszierende Latexkugeln mit einem nominalen Durchmesser von 288 nm enthält. Die Fluoreszenz wurde mit der 488-nm-Linie eines Ar-Ionen-Lasers angeregt.

waren, abgebildet. Die Kugeln wiesen einen Durchmesser von 288 nm auf und waren mit einem Fluoreszenzfarbstoff imprägniert, der bei der 488-nm-Linie des Ar-Ionenlasers absorbiert. Kugeln an der Oberfläche des PVB-Films erscheinen sowohl im Topographie- wie auch im SNOM/Fluoreszenz-Bild mit scharfen Konturen, allerdings mit einem scheinbaren Durchmesser von etwa 375 nm. Dies erlaubt es, den Durchmesser der Spitze durch Dekonvolution zu bestimmen, was im vorliegenden Fall einen Wert von 100 nm ergab.

Andere Latexkugeln erscheinen im optischen Bild unscharf, und zwar an Positionen, an denen keine topographische Erhöhung festgestellt wurde. Dies ist darauf zurück-

zuführen, dass auch Kügelchen, die sich unter der unmittelbaren Filmoberfläche befinden, abgebildet werden können. Somit kann der PVB-Film bis auf eine Tiefe von mindestens 150 nm mit der Fluoreszenz-SNOM untersucht werden.

Ein Nachteil des Fluoreszenz-Imaging ist, dass notwendigerweise eine Eigenfluoreszenz oder eine Fluoreszenzmarkierung vorhanden sein muss, was nicht immer möglich ist. Des Weiteren sind Fluoreszenzspektren breit und strukturlos, liefern also nur sehr wenig chemische Information. Es wäre beispielsweise schwierig, eine unbekannte Substanz aufgrund von Fluoreszenz zu identifizieren. Andere Arten der optischen Spektroskopie sind wesentlich besser dafür geeignet.

### 3.2. Nahfeld-Schwingungsspektroskopie

Die Schwingungsspektroskopie ist dank ihres hohen chemischen Informationsgehaltes sehr nützlich, wenn es darum geht, unbekannte Substanzen zu identifizieren. Allerdings ist die Kombination von Infrarotspektroskopie und SNOM vor allem aus zwei Gründen problematisch: 1) Optische Fasern, die im mittleren IR-Bereich, dem Bereich der diagnostisch wertvollen Schwingungen, durchlässig sind, sind nur schwer erhältlich, teuer und nicht einfach zu SNOM-Spitzen zu verarbeiten. 2) Die Diskrepanz zwischen der gewünschten örtlichen Auflösung und der Diffraktionsgrenze ist im Infraroten aufgrund der Wellenlängen im  $\mu\text{m}$ -Bereich ausgeprägter. Dennoch gibt es einige interessante, bisweilen heroische Versuche, SNOM-Imaging im mittleren IR-Bereich durchzuführen.<sup>[51]</sup> Keilmann und Mitarbeiter<sup>[28]</sup> sowie Boccara und Mitarbeiter<sup>[25, 26]</sup> verwenden eine „aperturlose“ Technik: Eine AFM-Spitze wird zur Feldverstärkung im Fokus eines auf eine feste Frequenz eingestellten IR-Lasers benutzt. Eine Auflösung von  $\lambda/600$ , entsprechend ca. 17 nm, wurde mit dieser Vorgehensweise erreicht.<sup>[25]</sup> Echte IR-Spektroskopie mit einer Auflösung im Nanometerbereich wurde bislang allerdings nicht erreicht.

Eine Alternative zur IR-Spektroskopie ist die Raman-Spektroskopie. Die Schwierigkeit liegt hier bei den extrem kleinen Streuquerschnitten, sodass die Kombination mit der ebenfalls lichtschwachen SNOM-Technik auf den ersten Blick nicht erfolversprechend aussieht. Allerdings gibt es auch etliche Vorteile der Raman- im Vergleich zur Infrarot-Spektroskopie: Eine große Auswahl ausgezeichneter optischer Fasern und empfindlicher Detektoren steht zur Verfügung, und es ist möglich, Resonanzanregung zu verwenden. Raman-Streuquerschnitte können um viele Größenordnungen ansteigen, falls der Effekt der Oberflächenverstärkung (surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS) genutzt wird. Es ist daher naheliegend, oberflächenverstärkte spektroskopische Methoden mit der SNOM zu kombinieren, um die Photonenausbeute zu verbessern.

Etliche Forschungsgruppen haben damit begonnen, Raman-Mikroskope unter Verwendung einer SNOM-Spitze zu Anregung zu bauen.<sup>[52–62]</sup> Auch hier besteht die Alternative wiederum in aperturlosen Methoden, bei denen eine äußerst scharfe Spitze, z. B. eine metallische STM- oder AFM-Spitze, zur Feldverstärkung innerhalb des beugungsbegrenzten Laserfokus des Anregungslichtes gebracht wird. Die Position

dieser Spitze kann zeitlich moduliert werden, wodurch eine phasensensitive Detektion ermöglicht wird.<sup>[23, 24]</sup> Es wurde schon über eine Auflösung von 10 Å berichtet, allerdings nicht in Kombination mit Raman-Streuung. Bei dieser Methode ist immer noch die Ursache für den optischen Kontrast unklar. Beispielsweise ist es möglich, dass Licht, welches von der Seite der Spitze reflektiert wird, mehr zum Gesamtsignal beiträgt als Photonen, welche vom äußersten Ende der Spitze stammen. Es kann sogar zur Kontrastumkehr kommen, z. B. durch Schatteneffekte. Raffinierte Techniken, wie die Zweiphotonenanregung, können solche Probleme umgehen.<sup>[27]</sup>

Abbildung 5 zeigt ein Silber-SERS-Substrat, das aus isolierten Ag-Inseln ohne topographischer Feinstruktur besteht.<sup>[63]</sup> Auf dieses SERS-Substrat wurde eine Schicht

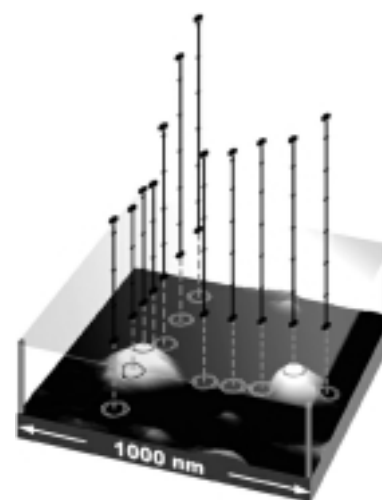


Abbildung 5. Scherkraft-Topographie-Bild eines SERS-Substrates. Für Nahfeld-Raman-Messungen wurde es mit einer Monolage Rhodamin 6G belegt. An verschiedenen Stellen (Kreise) wurden Nahfeld-SERS-Spektren aufgenommen. Die Kreise haben einen Durchmesser von 70 nm, entsprechend der optischen Auflösung der SNOM-Spitze. Die Länge der senkrechten Linien über jedem Kreis repräsentiert jeweils die lokale Intensität der stärksten Raman-Bande bei  $1650\text{ cm}^{-1}$ . Deren Intensität wurde auf die Intensität an einer nicht metallbeschichteten Stelle normiert. Ein Abschnitt entspricht einer Raman-Verstärkung um den Faktor 1000.

