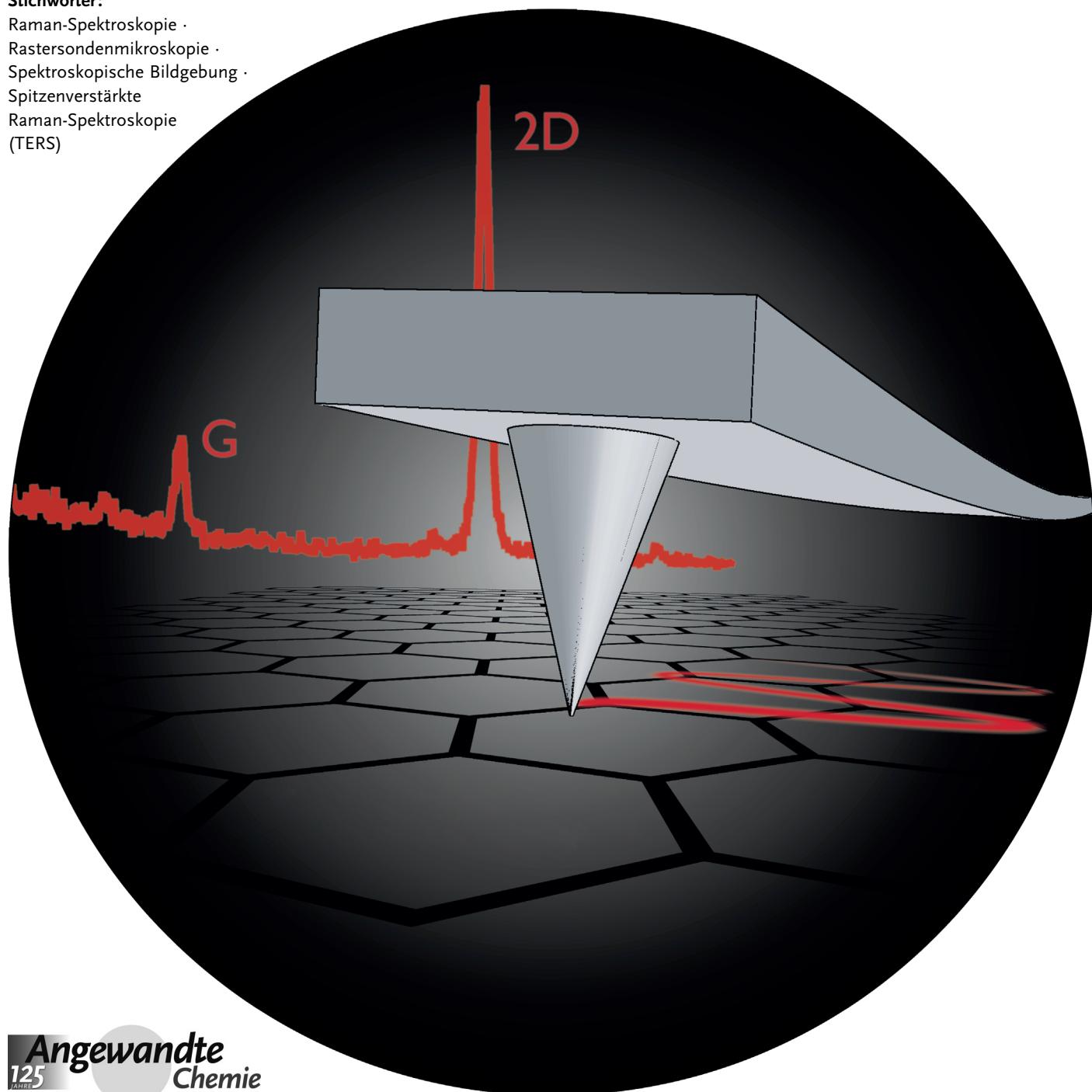


# Chemische Bildgebung auf der Nanometerskala mittels spitzenverstärkter Raman-Spektralanalyse

Thomas Schmid, Lothar Opilik, Carolin Blum und Renato Zenobi\*

**Stichwörter:**

Raman-Spektroskopie ·  
Rastersondenmikroskopie ·  
Spektroskopische Bildgebung ·  
Spitzenverstärkte  
Raman-Spektralanalyse  
(TERS)



**C**hemische Analysemethoden auf der Nanometerskala sind von zentraler Bedeutung für die Charakterisierung von Nanostrukturen moderner Materialien und biologischer Systeme. Spitzenverstärkte Raman-Spektroskopie (*tip-enhanced Raman spectroscopy, TERS*) kombiniert die chemische Information, welche durch Raman-Spektroskopie erhalten werden kann, mit der von der oberflächenverstärkten Raman-Streuung (*SERS*) bekannten Signalverstärkung und der hohen räumlichen Auflösung der Rasterkraftmikroskopie (*AFM*) bzw. der Rastertunnelmikroskopie (*STM*). Dabei wird eine metallische oder metallisierte Spitz in den Fokus eines Lasers gebracht, wodurch ein stark verstärktes elektromagnetisches Feld am Spitzende resultiert, welches als sehr kleine Lichtquelle für Raman-spektroskopische Messungen auf der Nanometerskala dient. Dieser Aufsatz beschäftigt sich hauptsächlich mit den Voraussetzungen für eine effiziente Kopplung des Laserlichts an die Spitz sowie den verbliebenen Herausforderungen und Tücken der spitzenverstärkten Raman-Spektroskopie, welche für die chemische Bildgebung mittels TERS berücksichtigt werden müssen. Beispiele aus aktuellen Publikationen demonstrieren das Potential von TERS für die chemische Bildgebung mit einer räumlichen Auflösung von ca. 10 nm und einer Sensitivität, welche den Nachweis weniger Moleküle ermöglicht in Anwendungen, die von den Materialwissenschaften bis hin zu den Biowissenschaften reichen.

## 1. Einleitung

Die molekulare Analyse auf der Nanometerskala gewinnt immer mehr an Bedeutung in Bereichen, wie der heterogenen Katalyse, der molekularen Elektronik, der Biophysik und der Biologie. Methoden, die eine Auflösung im Nanometerbereich ermöglichen, sind z.B. die Elektronenmikroskopie (EM), die Rastersondenmikroskopie (scanning probe microscopy, SPM, d.h. Rasterkraftmikroskopie (atomic force microscopy, AFM) und Rastertunnelmikroskopie (scanning tunneling microscopy, STM)) sowie moderne Methoden der hochauflösenden Fluoreszenzmikroskopie (stochastic optical reconstruction microscopy, STORM, stimulated emission depletion, STED, photoactivated localization microscopy, PALM).<sup>[1-6]</sup> Allerdings sind diesen Methoden Grenzen gesetzt: Einige ermitteln keinerlei molekulare/spektroskopische Information (EM, STM, AFM), andere erfordern die gezielte Markierung der zu untersuchenden Moleküle oder Probenbestandteile (PALM, STORM und einige EM-Techniken). Ideal wäre eine Methode zur Erforschung komplexer heterogener Proben, welche

- chemische Verbindungen anhand ihres spektroskopischen Fingerabdrucks identifizieren kann;
- markierungsfrei arbeitet;
- eine räumliche Auflösung bis hinunter zu wenigen nm ermöglicht;
- zur simultanen topographischen und spektroskopischen Bildgebung befähigt ist;

- eine Sensitivität aufweist, die den Nachweis weniger Moleküle ermöglicht.

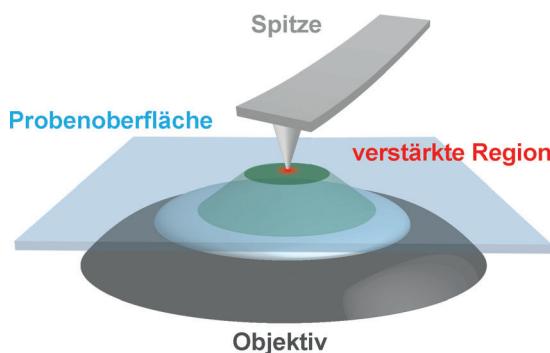
Die spitzenverstärkte Raman-Spektroskopie (*tip-enhanced Raman spectroscopy, TERS*) kommt der Erfüllung all dieser Anforderungen sehr nahe. Vor etwas mehr als einem Jahrzehnt entwickelt,<sup>[7-10]</sup> ist TERS der spektroskopische „Cousin“ von AFM und STM, wobei die Methode ihren Ursprung als eine „aperturlose“ Version<sup>[11]</sup> der optischen Rasternahfeldmikroskopie (scanning near-field optical microscopy, SNOM) hatte. TERS ist eine optische Nahfeldtechnik, bei der eine metallische oder eine metallisierte SPM-Spitze mit einem fokussierten, beugungsbegrenzten Anregungsstrahl bestrahlt wird. Die Spitz kann über eine Probenoberfläche gefahren werden und wirkt dabei als Nahfeldlichtquelle (Abbildung 1). Die Grundlagen von TERS ähneln denen der oberflächenverstärkten Raman-Streuung (surface-enhanced Raman scattering, SERS), bei welcher metallische Nanopartikel oder Nanostrukturen zu einer deutlichen Verstärkung des normalerweise schwachen Raman-Signals des adsorbierten Analytmoleküls um mehrere Größenordnungen führen.<sup>[12]</sup> Der Hauptunterschied besteht darin, dass bei TERS die Verstärkung ihren Ursprung aus-

[\*] T. Schmid, L. Opilik,<sup>[+]</sup> C. Blum,<sup>[+]</sup> R. Zenobi  
Departement Chemie und Angewandte Biowissenschaften  
ETH Zürich, CH-8093 Zürich (Schweiz)  
E-Mail: zenobi@org.chem.ethz.ch

[†] Diese Autoren trugen gleichermaßen zu dieser Arbeit bei.