Rhodamin 6G (R6G) aufgetragen. Zuerst wurde die Morphologie mit Hilfe der oben beschriebenen Scherkraft-Rückkopplungsmethode vermessen. Danach wurde die SNOM-Spitze über ausgewählten Stellen eines  $1\text{ }\mu\text{m} \times 1\text{ }\mu\text{m}$  großen Ausschnittes der Probenoberfläche „geparkt“ und das Raman-Spektrum der R6G-Schicht gemessen. Diese Stellen sind in Abbildung 5 mit hellen Kreisen angegeben, deren Durchmesser (ca. 70 nm) etwa der erreichten optischen Auflösung entspricht. Jede Stelle wurde 1 min belichtet, woraufhin das charakteristische Raman-Spektrum von R6G erhalten wurde. Die optische Auflösung konnte anhand von inhärenten Abweichungen in den Raman-Spektren benachbarter Stellen bestätigt werden; auch die Untersuchung der verwendeten SNOM-Spitze durch Sekundärelektronen-Mikroskopie (SEM) ergab eine Apertur von etwa 70 nm Durchmesser. Bei einer Monolagenbedeckung der Probe ergibt sich eine Empfindlichkeit von weniger als 100 R6G-Molekülen!



Als Maß für die Raman-Verstärkung wurde die normierte und untergrundkorrigierte Raman-Intensität der Bande bei  $1650\text{ cm}^{-1}$ , die der aromatischen C-C-Streckschwingung in R6G entspricht, mit der mittleren Intensität einer nicht metallbeschichteten, mit R6G belegten Stelle der Probe verglichen. Die so erhaltene Verstärkung ist als Länge der senkrechten Linien direkt über der entsprechenden Stelle der Oberfläche in Abbildung 5 dargestellt. Jedes Segment der Linien entspricht einer weiteren Verstärkung um den Faktor 1000. Die lokale Raman-Verstärkung lag zwischen 2000 und über 6000, mit Variationen von mehr als 50 % für zwei Punkte

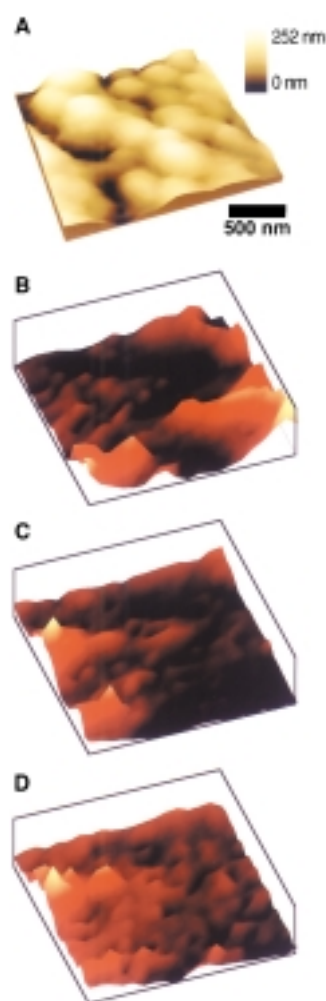


Abbildung 6. SNOM-SERS-Imaging: Lokale Abhängigkeit A) der Topographie, B) der Raman-Signalintensität bei  $800\text{ cm}^{-1}$  (Glas), C) der Nahfeld-SERS-Intensität bei  $1641\text{ cm}^{-1}$  (BCB) vor der Normierung und D) derselben Bande nach der Normierung. Die Probe wurde auf einer Schicht monodisperser Silberkugeln zur SERS-Verstärkung aufgebracht. Die Pixelgröße in B–D betrug lediglich  $100 \times 100\text{ nm}$ , und für jedes Bild wurde nur die Intensität einer einzigen Linie des gesamten Raman-Spektrums aufgezeichnet. Die niedrigste und die höchste Intensität in C und D unterscheiden sich etwa um den Faktor 3.

auf der Oberfläche, die weniger als 100 nm voneinander entfernt sind. Überraschenderweise sind die so bestimmten Verstärkungsfaktoren durchwegs kleiner als die im Fernfeld bestimmte Verstärkung, die etwa 11000 betrug. Der Unterschied kann bisher nicht genau erklärt werden. Vermutlich tragen besonders aktive Stellen auf dem Substrat, die im Nahfeld nie gefunden wurden, zur höheren Verstärkung im Fernfeld bei. Kumulative Effekte benachbarter Inseln mögen ebenfalls eine Rolle spielen. Schließlich ist es möglich, dass die Aluminiumschicht auf der Nahfeld-Spitze durch elektrostatische Wechselwirkungen die Raman-Verstärkung negativ beeinflusst, sobald die Spitze einer Silberinsel sehr nahe kommt.

Auch die Aufnahme hochauflösender Raman-Bilder ist mit der Nahfeldoptik möglich (Abbildung 6). In Abbildung 6A ist die Topographie und in Abbildung 6B–D sind Raman-Aufnahmen eines  $2 \times 2\text{ }\mu\text{m}$  großen Ausschnitts einer SERS-Probenoberfläche gezeigt. Diese bestand aus silberbeschichteten Teflonkugeln mit einem Außendurchmesser von  $300\text{ nm}$ .<sup>[61]</sup> Das Topographie-Bild zeigt deutlich, dass innerhalb von größeren Aggregaten einzelne dieser Kügelchen, deren

Verteilung recht irregulär erscheint, klar aufgelöst sind. Auf dieses Substrat wurde eine Monolage DNA aufgetragen, die mit dem Farbstoff Brilliantkresylblau (BCB) markiert war.<sup>[62]</sup> Um eine vernünftige Belichtungszeit für das ganze spektroskopische Bild zu ermöglichen, wurden nur  $20 \times 20$  Datenpunkte vermessen. Auch dann betrug die Messzeit noch das Zwanzigfache derjenigen für ein normales SNOM-Bild. Allerdings ist bei einer Größe der SNOM-Spitze von weniger als 100 nm die Pixelgröße und nicht die Apertur für die Auflösung entscheidend. Dies führt zu einem leichten „undersampling“, das wir aber in Hinblick auf eine schnellere Aufnahme der Gesamtspektren in Kauf nehmen. Das Raman-Signal bei  $800\text{ cm}^{-1}$  in Abbildung 6B, das vom Glas der SNOM-Spitze herrührt, ist teilweise von der Topographie abhängig. Beim Vergleich von Abbildung 6A und B wird aber auch klar, dass der Zusammenhang zwischen der Topographie und dem Reflektionsvermögen einer derart unebenen Oberfläche keineswegs trivial ist. Beispielsweise ist die Interpretation und die Abschätzung der optischen Auflösung schwierig, sobald die Topographie und/oder Abschattungseffekte das optische Bild beeinflussen.<sup>[20]</sup>