## Aus dem Inhalt

<b>1. Einleitung</b>	6055
<b>2. Optische Nahfeldsonden</b>	6056
<b>3. Technische Schwierigkeiten bei der TERS-Bildgebung</b>	6058
<b>4. Anwendung der TERS-Bildgebung in den Material- und Biowissenschaften</b>	6063
<b>5. Zusammenfassung und Ausblick</b>	6067



**Abbildung 1.** Typischer TERS-Aufbau mit Detektion/Anregung von unten und einer metallisierten AFM-Spitze zur lokalen Feldverstärkung. Das Objektiv dient zur Fokussierung des Anregungsstrahls (grün) auf der Probenoberfläche und der Sammlung des Raman-Streulichts. Die verstärkte Raman-Streuung stammt von einem kleinen Teil der angestrahlten Fläche (rot), wo sich die TERS-Spitze nahe der Probenoberfläche befindet.

schließlich in einer einzigen verstärkenden metallischen Nanostruktur am Apex der SPM-Spitze hat, wohingegen bei SERS viele verstärkende „Hot-Spots“ vorhanden sind, die zu einem gemittelten Spektrum führen. Während dies bei SERS oft erwünscht ist, sollte bei TERS die Adsorption von Analytmolekülen an die verstärkende Struktur vermieden werden. Der SPM-Teil eines TERS-Instruments erlaubt die Platzierung der nanometergroßen Lichtquelle an bestimmten Stellen einer Probe sowie auch, durch Rasterbewegung entweder der Probe oder der Spitze, die Durchführung von Bildgebungsexperimenten mit pixelweiser Sammlung spektroskopischer Informationen. Die TERS-Technik wird in naher Zukunft immer mehr an Bedeutung gewinnen, teils weil die Hersteller von Rastersondenmikroskopen beginnen, größere Anstrengungen in die Entwicklung von TERS-Geräten und die Produktion zuverlässiger TERS-Spitzen zu investieren, zum Teil aber auch, weil in vielen Bereichen von Wissenschaft und Technik ein großer Bedarf an der Gewinnung detaillierter molekularer Informationen mit hoher räumlicher Auflösung besteht. Besonders vielversprechend sind Fortschritte bei der Etablierung von TERS als hochauflösendes Bildgebungsverfahren, und der Schwerpunkt dieses Aufsatzes liegt darum auf neuen Anwendungen und den Herausforderungen der TERS-Bildgebung.



Thomas Schmid, geboren in Bozen (Italien), studierte Chemie an der TU München (Diplom 1999) und promovierte dort 2003. 2005 schloss er sich als DFG-Stipendiat der ETH Zürich an, seit 2007 ist er dort als wissenschaftlicher Mitarbeiter und Dozent angestellt. Seine Forschungsinteressen gelten der chemischen Nanoanalyse und chemischen Bildgebung mittels spitzerverstärkter Raman-Spektroskopie (TERS) sowie allgemein Kombinationen aus AFM-/STM- und Raman-Mikroskopie mit Schwerpunkt auf der Methodenentwicklung und Anwendungen in der Biologie und den Materialwissenschaften.

Wir beginnen unsere Übersicht mit den Voraussetzungen für eine effiziente optische Kopplung des auf der TERS-Spitze auftreffenden Lichts (Abschnitt 2). Da TERS-Anwender auch die Mängel und Tücken dieser Methode verstehen müssen, setzen wir uns kritisch mit bestehenden Schwierigkeiten bei der TERS-Bildgebung auseinander, wie der korrekten Zuordnung von Raman-Banden bei komplexen (biologischen) Proben sowie der Identifizierung von Verunreinigungen und Verschleißerscheinungen der Spitze (Abschnitt 3). Abschließend diskutieren wir einige aktuelle Literaturbeispiele, um zu veranschaulichen, wie TERS die molekulare Verteilung komplexer Proben wie z.B. Nanoröhren, Graphen, Solarzellenmaterialien und Lipidschichten visualisieren kann (Abschnitt 4).

## 2. Optische Nahfeldsonden

Seit den Anfängen der optischen Rasternahfeldmethoden (SNOM) ist die Herstellung und Charakterisierung der Spalten/Sonden ein Schlüsselfaktor, der über den Erfolg oder Misserfolg solcher Experimente entscheidet. Das Prinzip der SNOM-Technik beruht auf einem Gedankenexperiment von E. Synge, der 1928 vorschlug, eine sehr kleine Apertur (mit einer Größe deutlich unter der Beugungsgrenze) sehr nahe an eine Probenoberfläche zu bringen.<sup>[13]</sup> Die beleuchtete Apertur würde so als Nahfeldlichtquelle wirken, mit der beim Rastern über die Probenoberfläche Abbildungen mit einer räumlichen Auflösung unterhalb der Beugungsgrenze resultieren. 56 Jahre nach der Veröffentlichung dieser Idee gelang die experimentelle Realisierung mit sichtbarem Licht unter Verwendung einer metallbeschichteten Glasfaserspitze mit einer kleinen Apertur an deren Ende.<sup>[14,15]</sup> Da allerdings die Lichtintensität bei einer Verringerung der physikalischen Größe der Apertur deutlich abnimmt, liegt die beste bisher erreichte räumliche Auflösung im Bereich von 50 nm.<sup>[16]</sup> In vielen Gebieten von Forschung und Technik wäre aber eine bessere räumliche Auflösung als diese erwünscht. Mit der aperturlosen SNOM (welche im Zusammenhang mit Raman-spektroskopischen Messungen als TERS bezeichnet wird) wurde experimentell eine räumliche Auflösung bis zu 4 nm demonstriert.<sup>[11]</sup> Der Hauptunterschied im Vergleich zur SNOM mit Apertur liegt darin, dass man anstelle einer Apertur mit Abmessungen unterhalb der optischen Beu-



Lothar Opilik studierte Chemie an der ETH Zürich (M.Sc. 2009). Seine Masterarbeit absolvierte er im Arbeitskreis von Prof. Reinhard Nießner an der TU München. 2009 kehrte er an die ETH Zürich zurück und begann seine Doktorarbeit im Arbeitskreis von Prof. Renato Zenobi. Seine Forschungsarbeiten konzentrieren sich auf die Untersuchung von molekularen Dünnschichten mittels spitzerverstärkter Raman-Spektroskopie.

gungsgrenze einen nanometergroßen Streuer über die Probenoberfläche bewegt, der von einer beugungsbegrenzten Lichtquelle bestrahlt wird. Der sehr kleine Streuer kann ein verstärktes optisches Feld in seiner unmittelbaren räumlichen Umgebung erzeugen (hauptsächlich aufgrund lokalisierter Oberflächenplasmonenresonanzen), das als Nahfeldlichtquelle wirkt. Ein bedeutender Nachteil dieser Technik ist der Hintergrundbeitrag der experimentell erforderlichen Fernfeldbeleuchtung. In der Literatur wurden mehrere Ansätze zur Beseitigung oder Unterdrückung des Fernfeldbeitrags präsentiert.<sup>[17–20]</sup> Ein weiteres ungelöstes Problem von TERS ist, dass geeignete optische Sonden noch nicht reproduzierbar hergestellt werden können. Geätzte Metalldrähte oder metallbeschichtete SPM-Sonden sind einfach herzustellen und werden üblicherweise verwendet, es mangelt jedoch an Reproduzierbarkeit von Spitze zu Spitze.

Die Hauptfaktoren, die eine effiziente Lichtkopplung an eine optische Sonde beeinflussen, sind die Geometrie der Spitze, dessen Material und dielektrische Funktion  $\epsilon(\omega)$ , die Dielektrizitätskonstante  $\epsilon_M$  des die Spitze umgebenden Mediums sowie Einstrahlwinkel und Polarisierung des einfallenden Lichts. Als sehr einfache erste Näherung kann der Apex der Spitze als kleine Kugel mit deutlich geringerer Größe als die Anregungswellenlänge (sowie kleiner als die optische Eindringtiefe in das Metall) angenommen werden. In diesem Fall gilt die elektrostatische (oder quasi-statische) Näherung, und das interne elektrische Feld  $E_{in}$  wird durch einen elektrischen Dipol im Zentrum der Kugel beschrieben.<sup>[21]</sup> Das Verhältnis des internen elektrischen Felds  $E_{in}$  zur einfallenden Feldstärke  $E_0$  wird dann sehr groß, wenn  $\epsilon(\omega) \approx -2\epsilon_M$  ist, d.h., wenn  $\text{Im}(\epsilon(\omega))$  gegen null geht und  $\text{Re}(\epsilon(\omega))$  ungefähr  $-2\epsilon_M$  beträgt.<sup>[12]</sup> Dies ist nur für Materialien möglich, die im relevanten Frequenzbereich Werte zwischen  $-1$  und  $-20$  für  $\text{Re}(\epsilon(\omega))$  aufweisen.<sup>[12]</sup> Diese Bedingung  $\epsilon(\omega) \approx -2\epsilon_M$  hat zur Folge, dass nur bei einer bestimmten (Resonanz-)Frequenz  $\omega$  ein starker optischer Effekt auftritt. Dies ist ein einfaches Beispiel für eine lokalisierte Oberflächenplasmonenresonanz, welche die erforderliche Wellenlänge definiert, bei der die effektivste Kopplung an die optische Sonde stattfindet. Materialien mit den erforderlichen optischen Eigenschaften existieren und können nach Evaluation ihrer dielektrischen Funktionen identifiziert werden. Der Realteil der dielektrischen Funktion von Metallen sinkt von kleinen positiven Werten (unter 1) im UV zu negativen Werten im sichtbaren

und infraroten Bereich des elektromagnetischen Spektrums, wie es aus dem optischen Ansprechverhalten der freien Elektronen im Leitungsband erwartet wird (klassisches Drude-Modell).<sup>[12,22,23]</sup> Wie zuvor erwähnt, erlaubt dies das Auftreten von Plasmonenresonanzen bei Frequenzen, die für jedes Metall charakteristisch sind [abhängig von  $\text{Re}(\epsilon(\omega))$ ]. Die Intensität der Polaritonresonanz wird vom Faktor  $\text{Im}(\epsilon(\omega))$  bestimmt, der idealerweise Werte nahe null haben sollte (siehe oben), weil dann Verluste durch Absorption minimal sind.<sup>[12]</sup> Die dielektrische Funktion zahlreicher Metalle kann in Lehrbüchern nachgeschlagen werden.<sup>[12,24,25]</sup> Deren Auswertung führt zum Schluss, dass die höchsten Resonanzen für Ag und Au im sichtbaren Bereich zu erwarten sind (typischer Wellenlängenbereich für Raman-spektroskopische Messungen). In der Tat sind Silber und Gold die am häufigsten für optische Sonden verwendeten Materialien.<sup>[26]</sup> Der deutlichste Unterschied der dielektrischen Funktion von Au im Vergleich zu der von Ag sind Interband-Übergänge, die sich vom nahen UV- bis in den sichtbaren Bereich erstrecken. Infolgedessen hat Au (ähnlich wie Cu) eine signifikante optische Absorption unterhalb von etwa 600 nm (hoher Wert für den Imaginärteil der dielektrischen Funktion in diesem Bereich), kann aber starke Resonanzen oberhalb von 600 nm aufweisen. Dagegen eignet sich Ag im gesamten sichtbaren Bereich für Anwendungen in der Plasmonik. Andere Metalle wie Platin, Palladium und Aluminium absorbieren im gesamten sichtbaren Bereich stark. Aluminium eignet sich allerdings für Anwendungen mit UV-Anregung.<sup>[27,28]</sup> Die zuvor erwähnten Bedingungen und der Trend des Realteils der dielektrischen Funktion der Metalle bedingen auch, dass ein Anstieg der Dielektrizitätskonstante  $\epsilon_M$  des umgebenden Mediums zu einer Rotverschiebung der lokalisierten Oberflächenplasmonresonanz führt. Dieser Effekt wurde von Yeo et al.<sup>[29]</sup> und vor kurzem auch von Hayazawa et al.<sup>[30]</sup> zur Abstimmung der Resonanzfrequenz einer optischen Nahfeldsonde auf den blau/grünen Spektralbereich genutzt, indem sie als Material der Spitze, das in direktem Kontakt mit der verstärkenden Silberstruktur ist, eines mit geringem Brechungsindex (z.B.  $\text{SiO}_x$ ,  $\text{AlF}_3$ ) wählten.

Die Resonanzfrequenz der lokalisierten Oberflächenplasmonenresonanz ist unabhängig von der Größe der Kugel, sofern die elektrostatische Näherung gilt. Für größere Kugeln (die am besten durch die Mie-Lösung der Maxwell-Gleichungen beschrieben werden) wird mit zunehmender Teil-



*Carolin Blum studierte Chemie am Karlsruher Institut für Technologie (Diplom 2010) und promoviert seit 2011 an der ETH Zürich im Arbeitskreis von Prof. Renato Zenobi. Ihr Forschungsthema ist der Vergleich von spitzenverstärkter Raman-Streuung mit anderen Raman-Methoden und die spitzenverstärkte Raman-Spektroskopie biologischer Proben.*



*Renato Zenobi studierte an der ETH Zürich (M.S. 1986) und promovierte 1990 an der Stanford University, USA. Nach Postdoktoraten in Pittsburgh und an der University of Michigan wechselte er 1992 als Werner-Stipendiat an die EPFL in Lausanne, wo er seine eigene Forschungsgruppe gründete. 1995 wurde er Assistant Professor an der ETH Zürich, 1997 Associate Professor und 2002 Full Professor. Seine Forschungen gelten der laserbasierten analytischen Chemie, der Massenspektrometrie und der Rastermikroskopie sowie der Entwicklung von Analysemethoden für die Nanoskala, insbesondere der spitzenverstärkten Raman-Spektroskopie.*

chengröße eine Rotverschiebung der Resonanz beobachtet. Betrachtet man andere Teilchengeometrien als die perfekte Kugel, werden die Resonanzbedingungen überaus kompliziert. Eine Erweiterung der obigen Theorie von kugelförmigen auf ellipsoide Teilchen führt zu einer modifizierten Resonanzbedingung mit der Möglichkeit von bis zu drei separaten Extinktionspeaks (die Absorption hängt von der Polarisierung des einfallenden Lichts ab).<sup>[25]</sup> Für den Fall einer Polarisierung entlang der Längsachse des Ellipsoids ist mit steigendem Seitenverhältnis eine Rotverschiebung der Resonanz zu erwarten. Ein Ansatz, der dieses Phänomen zum Design einer abstimmbaren Nahfeldsonde nutzt, wurde vor kurzem in der Literatur beschrieben.<sup>[31]</sup> Fleischer et al. platzierten Goldnanokegel auf AFM-Kraftsensoren (Cantilever) und erhielten damit effiziente optische Sonden. Durch Variieren der Höhe der Goldkegel (einhergehend mit einer Verschiebung ihrer Resonanzwellenlänge) gelang es den Autoren, die optischen Sonden an große Teile des sichtbaren Spektrums (500–700 nm) anzupassen. Trotz des stark zu variierenden Höhenbereichs der Goldnanokegel (10–170 nm) konnte der Radius des Apex konstant gehalten werden, sodass im gesamten Spektralbereich stark lokalisierte Felder erzeugt wurden. Für weitere Details zur Lichtkonzentrierung durch plasmonische Strukturen verweisen wir auf einen kürzlich erschienenen Übersichtsartikel von Schuller et al.<sup>[32]</sup>

Lokalisierte Oberflächenplasmonresonanzen gelten als wichtigster Beitrag zur beobachteten Feldverstärkung, aber auch andere Effekte (hauptsächlich geometrische) können zur Feldverstärkung beitragen. Beispielsweise kann „Feldlinien-Crowding“ an einem scharfen Apex zu einer nichtresonanten lokalen Feldverstärkung führen, unabhängig von der Anregungswellenlänge (Blitzableitereffekt).<sup>[33]</sup> Eine Korrelation der lokalen Feldverstärkung mit z.B. der Spitzenzlänge und dem Apexitradius einer Siliciumsonde (ohne Beiträge von Polaritonen) wurden in einer theoretischen Arbeit von Esteban et al. vorgestellt.<sup>[34]</sup> Es wurde gezeigt, dass ein kleinerer Apexitradius ein stärker lokalisiertes Feld sowie eine stärkere Streuung bewirkt. Darüber hinaus wurde demonstriert, dass sehr kleine Spitzen (oder sogar Kugeln) engere Felder erzeugen als die langen Spitzen, die typischerweise in aperturlosen SNOM-Experimenten zum Einsatz kommen. Esteban et al. diskutieren auch antennenähnliche Resonanzen, die bei der Evaluation der Spitzenzlängen berücksichtigt werden müssen. Dieser Effekt, der von der klassischen Antennentheorie bekannt ist, kann auch für den spezifischen Entwurf effizienter optischer Nahfeldsonden genutzt werden.<sup>[35]</sup>

### 3. Technische Schwierigkeiten bei der TERS-Bildgebung

#### 3.1. Berührungsängste: Abstand zwischen Spalte und Probe

Im Verlauf eines TERS-Bildgebungsperiments wird der Abstand zwischen Spalte und Probe normalerweise über einen STM- oder AFM-Rückkopplungsmechanismus gesteuert. Bei STM-Techniken basiert die Abstandskontrolle auf dem Tunnelstrom zwischen Spalte und leitfähigem Sub-

strat, der einer streng monotonen (absteigenden) Funktion des Abstands zwischen Spalte und Probe folgt. Die isolierende Lücke ist typischerweise zwischen 0.5 und 1 nm groß. Bei AFM-Techniken basiert die Abstandskontrolle auf den Kräften, die zwischen Spalte und Probenoberfläche wirken, welche nicht durch eine monotone Funktion beschrieben werden können (je nach Abstand dominieren abstoßende oder anziehende Kräfte). Bei Anwendung des Kontaktmodus ist der Abstand zwischen Spalte und Probe typischerweise kleiner als bei STM-Rückkopplung (< 0.5 nm), was ein deutlicher Vorteil sein kann (höhere Feldverstärkung), aber auch z.B. zum Verschieben oder zur Aufnahme von Probenmolekülen führen kann. Andere für TERS verwendete Rückkopplungsmechanismen sind der Tapping-AFM-Modus<sup>[36–39]</sup> und die Scherkraftrückkopplung unter Verwendung einer Stimmgabel.<sup>[40–42]</sup>

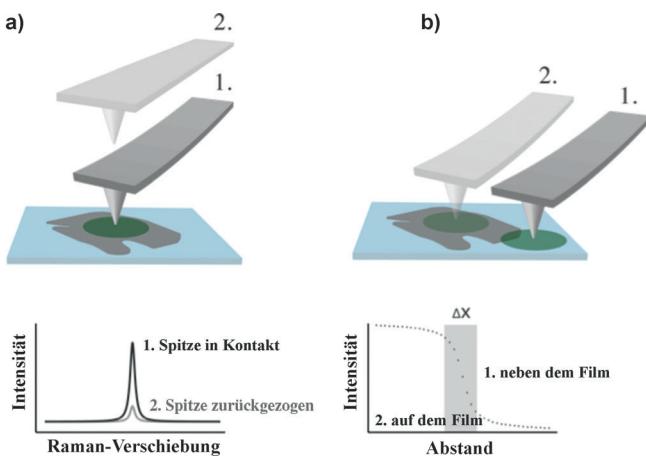
Die lokale Feldstärke an der Probenoberfläche nimmt mit zunehmendem Abstand zwischen Spalte und Probe rasch ab. Dieses Phänomen ist ein sehr guter Indikator für einen echten Nahfeldeffekt. Eine aktuelle Studie von Yano et al.<sup>[43]</sup> untersucht den Effekt unterschiedlicher Abstände zwischen Spalte und Probe in spitzenverstärkten Raman-Experimenten. Die Autoren verwendeten dabei eine silberbeschichtete Silicium-AFM-Sonde im Tapping-Mode-Rückkopplungsverfahren. Mittels zeitkorrelierter Einzelphotonenzählung konnte das detektierte Raman-Signal mit dem vertikalen Abstand zwischen der Spalte und der Probenoberfläche über den Bereich der Schwingungsamplitude in Beziehung gesetzt werden. Ein exponentieller Abfall der Raman-Nahfeldintensität mit zunehmendem Abstand zwischen Spalte und Probe wurde gefunden, wobei typische Werte bei  $1/e$  zwischen 10 und 25 nm betrugen.