Abbildung 6C zeigt die ortsabhängige Intensitätsverteilung der BCB-Raman-Bande bei  $1641\text{ cm}^{-1}$ . Ein Vergleich von Abbildung 6B und C zeigt nun, dass diese Raman- und die Glas-Raman-Signale eine gewisse (aber keineswegs perfekte) Korrelation aufweisen, wie die erhöhte Signalintensität in der linken unteren Ecke des Ausschnitts zeigt. Die Raman-Signale stammen von den aufgetragenen BCB-DNA-Molekülen, während die Glas-Bande ausschließlich von der SNOM-Spitze stammt. Die Intensität dieser Bande sollte somit proportional zum lokalen Reflektionsvermögen der Probenoberfläche sein. Die detektierte Raman-Streuung unterliegt denselben Einflüssen der Probe. Wenn beispielsweise ein Partikel den Strahlengang vom beleuchteten Fleck zur Sammeloptik blockiert wird das Raman-Signal in derselben Art und Weise abgeschwächt. Mit anderen Worten: Die Probenoberfläche ist für die Unterschiede im Reflektionsvermögen verantwortlich, sodass topographische Artefakte durch Normierung auf die Intensität der Glas-Bande korrigiert werden können. Der Effekt einer solchen Korrektur ist in Abbildung 6D gezeigt, in der die lokale Intensität der BCB-Bande bei  $1641\text{ cm}^{-1}$  aus Abbildung 6C durch diejenige der Glas-Bande aus Abbildung 6B dividiert wurde. Ein Vergleich von Abbildung 6D und C zeigt, dass im korrigierten Bild nicht mehr zwei, sondern nur noch eine Stelle der Oberfläche eine hohe Raman-Intensität liefert. Offenbar war an der Stelle links unten vor allem ein erhöhtes Reflektionsvermögen für das hohe Raman-Signal verantwortlich, ein Effekt, der nach der Normierung nicht mehr vorhanden ist.

In den korrigierten Raman-Bildern beobachten wir bei sämtlichen Frequenzen eine Region hoher SERS-Aktivität von ca.  $400\text{ nm}$  Durchmesser, und zwar auf der linken Seite etwa auf mittlerer Höhe des Ausschnitts. Falls eine gleichförmige Oberflächenbedeckung vorausgesetzt werden kann, ist dies nur durch eine besonders starke SERS-Verstärkung durch das Substrat, also durch die Existenz von „heißen“ Stellen auf der Oberfläche zu erklären, obwohl Vorsicht am Platz ist, da Fluktuationen in der Konzentration des Adsor-

bates nicht ganz ausgeschlossen werden können. Interessanterweise fällt die „heiße“ Stelle des hier gezeigten Beispiels nicht mit der Position eines Silberkügelchens zusammen, sondern im Gegenteil eher mit einer Art Graben zwischen den Silberkügelchen (Abbildung 6 A). Eine kleine Unsicherheit bleibt bestehen, da die Kongruenz der topographischen und der SERS-Abbildung unter Umständen nicht perfekt ist. Es wurde schon früher postuliert, dass „heiße“ Stellen eines SERS-Substrates mit Zwischenräumen oder Vertiefungen in Verbindung zu bringen seien.<sup>[64]</sup> In Arbeiten von Emory und Nie<sup>[56]</sup> gibt es experimentelle Hinweise auf solche „heiße“ Stellen, obwohl diese nicht direkt abgebildet werden konnten. Die SNOM-Technik hingegen ermöglicht dies durch die simultane Aufzeichnung der Proben-topographie und der Raman-Intensität an jeder Stelle. Die Interpretation ist besonders einfach, falls Filme aus isolierten Silberinseln als SERS-Substrate eingesetzt werden.<sup>[63]</sup>

Interessant ist es auch, das Intensitätsverhältnis von Fluoreszenz- und Raman-Signal zu betrachten. Der SERS-Streuquerschnitt von besonders „heißen“ Stellen war in derselben Größenordnung wie der der Fluoreszenz!<sup>[56, 65]</sup> Wenn ein einzelnes Molekül ein Photon absorbiert hat, kann es Licht in Form von Raman-Streuung oder in Form von Fluoreszenz emittieren, aber nicht beides gleichzeitig. Ausgleichsprozesse sind eng mit Fluoreszenz verknüpft und sollten somit den

Raman-Prozess nicht beeinflussen. Dies ist in Abbildung 7 illustriert, wo drei nacheinander gemessene Spektren von R6G, wiederum auf einem Silberinsel-SERS-Substrat, gezeigt sind. Der Fluoreszenzuntergrund nimmt als Folge des Ausbleichens allmählich ab, während die Intensität der Raman-Banden konstant bleibt. Dies untermauert die obige Aussage und lässt darauf schließen, dass „heiße“ Stellen eines SERS-Substrates dazu führen, dass die dort adsorbierten Moleküle vorwiegend Raman-Licht emittieren anstatt zu fluoreszieren, wobei sie auch vor dem Ausbleichen geschützt wären. Die Bedeckung des SERS-Substrates war etwas größer als eine Monolage, weshalb nur ein Teil der R6G-Moleküle an diesen geschützten Stellen adsorbiert sein kann. Dieser Teil scheint jedoch überproportional zum starken Raman-Signal beizutragen. Es ist somit möglich, dass nur wenige „heiße“ Stellen eines SERS-Substrates zu einer sehr hohen Raman-Ver-

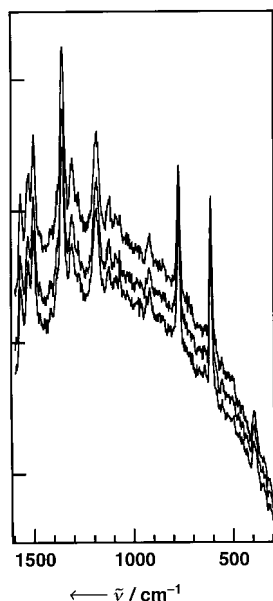


Abbildung 7. Raman-Linien und Fluoreszenzuntergrund im optischen Spektrum einer Monolage Rhodamin 6G auf einem SERS-Substrat (Anregung bei 488 nm). Die Spektren wurden direkt nacheinander aufgenommen (Reihenfolge von oben nach unten), mit einer Integrationszeit von 5 min pro Spektrum. Ein allmähliches Ausbleichen des Fluoreszenzuntergrundes kann beobachtet werden, während die Intensität der Raman-Linien konstant bleibt.

stärkung führen und damit für die beobachtete Gesamtintensität verantwortlich sind.