Andere Untersuchungen ergaben, dass die TERS-Intensität (und die TERS-Hintergrundintensität) umgekehrt proportional zur zehnten Potenz des Spalte-Probe-Abstands ist. In den meisten Fällen wurde für Abstände größer als 20 nm kein Nahfeldbeitrag beobachtet.<sup>[44–51]</sup>

#### 3.2. TERS in Zahlen: Kontrast, Verstärkungsfaktor und Feldbegrenzung

Der sogenannte Verstärkungsfaktor wird üblicherweise zum Vergleich verschiedener TERS-Studien herangezogen – trotz der großen Unterschiede zwischen den in der Literatur zitierten Verstärkungsfaktoren.<sup>[52,53]</sup> Die Motivation zur Verwendung eines Verstärkungsfaktors stammt hauptsächlich aus der Einzelmolekül-TERS, wo dieser verwendet wird, um abzuschätzen, ob die Verstärkung zur Detektion von einzelnen Molekülen überhaupt ausreichend ist. In spitzenverstärkten Raman-Bildgebungsexperimenten hat die Reduktion der Nahfeldverstärkungseffekte auf eine einzige Zahl aber nur wenig praktischen Nutzen. Charakteristika wie der spektroskopische Kontrast, die Feldbegrenzung und das fernfeldbeleuchtete Areal/Volumen besitzen bei der Beschreibung von TERS-Bildgebungsexperimenten eine deutlich höhere praktische Relevanz, da sie ein direktes Maß für die erreichbare Bildqualität (Auflösung, Kontrast) und die Bildaufnahmezeit bieten.

Der spektroskopische Kontrast kann mithilfe eines „Tip-in-Tip-out“-Experiments bestimmt werden (Abbildung 2a). Hierbei vergleicht man die Raman-Intensitäten miteinander, welche mit der Spalte im Kontakt mit der Probenoberfläche



**Abbildung 2.** Experimentelle Vorgehensweise zur Bestimmung a) des Kontrasts und b) der lateralen Feldbegrenzung. Zur Bestimmung des spektroskopischen Kontrasts wird die Intensität der Raman-Bande mit der Spalte in Kontakt mit der Probenoberfläche (a, 1) mit der Signalintensität bei zurückgezogener Spalte (a, 2) verglichen. Ein Linienscan über die Kante eines dünnen Films (z.B. Graphen) aus einer Position neben dem Film (b, 1) in eine Position auf dem Film (b, 2) zeigt ein Intensitätsgefälle, wobei  $\Delta x$  ein direktes Maß für die laterale Ausdehnung des Nahfeldbeitrags ist (sofern der Fernfeldbeitrag vernachlässigt werden kann). Der grüne Kreis markiert den Fokuspunkt des Lasers.

bzw. mit zurückgezogener Spalte gemessen wurden. Die gängigste Definition lautet:<sup>[26,53–55]</sup>

$$\gamma = \frac{I_{\text{nf}}}{I_{\text{ff}}} = \frac{I_{\text{tip-in}} - I_{\text{tip-out}}}{I_{\text{tip-out}}} = \frac{I_{\text{tip-in}}}{I_{\text{tip-out}}} - 1$$

$I_{\text{tip-in}}$  ist die Intensität des Raman-Signals, wenn die Nahfeldsonde im Kontakt mit der Probe steht,  $I_{\text{tip-out}}$  ist die Intensität des Raman-Signals an derselben Position der Probe mit zurückgezogener Spalte,  $I_{\text{nf}}$  ist die reine Nahfeldsignalintensität, und  $I_{\text{ff}}$  ist die (reine) Fernfeldsignalintensität.

Die Feldbegrenzung hängt hauptsächlich von den Abmessungen der Sonde ab, und Abstandscurven geben einen guten Eindruck von den Nahfeldeigenschaften der Verstärkung und der Feldbegrenzung in  $z$ -Richtung (siehe Abschnitt 3.1). Die laterale Feldbegrenzung kann am sinnvollsten über einen Linienscan entlang einer scharfen Kante eines dünnen Films (z.B. Graphen) bestimmt werden. Die Auflösung steht in direkter Verbindung mit dem Abstand  $\Delta x$  (Abbildung 2b), über den die Intensität von 10 % auf 90 % der finalen Raman-Intensität (auf dem Film) zunimmt, was der Halbwertsbreite (FWHM) der Linienspreizfunktion entspricht (erste Ableitung des Signals an der Kante). Auch eine eindimensionale Struktur wie eine einwandige Kohlenstoffnanoröhre kann verwendet werden, bei der die Nahfeldbegrenzung direkt dem senkrecht zur Röhre gemessenen Intensitätsprofil entspricht.<sup>[56]</sup>

Die vom Fernfeld beleuchtete Fläche sollte ebenfalls im Zusammenhang mit der spitzenverstärkten Raman-Bildgebung erwähnt werden, da sie einen deutlichen Einfluss auf das Ergebnis eines Bildgebungsexperiments haben kann. Die kontinuierliche Bestrahlung einer großen Probenfläche sollte vermieden werden, um photoinduzierte Veränderungen oder das Bleichen der Probe zu vermeiden. Betrachtet man ein typisches TERS-Bildgebungsexperiment mit  $128 \times 128$  Pixeln und einer Pixelgröße von  $10 \text{ nm}$ , so ist die untersuchte Fläche von  $1.64 \mu\text{m}^2$  beinahe siebenmal größer als die Fläche, die durch einen stark fokussierten Anregungslaser in einem TERS-Experiment mit Beleuchtung von unten bestrahlt wird, wenn ein Ölimmersionsobjektiv verwendet werden kann. In einem TERS-Experiment mit seitlicher Beleuchtung kann die kontinuierlich durch den Anregungslaser bestrahlte Fläche annähernd  $2 \mu\text{m}^2$  betragen, was bei gleicher Leistungsdichte zu einem deutlich stärkeren Ausbleichen der Probe führen kann. Jüngste TERS-Methoden ohne direkte Fernfeldbeleuchtung der Probe sind daher für Bildgebungsexperimente von großem Interesse.<sup>[17,20]</sup>

### 3.3. Was ein Spektrum erzählen kann: Interpretation von TERS-Daten

TERS-Signale müssen korrekt zugeordnet werden, und ihr Vorhandensein oder ihr Fehlen muss in den richtigen Kontext gebracht werden, um vernünftige Schlussfolgerungen zu ermöglichen. Der im Moment gängigste Weg bei der Zuordnung von Banden eines TER-Spektrums ist der Vergleich mit verfügbaren SERS- oder konventionellen Raman-Literaturdaten.<sup>[26]</sup> Vor kurzem zeigte eine Studie von Blum et al., wie sich SER-, Gap-Mode-TER- und konventionelle Raman-Spektren von Aminosäuren, Peptiden und Proteinen (alle auf dem gleichen Instrument gemessen) vergleichen lassen. Eine der wichtigsten Erkenntnisse war, dass innerhalb dieser drei Methoden die Bandenpositionen identisch bleiben (außer für Schwingungen, die direkt durch Wechselwirkungen mit dem Substrat oder, allgemeiner, durch Änderungen der Bindungen oder der Molekularstruktur beeinflusst werden), die Intensitätsverhältnisse aber drastisch variieren können.<sup>[57]</sup> Darüber hinaus wurde beobachtet, dass TER Spektren weniger Banden aufweisen als konfokale Raman-Spektren, und dass TERS in diesem Zusammenhang stärkere Ähnlichkeit mit SERS als mit der konfokalen Raman-Spektroskopie aufweist.

Stadler et al. wiesen kürzlich auch darauf hin, dass bei der Zuordnung einzelner Peaks durch einen Vergleich mit ausreichend Literaturdaten und unter Berücksichtigung einer Toleranz bei der Bandenposition von einigen  $\text{cm}^{-1}$  beinahe jede denkbare Zuordnung der Peaks erfolgen kann.<sup>[26]</sup> Daher schlagen wir vor, dass, sofern man bei der Zuordnung ausschließlich auf Referenzdaten aus der Literatur angewiesen ist, die spektralen Positionen der beobachteten Fingerprint-Banden als *Set* mit dem entsprechenden Referenzspektrum verglichen werden sollten, um sicherzugehen, dass ganze Liniennmuster gut übereinstimmen.

Die beobachteten Abweichungen in den Bandenintensitätsverhältnissen können z.B. mit einer niedrigeren Symmetrie aufgrund von Wechselwirkungen mit dem Substrat oder

der Spitze zusammenhängen,<sup>[58]</sup> mit einem möglichen (aber experimentell noch nicht bewiesenen) Einfluss eines Feldgradienteneffekts<sup>[59]</sup> oder mit dem deutlich verstärkten und lokalisierten elektromagnetischen Feld, welches in einem plasmonisch gekoppelten System vorhanden ist, z.B. in der sogenannten Gap-Mode-STM-Konfiguration.<sup>[26]</sup> Zusätzlich ist auch die Orientierung des Moleküls in Bezug zur Polarisierung des Laserstrahls wichtig, was bereits von der konventionellen Raman-Spektroskopie bekannt ist.<sup>[58,60]</sup>

Vorsicht ist auch dann geboten, wenn TER-Spektren verglichen werden, die auf verschiedenen Instrumenten gemessen wurden. Dies gilt aufgrund mehrerer Faktoren: Es mangelt an einer Standardisierungsmethode, die berücksichtigt, dass die technischen Spezifikationen und die Spektrometerkalibrierung sich von Gerät zu Gerät unterscheiden. Dieses Problem ist in der Raman-Community bereits wohlbekannt,<sup>[61]</sup> und eine Standardisierungsmethode zum Vergleich konventioneller Raman-Spektren, die auf verschiedenen Geräten gemessen wurden, wurde von Rodriguez et al. vorgeschlagen.<sup>[62]</sup> Für die TERS-Community wäre ein solches Verfahren ebenfalls äußerst nützlich.