Sind SERS-Verfahren die einzige Hoffnung, Raman-Spektren durch optische nahfeldspektroskopische Anregung zu erhalten? Die Antwort auf diese Frage lautet, wie in Abbildung 8 gezeigt wird: Nein. Diese Abbildung zeigt das Nahfeld-Raman-Spektrum eines durch Gasphasenabscheidung (chemical vapor deposition, CVD) hergestellten Diamantfilms. Die scharfe Bande bei 1330  $\text{cm}^{-1}$  ist wohlbekannt

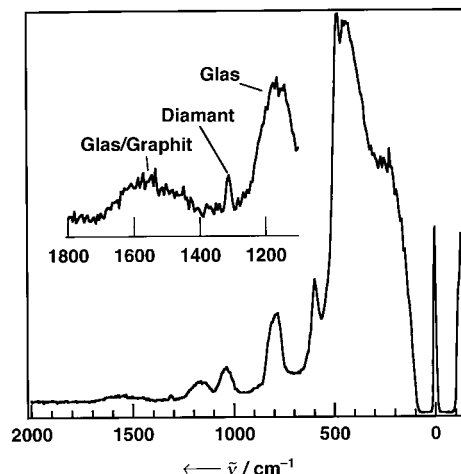


Abbildung 8. Nahfeld-Raman-Spektrum eines mit der CVD-Methode hergestellten Diamantfilms. Die Anregungswellenlänge betrug 488 nm und wurde vor dem Eintritt in den Spektrographen mit einem holographischen Notch-Filter nahezu vollständig eliminiert. Starke Raman-Banden, die vom Glas der Spitze herrühren, beherrschen das Spektrum. Einschub: die scharfe Raman-Bande von Diamant bei 1330  $\text{cm}^{-1}$  sowie breite, zum Teil von Glas-Banden überlagerte Raman-Bande von Graphitkohlenstoff bei ca. 1600  $\text{cm}^{-1}$ .

für Diamant. Die Raman-Streuung von Graphitkohlenstoff wird bei ca. 1600  $\text{cm}^{-1}$  erwartet, jedoch gab es bei der Messung eine Überlagerung dieser  $\text{sp}^2$ -Kohlenstoffbande mit einer Raman-Emission des Glases der SNOM-Spitze. Dies ist zum einen auf die geringe Raman-Intensität der Probe zurückzuführen, zum anderen hängt die Intensität der Glas-Bande sehr stark vom Material der benutzten optischen Faser ab. Unsere neuesten SNOM-Spitzen weisen in diesem Bereich des Spektrums nahezu keine Raman-Streuung mehr auf, sodass im Prinzip durch Vergleich der Intensitäten die Reinheit des Diamantfilmes lokal bestimmt werden kann. Das Ziel der quantitativen Analyse von Diamant im Bereich von 100 nm rückt damit in greifbare Nähe.

Die hervorragende Auflösung in z-Richtung (in Richtung der SNOM-Spitze) macht es auch möglich, die Grenzfläche zwischen zwei Flüssigkeiten zu untersuchen. Beispielsweise wäre es interessant, die Orientierung von Molekülen an einer solchen Grenzschicht unter Nutzung der Anisotropie des Raman-Streutensors sowie unter Verwendung von polarisiertem Licht zur Anregung und Detektion zu bestimmen. Für den isotropen Teil des Streutensors der totalsymmetrische Schwingungsmoden erwartet man eine starke Signalabschwächung, wenn die Polarisatoren um 90° gegeneinander verdreht sind. Hingegen man für anisotrope Moden eine gewisse Intensität auch bei gekreuzten Polarisatoren detektieren.



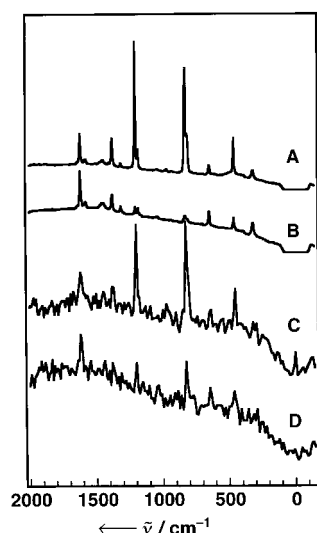


Abbildung 9. Raman-Spektren von flüssigem *p*-Xylol, aufgenommen mit Polarisationsfiltern im Anregungs- und Detektions-Strahlengang. A) Fernfeld-Spektrum mit parallelen Polarisatoren; B) Fernfeld-Spektrum mit gekreuzten Polarisatoren; C) Nahfeld-Spektrum mit parallelen Polarisatoren; D) Nahfeld-Spektrum mit gekreuzten Polarisatoren. Die absoluten Intensitäten der verschiedenen Spekten sind nicht direkt vergleichbar, sondern wurden für die Abbildung normiert. Die Laserleistung in C und D betrug 10  $\mu$ W (bei  $\lambda = 488$  nm); das Signal wurde über 10 min gemittelt.

Polarisation des Lichtes beim Durchtritt durch eine geätzte SNOM-Spitze recht gut erhalten bleibt.

### 3.3. Laserablation durch SNOM-Spitzen

Die hohe Transmission der benutzten SNOM-Spitzen ermöglicht nicht nur hochauflösende bildgebende Verfahren und eine spektroskopische Analyse der Oberfläche, sondern auch eine photochemische Nanoprobennahme („Nanosampling“) durch Materialabtragung (Ablation) mit durch die Spitze übertragenen Laserpulsen.<sup>[66]</sup> Das verdampfte Material kann über beträchtliche Distanzen transportiert und in einem zweiten Schritt durch eine hochempfindliche Methode, z. B. die Massenspektrometrie, analysiert werden. Das Konzept dieser Idee ist in Abbildung 10 gezeigt.

Eine von der Ortsauflösung her nicht gerade beeindruckende Realisierung dieses Konzeptes wurde bereits beschrieben.<sup>[67]</sup> Die Autoren führten in der Ionenquelle eines Massenspektrometers eine leicht zugespitzte optische Faser über einen in der Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) üblichen Probenträger und konnten ein matrixunterstütztes Laserdesorptions/ionisations(MALDI)-Experiment durchführen. Die Probe auf dem TEM-Gitter bestand aus Acetylcholin, eingebettet in eine Matrix aus 2,5-Dihydroxybenzoesäure. Allerdings ist nicht ganz klar, worin der Fortschritt

Dies ist in Abbildung 9 veranschaulicht. Sind die Moleküle nicht mehr zufällig orientiert, wie das an Grenzflächen zu erwarten ist, kann über Symmetriebetrachtungen die Struktur der Grenzfläche bestimmt werden.