Wir schlagen vor, eine spektrale Datenbank für SERS-, TERS- und konventionelle Raman-Daten aufzubauen, vergleichbar mit bereits existierenden Datenbanken wie dem NIST Chemistry WebBook. In einer solchen Datenbank sollten die Spektren mit Bezug auf die Geräteparameter standardisiert werden, und die wichtigsten experimentellen Bedingungen der TERS-Experimente sollten eindeutig angegeben sein. Eine solche Datenbank wäre eine große Hilfe für die Community, da sie eine deutlich einfachere und verlässlichere Zuordnung und Vergleichbarkeit von verschiedenen Messungen ermöglichen würde.

### 3.4. Verunreinigung der Spitze: über parasitäre Spektren und Störbanden

Es ist wohlbekannt, dass Kohlenstoffverunreinigungen z.B. durch Erhitzen der Probe erzeugt werden können.<sup>[59,63]</sup> Bei langen Messzeiten (im Bereich von Minuten) mitteln sich deren Raman-Signale oft zu zwei breiten Banden (D- und G-Bande) bei ungefähr  $1350\text{ cm}^{-1}$  bzw.  $1580\text{ cm}^{-1}$ , welche leicht zu erkennen sind.<sup>[59]</sup> Trotzdem stören diese breiten Hintergrundsignale nicht notwendigerweise das Spektrum der intakten Substanz, da dieses oftmals sehr einfach in Form von scharfen Raman-Banden zu erkennen ist, die den breiten Hintergrundsignalen aufgesetzt sind. Kudelski,<sup>[64]</sup> Bjerneld,<sup>[65]</sup> Pieczonka,<sup>[66]</sup> Moyer<sup>[67]</sup> und Richards et al.<sup>[68]</sup> diskutierten ebenfalls solche Kohlenstoffverunreinigungen in SERS und TERS.

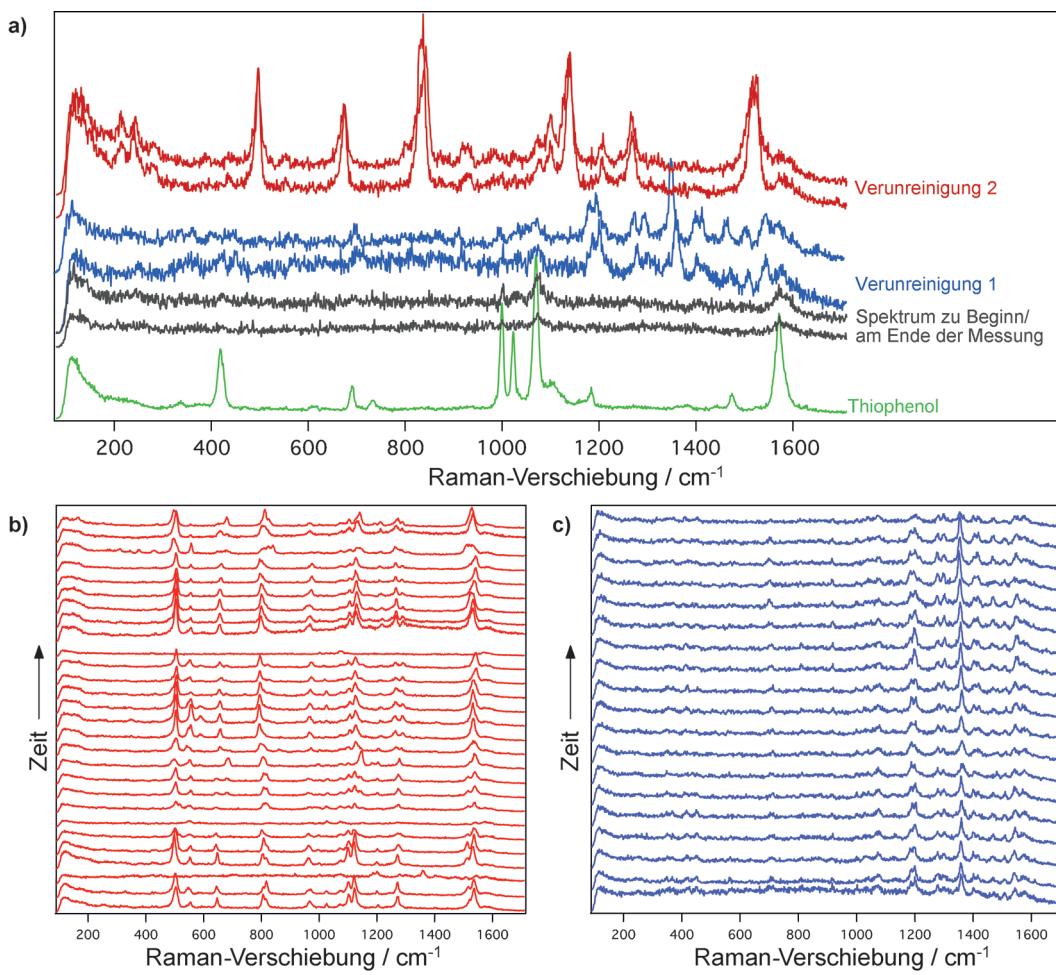
Des Weiteren weisen TER- und SER-Spektren oftmals einen breitbandigen Hintergrund auf, der nicht im Zusammenhang mit Kohlenstoffverunreinigungen steht und dessen Ursprung noch nicht vollständig verstanden wurde. Als mögliche Ursachen wurden inelastische Streuungen der am Apex vorhandenen metallischen Nanostrukturen, verstärkte Fluoreszenz und plasmonengekoppelte Emissionen genannt.<sup>[69–75]</sup> Die gängigste Erklärung ist wohl, dass eine plasmonenabhängige Photolumineszenz von der rauen Metall-

oberfläche (oder dem Spitze-Probe-Spalt)<sup>[46]</sup> solch einen Hintergrund verursacht. Molekulare Fluoreszenz sollte aufgrund elektronischer Kopplungen mit der Metalloberfläche/-spitze gequencht werden und kann wahrscheinlich als Ursache für das beobachtete breite Hintergrundsignal ausgeschlossen werden.<sup>[46]</sup>

Andere Quellen für parasitäre Spektren sind Silberoxide, Sulfide und verwandte Spezies, die durch die Reaktion der Spitzenoberfläche mit atmosphärischen Verbindungen gebildet werden. Am auffälligsten sind zwei Schwingungen um  $220\text{--}240\text{ cm}^{-1}$ , die an Fehlstellen chemisorbiertem molekularem Sauerstoff zugeordnet werden könnten.<sup>[66,76]</sup>

Wenn Verunreinigungen starke und scharfe Signale erzeugen, die den Signalen des Analyten ähneln, wird es deutlich anspruchsvoller, diese Peaks als Störsignale von Verunreinigungen zu erkennen. Um zu untersuchen, ob das beobachtete Spektrum zu einer parasitären Substanz gehört oder nicht, kann z.B. ein sorgfältiger Vergleich mit Raman- oder SERS-Daten durchgeführt werden (Abschnitt 3.3). Eine weitere Möglichkeit besteht in der Durchführung einer zeitabhängigen Messung, da Signale von Verunreinigungen häufig fluktuieren. Kohlenstoffverunreinigungen können z.B. ein spezifisches Signalmuster mit scharfen Signalen typischerweise oberhalb von  $1000\text{ cm}^{-1}$  erzeugen, dessen Intensitäten mit der Zeit variieren.<sup>[26,46,59,77–80]</sup> Chaigneau et al. und Domke et al. diskutierten das Auftauchen solcher fluktuierender Signale im Zusammenhang mit der Einzelmolekül-Detektion mittels TERS.<sup>[59,77]</sup>

Allerdings ist die Fluktuation von Signalen eine Frage der Zeitskala. Abbildung 3 zeigt ein typisches Beispiel. Eine elektrochemisch geätzte Silberspitze wurde in eine Thiophenollösung getaucht und mit einem sauberen Goldsubstrat zur STM-Rückkopplung gebracht. Dabei wurden Spektren mit einer Integrationszeit von jeweils einer Sekunde aufgenommen. Die zwei schwarzen Spektren in Abbildung 3a zeigen, wie das TER-Spektrum von Thiophenol während des größten Teils der Messung aussieht. Zum Vergleich ist ein stärkeres TER-Spektrum von Thiophenol abgebildet (grün), welches mit einer längeren Integrationszeit aufgenommen wurde. Neben den Signalen des Analyten wurden zwei weitere Spektren beobachtet (rot und blau), die klare, reproduzierbare Muster während 19 s bzw. 28 s aufweisen (Abbildung 3b,c). Wenngleich diese offensichtlich über diesen Zeitraum relativ stabil sind, belegt ein Vergleich mit dem Spektrum des Analyten, dass es sich um parasitäre Verunreinigungen handelt, z.B. um Zersetzungprodukte des Analyten, von der Spitze aufgegriffenes Material oder in das Messvolumen diffundierte Substanz. Bei Experimenten, in denen viele verschiedene Substanzen in der Probe vorhanden sind (z.B. biologische Proben), kann es sehr leicht passieren, dass eine Verunreinigung relativ konstant ein Spektrum verursacht, das wie das „komplexe“ zu erwartende Spektrum aussieht. Bei der Durchführung eines Bildgebungsexperiments besteht ein deutlicher Hinweis auf eine solche Verunreinigung darin, dass die parasitären Spektren oft nur in einer Linie eines Flächencans auftauchen. In einem solchen Fall kann man das Experiment mit einer anderen Spitze wiederholen oder auf derselben Linie vorwärts und rückwärts scannen, um zu prüfen, ob dieselben Spektren zu beobachten



**Abbildung 3.** a) Schwarz: Thiophenol-Spektrum zu Beginn/am Ende der Messung. Blau/rot: Beispiele von Verunreinigungsspektren. Grün: starke TER-Spektrum von Thiophenol, aufgenommen mit längerer Messzeit. b) Zeitabhängige Entwicklung des Spektrums der Verunreinigung 2. c) Zeitabhängige Entwicklung des Spektrums der Verunreinigung 1. Integrationszeit: 1 s pro Spektrum. Die Spektren sind zur besseren Übersicht vertikal versetzt dargestellt.

sind. Die Spitze kann auch auf einem leeren Substrat getestet werden oder ein Spektrum kann mit einem auf die zurückgezogene Spitze fokussierten Laser gemessen werden, um eine Verunreinigung der Spitze auszuschließen.