Abbildung 9 A und B zeigen Fernfeld-Raman-Spektren und Abbildung 9 C und D Nahfeld-Raman-Spektren von flüssigem *p*-Xylol. Wenn man von paralleler zu gekreuzter Orientierung der Polarisatoren im Anregungs- und Detektionsstrahlengang wechselt, beobachtet man bei vielen Raman-Banden den erwarteten Intensitätsverlust, z. B. bei den starken Banden des aromatischen Rings bei 820 und 1200  $\text{cm}^{-1}$ . Die Bande bei 1600  $\text{cm}^{-1}$  jedoch bleibt relativ stark, was auf eine stark anisotrope Komponente im zugehörigen Streutensor hinweist. Abbildung 9 zeigt auch eindrucksvoll, dass die

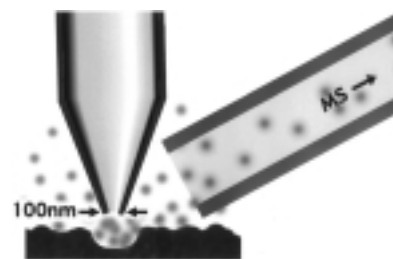


Abbildung 10. Schematische Darstellung der Kopplung von SNOM-Laserablation mit massenspektrometrischer Analyse des verdampften Materials.

dieses Experimentes gegenüber früheren MALDI-Experimenten, bei denen der Laserpuls ebenfalls durch eine optische Faser auf die Probe geleitet wurde,<sup>[68, 69]</sup> besteht. Die örtliche Auflösung betrug nur einige Mikrometer, weit mehr als die mit der SNOM-Methode erreichbare Auflösung.

Verschiedene Mechanismen können die laserinduzierte Ablation unter Verwendung von SNOM-Spitzen erklären.<sup>[70]</sup> Nach dem photochemischen Modell wird die Energie durch optische Absorption auf die Probe übertragen; die Ablation wäre dann die Folge von Bindungsbrüchen in den Probenmolekülen. Auf ähnliche Weise würde bei einem photothermischen Prozess die absorbierte optische Energie in Wärme umgewandelt, was zur lokalen Ablation vom geheizten Fleck führt. Weiterhin ist ein ballistischer Mechanismus möglich, bei dem Material von der Spitze auf die Probe gelangt und dort Material herausgeschlagen kann. Dieser ballistische Mechanismus war die wahrscheinlichste Erklärung für ein SNOM-Ablationsexperiment mit einer Anthracenoberfläche unter Verwendung einer vollständig metallbedampften Spitze.<sup>[41]</sup> Photonen konnten in diesem Fall nicht auf die Probe gelangen, sodass man einen „Sputter“-Prozess durch Atome der SNOM-Spitze oder durch darauf adsorbiertes Material postulieren muss. Schließlich sollte man die vorübergehende thermische Expansion der Spitze<sup>[71–73]</sup> als Möglichkeit, Löcher in die Probenoberfläche zu „stanzen“, in Betracht ziehen. Es wurde jedoch experimentell gezeigt, dass diese letztgenannte Möglichkeit nicht von Bedeutung ist.<sup>[70]</sup>

Wir besprechen nun ein Experiment, welches über den Mechanismus der SNOM-Laserablation eines Rhodamin-B-Filmes Auskunft gab. Diese Probe wurde mit Laserpulsen beim Absorptionsmaximum („on resonance“, 532 nm) sowie mit solchen weit davon entfernt („off resonance“, 650 nm) bestrahlt. Die Apertur der verwendeten SNOM-Spitze war kleiner als 100 nm im Durchmesser. Es wurde kein signifikanter Unterschied in der Transmission zwischen 400 und 650 nm gefunden, obwohl dies aufgrund des sich verändernden Verhältnisses zwischen Wellenlänge und Apertur zu erwarten gewesen wäre. Abbildung 11 zeigt Topographiebilder der Oberfläche, die nach mehreren Laserpulsen aufgenommen wurden. Keine Ablation wurde nach dem Off-resonance-Experiment detektiert (Abbildung 11 A,  $\lambda = 650$  nm, Einkopplung von Laserpulsen mit einer Energie von jeweils 2.1  $\mu$ J), während im On-resonance-Experiment gut definierte Krater mit etwa 70 nm Durchmesser (full width at half maximum, FWHM) und einer Tiefe von 5 nm gebildet wurden (Abbildung 11 B,  $\lambda = 532$  nm, 1.4  $\mu$ J pro Laserpuls). Dies ist ein eindeutiger Hinweis auf einen optischen, und zwar

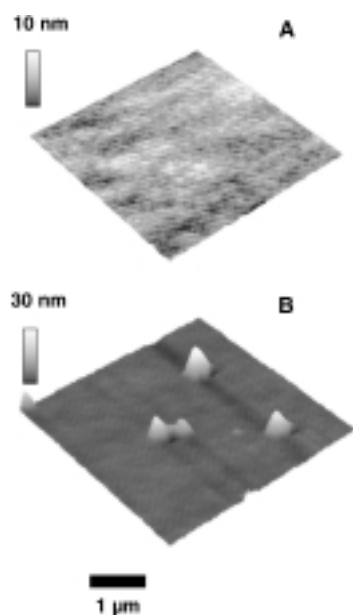


Abbildung 11. Topographie eines Rhodamin-B-Filmes nach Einkopplung von A) Laserpulsen mit  $\lambda = 650$  nm (d. h. fern vom Absorptionsmaximum des Rhodamins) und  $2.1 \mu\text{J}$  Pulsenergie durch die SNOM-Spitze und B) Laserpulsen mit  $\lambda = 532$  nm (d. h. nahe beim Absorptionsmaximum) und  $1.4 \mu\text{J}$  Pulsenergie. Der topographische Gesamtkontrast in z-Richtung beträgt in A) 10 nm und in B) 30 nm.

durch schließlich zur thermischen Desorption der Moleküle führt.

Eine weitere interessante Erkenntnis aus Abbildung 11 ist, dass das ablatierte Material in der Nähe des Kraters wieder abgelagert wird, und zwar nicht symmetrisch, sondern in einer bevorzugten Richtung unabhängig von der Scanbewegung (in Abbildung 11 links vom jeweiligen Krater). In anderen Experimenten war die Wiederablagerung eher symmetrisch. Der Grund für diesen Effekt scheinen Asymmetrien der SNOM-Spitze selbst zu sein: Oft ist diese nicht perfekt symmetrisch, sodass bei der Ablation das Material in eine bestimmte Richtung gelenkt wird.

Ein Transport über Distanzen von mehreren Mikrometern wurde ebenfalls mehrmals beobachtet. Ein solches Resultat ist in Abbildung 12 gezeigt.<sup>[70]</sup> Hier wurde eine Anthracen-Kristalloberfläche während des Abrasterns eines  $1 \times 2 \mu\text{m}$  großen Ausschnittes durch die SNOM-Spitze kontinuierlich mit Laserpulsen (6 ns, 532 nm,  $50 \mu\text{J}$  Pulsenergie, 20 Hz Wiederholungsfrequenz) beschossen. Daraufhin wurde ein Topographie-Bild einer größeren Fläche aufgenommen (Abbildung 12). Ein ca.  $1 \mu\text{m}$  breiter Graben mit gut definierten Kanten ist in der linken oberen Ecke dieses Bildes zu erkennen. Außerdem fanden wir einen etwa  $2 \mu\text{m}$  breiten, strukturlosen Hügel in  $5 \mu\text{m}$  Entfernung, der etwa parallel zum Graben verläuft. Dieses Ergebnis lässt sich einfach durch die Asymmetrie der SNOM-Spitze interpretieren. Diese steuert den Transport und die Ablagerung des Probenmaterials in eine Vorzugsrichtung. Zum Sammeln der ablatierten Moleküle, z. B. mit einer Vakuum-Schnittstelle zur massen-

entweder photochemischen oder photothermischen Mechanismus für die Ablation. Verglichen mit der ballistischen Ablation ist die Energieübertragung offenbar auch effizienter. Die hier benutzte Photonenenergie genügt allerdings nicht, um Bindungen in Rhodamin zu spalten, im Unterschied zu Ablationsexperimenten mit UV-Lasern, bei denen die photochemische Dissoziation oft zur Erklärung der Phänomene herangezogen wird.<sup>[74]</sup> Wir schlagen deshalb im gezeigten Fall vor, dass die Ablation des Rhodaminfilms über einen photothermischen Mechanismus verläuft, bei dem die absorbierte Lichtenergie zu einem raschen lokalen Temperaturanstieg in der Probe und da-

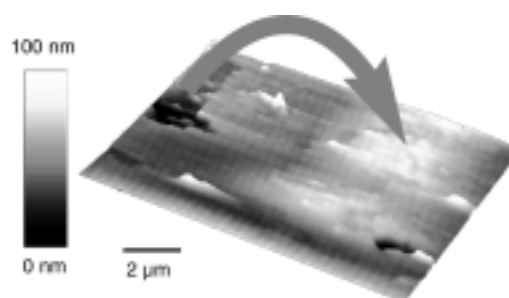


Abbildung 12. Materialtransport über mehrere Mikrometer: Topographie-Bild einer  $5 \times 8 \mu\text{m}$  großen Region der Oberfläche eines Anthracen-kristalls, welche zuvor in der  $1 \times 2 \mu\text{m}$  großen Region links oben mit Laserpulsen beschossen wurde (6 ns, 532 nm,  $50 \mu\text{J}$  Pulsenergie, 20 Hz Wiederholungsfrequenz). Der topographische Gesamtkontrast in z-Richtung beträgt 100 nm. (Aus Lit. [70].)

spektrometrischen Detektion, könnte diese Asymmetrie von großem Vorteil sein, wenn die SNOM-Spitze so gedreht wird, dass die Ablation hauptsächlich in Richtung der Sammel-einheit gelenkt wird.

Aus Abbildung 12 lässt sich auch ableiten, dass nur wenig Material in Form großer Klumpen herausgeschleudert wird. Der Hügel aus wieder abgelagertem Anthracen ist diffus und strukturlos, was zu erwarten ist, falls das Material aus der Gasphase abgeschieden wird. Wir konnten auch zeigen, dass laserablatierte Moleküle nicht zersetzt werden.<sup>[70]</sup> Der Materialtransport erfolgt also nicht mechanisch durch Verschieben mit der SNOM-Spitze, sondern durch Verdampfung und Kondensation auf der Probenoberfläche, und zwar in einer bevorzugten Richtung, die durch die Asymmetrie der Spitze vorgegeben ist.

#### 4. Zusammenfassung und Ausblick

Bildgebende Verfahren unter Verwendung von SNOM-Sonden können heute spektroskopische Daten mit einer minimalen örtlichen Auflösung von 50 nm liefern. Einige Verbesserungen hinsichtlich der Auflösung sind zwar noch möglich, jedoch wird die Apertur-SNOM vermutlich nie eine Auflösung von 1 nm oder besser erreichen, die mit STM oder AFM gut möglich ist. Allerdings liefert die SNOM, wie wir hier gezeigt haben, reichhaltige chemische Informationen, die unserer Meinung nach die niedrige Auflösung kompensieren.

SNOM-Spitzen guter Qualität können heutzutage nach mehreren Methoden produziert werden. Eine hier beschriebene chemische Ätzmethode ist leicht anwendbar und liefert sehr gute SNOM-Spitzen in hoher Ausbeute. Diese halten auch hohen Laserenergien stand<sup>[75]</sup> und sind daher besonders lichtstarke Spitzen.

Wir haben hier Beispiele für das Fluoreszenz- und das SERS-Imaging im optischen Nahfeld, mit örtlichen Auflösungen von unter 100 nm, relativ kurzen Belichtungszeiten sowie guten Signal-Rausch-Verhältnissen vorgestellt. Der unterschiedliche Ursprung der Raman- und Reflektions-Signale kann für eine Intensitätskorrektur der Raman-Bilder durch eine einfache Normierung herangezogen werden. Mit

diesem Verfahren können topographische Artefakte in SNOM-Bildern immer dann korrigiert werden, wenn die interessierende Substanz bei einer anderen Wellenlänge detektiert werden kann.

Eine Oberflächenverstärkung optischer Übergänge scheint an wenigen „heißen“ Stellen eines Substrates zu erfolgen. Durch die Kombination von topographischen und optischen Informationen besteht nun die Möglichkeit, die Natur dieser „heißen“ Stellen genau zu ergründen. Eine Oberflächenverstärkung ist allerdings nicht eine notwendige Voraussetzung, um optische nahfeldspektroskopische Daten zu gewinnen, wie das Beispiel eines CVD-Diamantfilms zeigt. Schließlich könnte die Spitze als Träger für ein kleines Partikel dienen,<sup>[76, 77]</sup> welches selbst eine starke Raman-Verstärkung bewirkt. Eine solche „Tip-SERS“-Methode würde keine Abscheidung der Probe auf einem rauen Silberfilm mehr erfordern, was von hohem praktischen Wert wäre, da eine Probenvorbereitung entfallen könnte.