### 3.5. Lebensdauer einer Spitz: chemischer und mechanischer Verschleiß

Die hohe Reaktivität nanorauher Silberspitzen wurde als eine mögliche Ursache für den raschen chemischen Verschleiß der Spitze erwähnt.<sup>[81]</sup> Reaktionen von Silber mit Sauerstoff- oder Schwefelverbindungen aus der Atmosphäre verändern die Oberflächenplasmonenresonanz und führen typischerweise zum Verschwinden der Verstärkung innerhalb von 24 h.<sup>[81]</sup> Eine höhere Lebensdauer kann durch die Verwendung von Goldspitzen erzielt werden, man muss dafür aber eine geringere Verstärkung in Kauf nehmen. Insbesondere für schwache Raman-Streuer ist dies oftmals keine Option.

Mechanischer Verschleiß der Spitze kann aufgrund einer Veränderung der Form des Nanopartikels am Spitzenende auftreten, was mit einer veränderten TERS-Intensität einhergeht.<sup>[82]</sup> Da die am häufigsten verwendeten TERS-Spitzen aus den eher duktilen Materialien Gold oder Silber bestehen (im Vergleich zu z. B. Siliciumnitrid), können sich insbesondere vollständig aus Metall bestehende Spitzen im Laufe des Bildgebungsexperiments verformen.<sup>[63]</sup> Metallbeschichtete AFM-Spitzen können Teile ihrer Beschichtung verlieren, falls das Metall nicht stark genug am Spitzenmaterial haftet.

Eine weitere in der Literatur wohlbekannte Ursache für den Verschleiß von Spitzen ergibt sich aus deren Aufheizen durch den Laserstrahl und damit potenziell einhergehenden Strukturänderungen der Nanostruktur. Für einen allgemeinen Überblick verweisen wir auf die Übersichtsartikel von Yeo et al. (siehe den Abschnitt zur „Nahfelderwärmung“)<sup>[63]</sup> und Stadler et al. (siehe den Abschnitt zur „lokalen Erwärmung“).<sup>[26]</sup> Interessanterweise konnte von mehreren Arbeitsgruppen gezeigt werden, dass die verstärkenden Nanopartikel durch eine Schutzschicht gegen solche Aufheiz-

effekte abgeschirmt werden können. Erste Ergebnisse für SERS-Partikel wurden z.B. von John et al.<sup>[83]</sup> und Whitney et al.<sup>[84]</sup> vorgestellt, allerdings ging das Aufbringen einer Schutzschicht experimentell immer mit einer verminderten Verstärkung einher, da der Abstand zwischen dem verstärkenden Partikel und dem Analytmolekül vergrößert wurde.

### 3.6. Die ertränkte Spitze: TERS in Flüssigkeiten

Die meisten TERS-Experimente wurden bisher auf festen Proben bei Atmosphärendruck durchgeführt,<sup>[26]</sup> einige auch im Ultrahochvakuum.<sup>[52,85–87]</sup> Bestimmte Proben, z.B. biologische, sind aber nur in Wasser oder Pufferlösungen stabil, und zur Untersuchung von chemischen Reaktionen oder Adsorptionsprozessen könnte es sogar interessant sein, in organischen Lösungsmitteln zu arbeiten. Bisher gibt es nur eine Proof-of-Principle-Studie, bei der TERS in Flüssigkeit durchgeführt wurde.<sup>[88]</sup> Die Studie deckte prinzipielle Schwierigkeiten von TERS-Messungen in Flüssigkeiten auf und erörterte Lösungsvorschläge. Beispielsweise muss die Beschichtung der Spitze robust genug sein, um sich in einer flüssigen Umgebung nicht abzulösen. Es wurde gezeigt, dass eine zweilagige Beschichtung von  $\text{SiO}_x$  ( $x = 1–2$ ) und Ag auf Siliciumnitrid-AFM-Sonden mechanisch ausreichend stabil für Experimente in Wasser ist.<sup>[88]</sup> Anders als Spitzenbeschichtungen für das Arbeiten in Flüssigkeiten sind Rückkopplungsmechanismen zur Kontrolle des Abstands zwischen Spitze und Probe in flüssigen Medien kommerziell erhältlich: Moderne AFM-Geräte sind oft für einen Einsatz in Lösungen ausgerüstet oder werden sogar mit einer geschlossenen Flüssigkeitskammer geliefert. Mit der obengenannten Ag- $\text{SiO}_x$ -beschichteten AFM-Spitze wurde eine selbstorganisierte Thiophenol-Monolage auf einem dünnen Au-Film in Wasser untersucht. Dabei zeigte sich, dass die Verunreinigung der Spitze bei der Durchführung von TERS-Experimenten in Lösungen ein signifikantes Problem darstellt. Analytmoleküle können an die Beschichtung der Spitze adsorbieren, welche wiederum selbst als SERS-Substrat wirkt. Schließlich können Adsorbate durch die Laseranregung zu kohlenstoffhaltigen Spezies zersetzt werden. Um dieses Problem zu lösen, muss die Spitzenoberfläche gegenüber Verunreinigungen geschützt werden. Selbstorganisierte Thiol-Monolagen sind bekannt dafür, Kohlenstoffverunreinigungen auf SERS-aktiven Ag-Oberflächen zu verdrängen<sup>[89]</sup> und wurden erfolgreich als Schutzschichten auf Ag-beschichteten AFM-Spitzen für TERS in Wasser eingesetzt.<sup>[88]</sup>

Die Durchführung eines TERS-Experiments in Wasser hat auch einen praktischen Vorteil: Es wurde experimentell nachgewiesen, dass das Eintauchen der TERS-Spitze in oder das Bedecken eines SERS-Substrats mit Wasser fluktuierende Kohlenstoffsignale signifikant reduziert.<sup>[88]</sup> Zu erwähnen ist schließlich, dass man bei der Durchführung eines TERS-Experiments in flüssiger Umgebung den Einfluss auf die Oberflächenplasmonenresonanzfrequenz der verstärkenden Spitze berücksichtigen muss. Wie in Abschnitt 2 erwähnt, verschiebt eine Erhöhung des Brechungsindex des Mediums, welches das verstärkende Metall umgibt, die Plasmonresonanz zu längeren Wellenlängen. Somit ist beim Eintauchen

einer TERS-Spitze in Wasser eine Rotverschiebung der Plasmonenresonanz der Spitzte zu erwarten.

### 3.7. Ein Bild sagt mehr als tausend Spektren: TERS-Bildgebung

Die spitzenverstärkte Raman-Bildgebung liefert spektroskopischen Kontrast, z.B. um die Verteilung organischer Moleküle auf einer Probenoberfläche zu visualisieren<sup>[90]</sup> oder um mechanische Spannungen auf einem anorganischen Kristallgitter<sup>[39]</sup> auf der Nanometerskala räumlich zu detektieren. TERS liefert im Wesentlichen dieselben spektroskopischen Informationen wie die konfokale Raman-Bildgebung, allerdings wird mithilfe der optischen Nahfeldsonde eine deutlich höhere räumliche Auflösung erreicht. Einige Einschränkungen kommen jedoch hinzu, die auf die Gegenwart der SPM-Sonde zurückzuführen sind: Weil das verstärkte elektromagnetische Feld am Apex mit steigendem Abstand zwischen Spalte und Probe rasch abnimmt (siehe Abschnitt 3.1), ist die spitzenverstärkte Raman-Bildgebung auf die oberste Schicht einer Probenoberfläche beschränkt. Da die Spalte üblicherweise in einer bestimmten Position relativ zum fokussierten Laserstrahl fixiert wird und man im Verlauf des Bildgebungsperiments nur die Probe bewegt, wird die maximale Abbildungsgröße und die Scangeschwindigkeit in einem TER-Experiment durch das Positionierungssystem des Probentischs bestimmt (typischerweise piezoelektrische Scanner).

Von der konfokalen Raman-Mikroskopie ist bekannt, dass wegen des inhärent niedrigen Raman-Querschnitts der meisten Probenmoleküle die Sammlung, der Transfer und die Detektion des Streulichts so effizient wie möglich erfolgen müssen, um kurze Aufnahmezeiten zu ermöglichen. Dasselbe gilt für die TERS-Bildgebung. Ein Aspekt, der zur Gesamteffizienz eines TERS-Bildgebungsperiments beiträgt, ist der verwendete Detektor. Da elektronenvervielfältigende CCD-Kameras mit der Fähigkeit zur Einzelphotonendetektion verfügbar sind, stellt eine ausreichende Detektorempfindlichkeit aber mittlerweile kein großes Problem mehr dar.

Jüngste TERS-Bildgebungsstudien mit vollständigen Spektren in jedem Bildpunkt demonstrierten, dass eine räumliche Auflösung von etwa 10 nm erreicht werden kann und Aufnahmezeiten von 50 ms/Pixel für starke Raman-Streuer<sup>[90,91]</sup> sowie 500 ms/Pixel für schwache Raman-Streuer möglich sind.<sup>[92,93]</sup> Diese Studien umfassten Abbildungen mit bis zu  $256 \times 256$  Pixel. Wird eine Pixelgröße von 5 nm verwendet (bewusst unterhalb der erwarteten räumlichen Auflösung von 10–20 nm gewählt), beträgt die größte mit 50 ms/Pixel innerhalb 1 h abtastbare Fläche  $1.34 \times 1.34 \mu\text{m}^2$ . Typische Werte für den thermischen Drift eines modernen Rasterkraftmikroskops liegen im Bereich von  $0.01–0.1 \text{ nm s}^{-1}$ ; entsprechend einem Gesamtdrift zwischen 36 und 360 nm während eines einstündigen Bildgebungsperiments. Ein direkter Vergleich dieser Werte mit der geschätzten maximalen Scanfläche von  $1.34 \times 1.34 \mu\text{m}^2$  zeigt unmittelbar, dass ein signifikanter Einfluss auf die resultierende Bildqualität aufgrund des thermischen Drifts zu erwarten ist. Darüber hinaus wird bei einem typischen Fokusdurchmesser des Anregungslasers im Bereich von 300–2000 nm (abhängig von der

Wellenlänge des Lasers und dem verwendeten Objektiv) die gesamte abgebildete Probenfläche während des gesamten Bildgebungsexperiments beleuchtet. Dies kann die mögliche Gesamtzeit der Aufnahme aufgrund von Photozerersetzung der Probenmoleküle einschränken.

Da die Intensität des Raman-Signals proportional zur Menge des Analyten im Messvolumen ist, sind quantitative Messungen mit TERS theoretisch möglich, werden aber durch die Einflüsse anderer Parameter auf die Signalintensität erschwert, z. B. durch Fluktuationen der Laserleistung und des TERS-Kontrastes im Verlauf der Messung (beispielsweise aufgrund von Instabilitäten im Abstand zwischen Spalte und Probe). Temporäre Änderungen in der AFM- oder STM-Rückkopplung haben Fluktuationen des TERS-Kontrastes zur Folge, die sich in TERS-Abbildungen als Linien höherer oder niedrigerer Verstärkung äußern, die parallel zur Scanrichtung der Spalte liegen und den von AFM und STM bekannten Artefakten ähneln. Ein Beispiel hierfür ist in Abschnitt 4.5 in den Abbildungen 7a und b zu sehen; hier ist zu erkennen, dass die Verstärkung einer Linie im unteren Teil deutlich höher ist als in dem oberen Teil der Abbildung. Eine einfache Methode, solche Artefakte zu korrigieren, wurde kürzlich aufgezeigt: Opilik et al. und Stadler et al.<sup>[92,94]</sup> verwendeten anstelle der absoluten Werte das Verhältnis zwischen zwei charakteristischen Markerbanden (zweier verschiedener Verbindungen), um die zugehörige Abbildung zu erhalten. Auf diese Weise war es möglich, eine einheitliche Verteilung zu erzielen (siehe Abbildung 7c).<sup>[94]</sup> Eine andere Möglichkeit ist die Verwendung eines internen Standards, der z. B. das Spitzenmaterial selbst (Ichimura et al. nutzten den Si-Peak ihrer Spalte als internen Standard)<sup>[95]</sup> oder eine zusätzliche Beschichtung (z. B. eine selbstorganisierte Thiol-Monolage) sein kann, deren Raman-Signalintensität verwendet wird, um Veränderungen in der Verstärkung und/oder der Laserleistung während des TERS-Experiments aufzuzeichnen. Bortchagovsky et al. und Schmid et al. wiesen unabhängig voneinander auf diese Möglichkeit hin,<sup>[88,96]</sup> deren Realisierung Bestandteil laufender Forschung ist.

#### 4. Anwendung der TERS-Bildgebung in den Material- und Biowissenschaften

##### 4.1. Nano in 1D: Nanoröhren und Nanodrähte

Die konventionelle Raman-Spektroskopie ist zur Charakterisierung von quasi-eindimensionalen Strukturen wie Kohlenstoffnanoröhren (carbon nanotubes, CNTs) weit verbreitet und bietet fundamentale Einblicke in deren optische und elektronische Eigenschaften.<sup>[97]</sup> Die optische Abbildung ihrer Eigenschaften auf der Nanometerskala ist aber wegen des Beugungslimits deutlich eingeschränkt. Um diese Einschränkung zu umgehen, hat sich die spitzenverstärkte Raman-Spektroskopie als wichtiges Werkzeug etabliert, und seit 2003 wurde TERS zur Erforschung eindimensionaler Strukturen eingesetzt, wobei nicht nur CNTs, sondern z. B. auch CdSe-Nanodrähte untersucht wurden. Die Arbeitsgruppen von Novotny,<sup>[40,44,98]</sup> Hartschuh,<sup>[45,99–103]</sup> Maultzsch,<sup>[104–106]</sup> Williams<sup>[107]</sup> und Kawata<sup>[11,108]</sup> lieferten wichtige

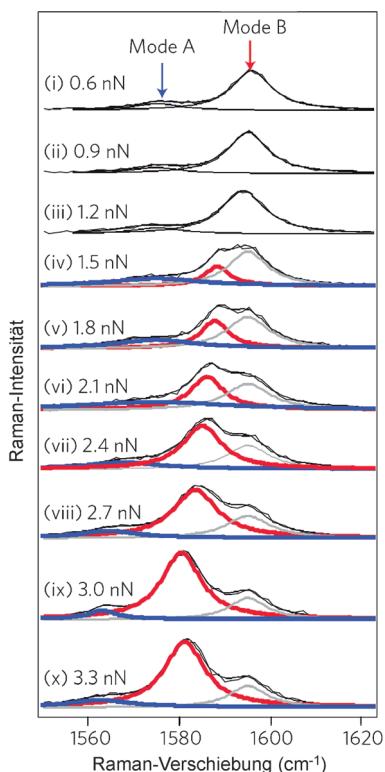
Beiträge auf diesem Gebiet. CNTs haben sich auch zu beliebten „Testproben“ für technische Neuerungen im Zusammenhang mit TERS entwickelt, wie z. B. in der Arbeit von Weber-Bargioni et al.<sup>[91]</sup> zum Testen neuer nanogefertigter koaxialer Antennenspitzen oder in der Arbeit von Roy et al.<sup>[107]</sup> mit radial polarisierten Laserstählen. Im Folgenden wollen wir zwei Anwendungen von TERS zur Untersuchung von CNTs hervorheben, die beispielhaft dafür sind, wie ausgereift die Technik bereits ist.

Peica et al. zeigten, dass TERS zur Lokalisierung individueller einwandiger CNTs in einem CNT-Bündel verwendet werden kann.<sup>[109]</sup> Sie untersuchten die Topographie und die TER-Spektren an verschiedenen Positionen entlang eines kleinen Bündels und beobachteten varierende Beiträge verschiedener radialer Atmungs-Moden (radial breathing modes, RBMs). Durch Korrelation dieser Änderungen und den Änderungen in der G<sup>−</sup>-Schwingung mit dem Höhenprofil des Bündels konnte ermittelt werden, welche Nanoröhre sich in welcher Position im Bündel befand. Dieses Beispiel veranschaulicht, wie mithilfe von TERS Informationen erlangt werden können, die mit anderen Methoden nicht zugänglich sind, weil entweder die chemische oder die topographische Information fehlen würde.

Yano et al. untersuchten die TER-Spektren von einwandigen Nanoröhren *in situ*, indem sie die an der Spalte angelegte Kraft erhöhten.<sup>[11]</sup> In zwei Studien erforschten sie eine halbleitende<sup>[11]</sup> bzw. eine metallische<sup>[110]</sup> Nanoröhre und konnten zeigen, dass mit steigendem Druck die G-Schwingung der Nanoröhre um bis zu 10 cm<sup>−1</sup> verschoben wird (Abbildung 4). Es wurde gefunden, dass die elektronischen Eigenschaften der Nanoröhre festlegen, ob sowohl der niedrige- als auch hochfrequente (halbleitend) Peak zur G-Bande beitragen oder nur die hochfrequente (metallisch) Mode, welche verschoben wird. Das unterschiedliche Verhalten hängt damit zusammen, dass die halbleitende Nanoröhre chiral ist und die Schwingungsrichtungen der entsprechenden Moden im Vergleich zu den metallischen Moden nicht rein zirkumferentiell sind. Ferner nutzten die Autoren die druckunterstützte TERS, um nachzuweisen, dass eine eindimensionale Bildgebung mit einer räumlichen Auflösung von etwa 4 nm möglich ist; dies folgt aus dem kleinen Kontaktbereich von druckausübender Spalte und Nanoröhre.

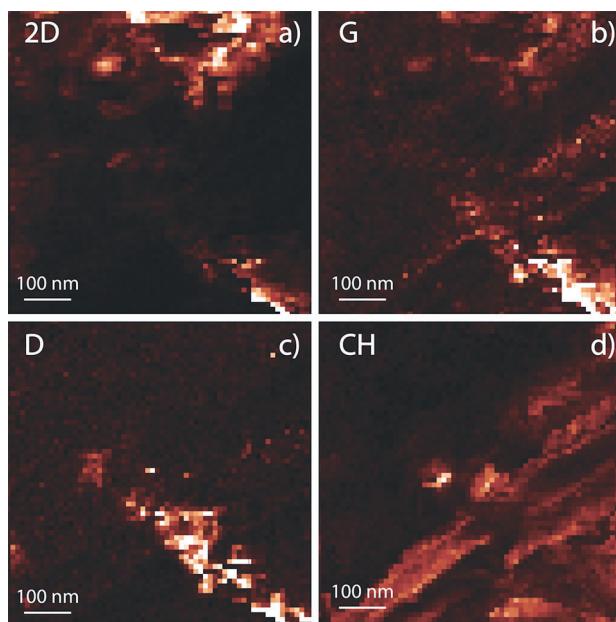
##### 4.2. Nano in 2D: Graphen

Die Arbeiten von Novoselov und Geim<sup>[111,112]</sup> (Physik-Nobelpreis 2010) über einlagiges Graphit (Graphen), das durch schichtweises Abziehen von Graphit mit Klebeband erhalten wird, ebnete den Weg zu vielfältigen Studien dieses einzigartigen Materials. Die Eigenschaften von Graphen stellen zahlreiche Anwendungen in Aussicht, z. B. in Feldeffekttransistoren, Speicherbausteinen, als transparente Elektroden oder als Lichtabsorber in der Photovoltaik.<sup>[113]</sup> Hinsichtlich dieser Anwendungen werden nanoanalytische Methoden benötigt, um Graphen bezüglich Größe, Form, elektronischen Eigenschaften und der Verteilung von Defekten und Verschmutzungen zu charakterisieren.