Auf dem Gebiet der gepulsten Laserablation durch SNOM-Spitzen haben wir gezeigt, dass es möglich ist, sehr gut definierte Ablationskrater (ca. 70 nm Durchmesser) an der Oberfläche organischer Materialien zu bilden. Die ablatierten Moleküle bleiben intakt und fliegen oft in eine bestimmte Richtung, die durch die Asymmetrie der SNOM-Spitze vorbestimmt ist. Das Material kann mehrere Mikrometer weit transportiert, gesammelt und weiter analysiert werden. Wir entwickelten kürzlich eine Schnittstelle, um eine massenspektrometrische Analyse von derart verdampften Substanzen vorzunehmen. Im Unterschied zu konventionellen Laserablationsquellen für die Massenspektrometrie ist es mit dieser Schnittstelle möglich, die Probe bei Atmosphärendruck zu untersuchen. Massenspektren von Material, das in Ablationsexperimenten mit einzelnen diffraktionsbegrenzten Laserpulsen abgelöst wurde, wurden bereits gemessen, und ein gutes Signal-Rausch-Verhältnis gibt uns Gewissheit, dass auch optische nahfeldspektroskopische Ablations-MS-Untersuchungen in greifbarer Nähe sind.

*Wir danken Dr. Dieter Zeisel für wesentliche Beiträge zu diesem Artikel, Dr. Yung Doug Suh, Raoul Stöckle, Christian Fokas, Anja Vinckier, Urs Ziegler, Dr. Roland Hauert, Dr. Jörg Patscheider und Dr. Tuan Vo-Dinh für ihre Hilfe sowie dem Schweizerischen Nationalfonds für die großzügige finanzielle Unterstützung (Nationales Forschungsprogramm „Nanotechnologie“, NFP-36).*

Eingegangen am 21. Juli 1999 [A355]

- [1] G. Binnig, H. Rohrer, *Helv. Phys. Acta* **1982**, 55, 726–735.
- [2] G. Binnig, H. Rohrer, C. Gerber, E. Weibel, *Phys. Rev. Lett.* **1982**, 49, 57–59.
- [3] G. Binnig, H. Fuchs, C. Gerber, H. Rohrer, E. Stoll, E. Tosatti, *Europhys. Lett.* **1986**, 1, 31–36.
- [4] R. Pool, *Science* **1990**, 247, 634–636.
- [5] D. W. Pohl, W. Denk, M. Lanz, *Appl. Phys. Lett.* **1984**, 44, 651–653.
- [6] A. Lewis, M. Isaacson, A. Harootunian, A. Muray, *Ultramicroscopy* **1984**, 13, 227–231.
- [7] D. W. Pohl, U. C. Fischer, U. T. Dürig, *Scanning Microscopy Technologies and Applications*, Washington, DC, **1988**, S. 84–90.
- [8] E. Betzig, M. Isaacson, A. Lewis, K. Lin, *Scanning Microsc. Technol. Appl.* **1988**, 897, 91–99.
- [9] E. Betzig, J. K. Trautman, *Science* **1992**, 257, 189–195.
- [10] D. Brune, R. Hellborg, H. J. Whitlow, O. Hunderi, *Surface Characterization*, WILEY-VCH, Weinheim, **1997**.
- [11] R. Toledo-Crow, P. C. Yang, Y. Chen, M. Vaez-Iravani, *Appl. Phys. Lett.* **1992**, 60, 2957–2959.
- [12] E. Betzig, P. L. Finn, J. S. Weiner, *Appl. Phys. Lett.* **1992**, 60, 2484–2486.
- [13] M. Garcia-Parajo, E. Cambil, Y. Chen, *Appl. Phys. Lett.* **1994**, 65, 1498–1500.
- [14] K. Karrai, R. D. Grober, *Ultramicroscopy* **1995**, 61, 197–205.
- [15] J. W. P. Hsu, M. Lee, B. S. Deaver, *Rev. Sci. Instrum.* **1995**, 66, 3177–3181.
- [16] J.-K. Leong, C. C. Williams, *Appl. Phys. Lett.* **1995**, 66, 1432–1434.
- [17] J. Barenz, O. Hollricher, O. Marti, *Rev. Sci. Instrum.* **1996**, 67, 1912–1916.
- [18] H. Heinzelmann, D. W. Pohl, *Appl. Phys. A* **1994**, 59, 89–101.
- [19] C. Durkan, I. V. Shvets, *J. Appl. Phys.* **1996**, 80, 5659–5664.
- [20] B. Hecht, H. Bielefeldt, Y. Inouye, D. W. Pohl, L. Novotny, *J. Appl. Phys.* **1997**, 81, 2492–2498.
- [21] D. W. Pohl, *Adv. Opt. Electron Microsc.* **1991**, 243–312.
- [22] N. Kuck, K. Lieberman, A. Lewis, *Appl. Phys. Lett.* **1992**, 61, 139–141.
- [23] F. Zenhausern, M. P. O’Boyle, H. K. Wickramasinghe, *Appl. Phys. Lett.* **1994**, 65, 1623–1625.
- [24] F. Zenhausern, Y. Martin, H. K. Wickramasinghe, *Science* **1994**, 269, 1083–1085.
- [25] A. Lahrech, R. Bachelot, P. Gleyzes, A. C. Boccard, *Opt. Lett.* **1996**, 21, 1315–1317.
- [26] A. Lahrech, R. Bachelot, P. Gleyzes, A. C. Boccard, *Appl. Phys. Lett.* **1997**, 71, 575–577.
- [27] E. J. Sánchez, L. Novotny, X. S. Xie, *Phys. Rev. Lett.* **1999**, 82, 4014–4017.
- [28] B. Knoll, F. Keilmann, *Nature* **1999**, 399, 134–137.
- [29] E. Betzig, J. K. Trautman, T. D. Harris, J. S. Weiner, R. L. Kostelak, *Science* **1991**, 251, 1468–1470.
- [30] G. A. Valaskovic, M. Holton, G. H. Morrison, *Appl. Opt.* **1995**, 34, 1215–1228.
- [31] U. C. Fischer, J. Koglin, H. Fuchs, *J. Microsc. (Oxford)* **1994**, 176, 231–237.
- [32] J. Koglin, U. C. Fischer, H. Fuchs, *J. Biomed. Opt.* **1996**, 1, 75–78.
- [33] J. A. Veerman, A. M. Otters, L. Kuipers, N. F. van Hulst, *Appl. Phys. Lett.* **1998**, 72, 3115–3118.
- [34] S. Pilevar, K. Edinger, W. Atia, I. Smolyaninov, C. Davis, *Appl. Phys. Lett.* **1998**, 72, 3133–3135.
- [35] S. Münster, S. Werner, C. Mihalcea, W. Scholz, E. Oesterschulze, *J. Microsc.* **1997**, 186, 17–22.
- [36] W. Noell, M. Abraham, K. Mayr, A. Ruf, J. Barentz, O. Hollricher, O. Marti, P. Günther, *Appl. Phys. Lett.* **1997**, 70, 1236–1238.
- [37] D. Drews, W. Noell, W. Ehrfeld, M. Lacher, K. Mayr, O. Marti, C. Serwatzy, M. Abraham, *SPIE Conference on Materials and Device Characterization in Micromachining*, Santa Clara, CA, **1998**, S. 76–83.
- [38] T. Yatsuya, M. Kourogi, M. Ohtsu, *Appl. Phys. Lett.* **1998**, 73, 2090–2092.
- [39] P. Hoffmann, B. Dutoit, R.-P. Salathé, *Ultramicroscopy* **1995**, 61, 165–170.
- [40] L. Novotny, D. W. Pohl, B. Hecht, *Opt. Lett.* **1995**, 20, 970–972.
- [41] D. Zeisel, S. Nettesheim, B. Dutoit, R. Zenobi, *Appl. Phys. Lett.* **1996**, 68, 2491–2492.
- [42] M. N. Islam, X. K. Zhao, A. A. Said, S. S. Mickel, C. F. Vail, *Appl. Phys. Lett.* **1997**, 71, 2886–2888.
- [43] R. Stöckle, V. Deckert, C. Fokas, R. Zenobi, B. Hecht, B. Sick, U. P. Wild, *Appl. Phys. Lett.* **1999**, 75, 160–162.
- [44] J. Pawley, *Handbook of Biological Confocal Microscopy*, Plenum, New York, **1995**.
- [45] J. K. Trautman, J. J. Macklin, L. E. Brus, E. Betzig, *Nature* **1994**, 369, 40–42.
- [46] X. S. Xie, R. C. Dunn, *Science* **1994**, 265, 361–364.
- [47] R. C. Dunn, G. R. Holtom, L. Mets, X. S. Xie, *J. Phys. Chem.* **1994**, 98, 3094–3098.
- [48] X. S. Xie, J. K. Trautman, *Ann. Rev. Phys. Chem.* **1998**, 49, 441–480.

- [49] A. G. T. Ruiter, J. A. Veerman, M. F. Garcia-Parajo, N. F. van Hulst, *J. Phys. Chem. A* **1997**, *101*, 7318–7323.
- [50] U. Ziegler, A. Vinckier, P. Kernén, D. Zeisel, J. Biber, G. Semenza, H. Murer, P. Groscurth, *Mol. Biol. Cell* **1998**, *9*, 600.
- [51] M. K. Hong, S. Erramilli, P. Huie, G. James, A. Jeung, *SPIE* **1996**, 2863, 54–63.
- [52] D. P. Tsai, A. Othonos, M. Moskovits, *Appl. Phys. Lett.* **1994**, *64*, 1768–1770.
- [53] C. L. Jahncke, M. A. Paesler, H. D. Hallen, *Appl. Phys. Lett.* **1995**, *67*, 2483–2485.
- [54] C. L. Jahncke, H. D. Hallen, M. A. Paesler, *J. Raman Spectrosc.* **1996**, *27*, 579–586.
- [55] D. A. Smith, S. Webster, M. Ayad, S. D. Evans, D. Fogherty, D. Batchelder, *Ultramicroscopy* **1995**, *61*, 247–252.
- [56] S. R. Emory, S. Nie, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 2631–2635.
- [57] Y. Narita, T. Tadokoro, T. Ikeda, T. Sakai, S. Mononobe, M. Ohtsu, *Appl. Spectrosc.* **1998**, *52*, 1141–1144.
- [58] S. J. Stranick, L. J. Richter, R. R. Cavanagh, *J. Vac. Sci. Technol. B* **1998**, *16*, 1948–1952.
- [59] D. Zeisel, B. Dutoit, V. Deckert, T. Roth, R. Zenobi, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 749–754.
- [60] D. Zeisel, V. Deckert, R. Zenobi, T. Vo-Dinh, *Chem. Phys. Lett.* **1998**, *283*, 381–385.
- [61] T. Vo-Dinh, *Surface-Enhanced Raman Scattering*, Elsevier Science, **1995**.
- [62] V. Deckert, D. Zeisel, R. Zenobi, T. Vo-Dinh, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 2646–2650.
- [63] R. Stöckle, V. Deckert, C. Fokas, D. Zeisel, R. Zenobi, *Vibr. Spectrosc.* **2000**, *22*, 39–48.
- [64] M. Moskovits, *J. Mod. Phys.* **1985**, *57*, 783–826.
- [65] K. Kneipp, Y. Wang, H. Kneipp, I. Itzkan, R. R. Dasari, M. S. Feld, *Phys. Rev. Lett.* **1996**, *76*, 2444–2446.
- [66] G. Krausch, J. Mlynek, *Microelectron. Eng.* **1996**, *32*, 219–228.
- [67] D. Kossakovski, S. D. O'Connor, M. Widmer, J. D. Baldeshwieler, J. L. Beauchamp, *Ultramicroscopy* **1998**, *71*, 111–115.
- [68] J. D. Hogan, D. A. Laude, *The 38th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Tucson, Arizona, **1990**, S. 848–849.
- [69] K. Dreisewerd, M. Schürenberg, M. Karas, F. Hillenkamp, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1995**, *141*, 127–148.
- [70] B. Dutoit, D. Zeisel, V. Deckert, R. Zenobi, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 6955–6959.
- [71] M. Stäbelin, M. A. Bopp, G. Tarrach, A. J. Meixner, I. Zschokke-Gränacher, *Appl. Phys. Lett.* **1996**, *68*, 2603–2605.
- [72] H. J. Mamin, *Appl. Phys. Lett.* **1996**, *69*, 433–435.
- [73] C. Lienau, A. Richter, T. Elsaesser, *Appl. Phys. Lett.* **1996**, *69*, 325–327.
- [74] D. Singleton, G. Paraskevopoulos, R. S. Taylor, *Chem. Phys.* **1990**, *144*, 415–423.
- [75] R. Stöckle, N. Schaller, V. Deckert, C. Fokas, R. Zenobi, *J. Microsc.* **1999**, *194*, 378–382.
- [76] K. Sasaki, *J. Vac. Sci. Technol. B* **1997**, *15*, 2786–2790.
- [77] R. Stöckle, Y.-D. Suh, V. Deckert, R. Zenobi, *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *318*, 131–136.