**Abbildung 4.** Raman-spektroskopische Erfassung der geringen lokalen Deformation einer einwandigen Nanoröhre beim Erhöhen der durch die Spitze anliegenden Kraft. Die TERS-Spektren einer einwandigen Nanoröhre im Bereich der G-Bande, einschließlich Schwingung A (blaue Kurven) und Schwingung B (rote Kurven), belegen die deutliche Kraft-abhängigkeit. (Abdruck mit Genehmigung von *Nature Photonics*, Lit. [11], Copyright 2009 by Macmillan Publishers Limited.)

Die intensivsten Banden in den Raman-Spektren von Graphit und Graphen sind die G-Bande bei  $1580\text{ cm}^{-1}$  und die 2D-Bande bei  $2700\text{ cm}^{-1}$ . Des Weiteren kann eine D-Bande bei  $1350\text{ cm}^{-1}$  auftreten, welche von Defekten verursacht wird.<sup>[114]</sup> Mittels eines TERS-Aufbaus mit invertiertem Mikroskop erhielten Hoffmann et al. 2008 das erste TERS-Spektrum, welches eine G-, D- und 2D-Bande von Graphen zeigt.<sup>[115]</sup> Kurz darauf verwendeten Domke et al.<sup>[116]</sup> STMTERS mit seitlicher Lichteinstrahlung zur Untersuchung von auf 6H-SiC gebildetem Graphen und fanden eine schwache Verstärkung für die SiC-Banden und eine noch schwächere Verstärkung für die Graphen-Banden. Sie erklärten diese Beobachtung durch die ineffektive Kopplung des parallel zur Spitze ausgerichteten Nahfeldes mit den Graphenmoden, die parallel zur Probenoberfläche und damit senkrecht zur Spitzennachse schwingen. Saito et al.<sup>[117]</sup> beschrieben einen TERS-Linienscan mittels Inversmikroskopkonfiguration an einem Stapel aus fünf Graphenschichten über Stufen bis hinab zu einer Einzelschicht. Sie beobachteten eine Abnahme der G-Banden Intensität sowie eine intensive D-Bande an Kanten und Defekten. Snitka et al.<sup>[55]</sup> präsentierten neuartige Gold-Kraftsensoren, die durch Abflächen von Gold-Mikrodrähten und elektrochemischem Ätzen von Nanospitzen erzeugt wurden, und erhielten damit verstärkte Raman-Spektren von



**Abbildung 5.** TERS-Bilder von Graphen auf Kupfer ( $64 \times 64$  Pixel,  $640 \times 640\text{ nm}^2$ ,  $0.25\text{ s/Spektrum}$ ). Hintergrund- und Verstärkungs-korrigierte Bandenintensitäten a) der 2D-Bande bei  $2634\text{ cm}^{-1}$ , b) der G-Bande von Graphen bei  $1580\text{ cm}^{-1}$ , c) der D-Bande bei  $1350\text{ cm}^{-1}$  und d) der CH-Streckschwingungen bei  $2800$ – $3000\text{ cm}^{-1}$ . Die TERS-Bilder zeigen die eindeutige Lokalisierung von Graphendefekten (c) und das komplementäre Verhalten der 2D- (a) und CH-Banden (d). (Abdruck aus Lit. [118].)

Graphen. Die Messungen ließen kraftabhängige Änderungen der 2D-Bande erkennen.

Die ersten 2D-TERS-Bilder von Graphen wurden 2011 von Stadler et al.<sup>[118]</sup> erhalten (Abbildung 5). Ein STM-TERS-Aufbau mit Strahleinfall von oben wurde zur Untersuchung zweier Arten von Graphen verwendet: einlagiges Graphen, das mittels Klebebandtechnik auf Gold aufgebracht wurde, und kommerziell erhältliches, durch chemische Gasphasenabscheidung (chemical vapor deposition, CVD) auf Kupfer abgeschiedenes Graphen, welches ohne weitere Probenbehandlung analysiert wurde. Die TERS-Bilder zeigen die Verteilung von Graphen und Graphendefekten mit einer lateralen Auflösung von  $< 12\text{ nm}$ . Ähnlich wie zuvor in der Arbeit von Domke et al. beschrieben,<sup>[116]</sup> werden die Schwingungen in der Ebene, wie z. B. die G-Bande, aufgrund ihrer Orientierung senkrecht zur Spitze nur schwach verstärkt. Dies hat den Vorteil, dass Defekte, Faltungen, Verunreinigungen und allgemein Abweichungen von der zweidimensionalen Struktur reinen Graphens mit hoher Spezifität und Empfindlichkeit gegen die „Hintergrund“-Signale des reinen Graphens detektiert werden können. Auf diese Weise konnten mit TERS auf CVD-Graphen Raman-Signale detektiert werden, die mit normaler konfokaler Raman-Spektroskopie nicht sichtbar gewesen wären und Wasserstoff-terminiertem Graphen oder Kohlenwasserstoffverunreinigungen zugeordnet werden konnten. TERS-Bilder mit bis zu  $100 \times 100$  Pixeln zeigen die Verteilung von Graphen, Defekten und H-terminierten/kontaminierten Flächen. Aufgrund

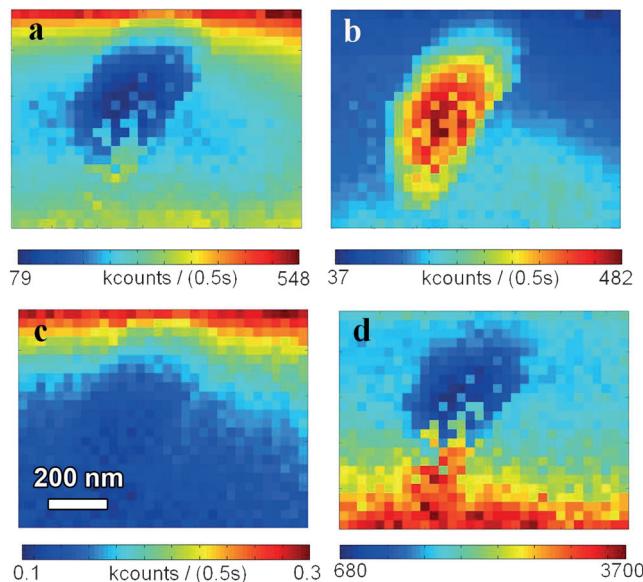
der großen Verstärkung (Kontrast von bis zu 80) konnten Abbildungen mit  $32 \times 32$  Pixeln innerhalb von nur 5 min aufgenommen werden.<sup>[118]</sup>

#### 4.3. Nanoheterogene Dünnsschichten: Materialien für Solarzellen

Die meisten der heute eingesetzten Photovoltaik(PV)-Elemente basieren auf Solarzellen aus kristallinem Silicium (c-Si), daneben wird aber auch verstärkt nach kostengünstigen Alternativen gesucht. Hauptaugenmerk gilt den Dünnsschicht-Solarzellabsorbern (mit Schichtdicken von einigen 100 nm bis wenigen  $\mu\text{m}$ ), die deutlich weniger Material benötigen als Bulk-Absorber, unter normalen atmosphärischen Bedingungen erzeugt werden können und den Umwandlungseffizienzen der c-Si-Zellen nahekommen. Die zwei wichtigsten Systeme sind Chalkopyrit-artige anorganische Materialien wie CuInS<sub>2</sub> (CIS), CuInSe<sub>2</sub> (CISE) und Cu-(In,Ga)Se<sub>2</sub> (CIGSe) sowie organische Photovoltaikmaterialien (OPVs), z.B. Polymermischungen aus Poly(3-hexylthiophen) (P3HT) und [6,6]-Phenyl-C<sub>61</sub>-Buttersäuremethylester (PCBM). Die Umwandlungseffizienz von CIGSe-Dünnsschichtsolazellen (Rekordwert 19.6%) kommt der Effizienz von c-Si-Zellen (25%) bereits relativ nahe.<sup>[119]</sup> Organische Solarzellen erreichten bisher Umwandlungseffizienzen von bis zu 10%<sup>[119]</sup> mit steigender Tendenz (Steigerung um Faktor 3 in den letzten 10 Jahren).<sup>[120]</sup> Herausforderungen für die chemische Analyse entstehen durch die Heterogenitäten auf der Mikro- und Nanometerkala in allen drei Raumrichtungen innerhalb der Dünnsschichtmaterialien.

In einer wegweisenden Studie verwendeten Klimov et al. 2006 eine Kombination aus konfokaler Raman- und SNOM-Analyse zur Untersuchung einer P3HT:PCBM-Probe.<sup>[121]</sup> 2009–2010 folgten Arbeiten von Zhang et al.,<sup>[122,123]</sup> die einen TERS-Aufbau mit Parabolspiegel für die chemische Bildgebung des gleichen Materials einsetzten. TERS und spitzenverstärkte Photolumineszenz (PL) sind ideale Untersuchungsmethoden für dieses Material, weil ihre räumliche Auflösung von  $\leq 9$  nm der Diffusionslänge der Excitonen in P3HT entspricht ( $8.5 \pm 0.7$  nm).<sup>[124]</sup> Die spitzenverstärkten Spektren eines P3HT:PCBM-Modellsystems zeigen eine Raman-Bande bei  $1450\text{ cm}^{-1}$ , die zu einer C=C-Streckschwingung von P3HT gehört, sowie eine PL-Emission von PCBM bzw. P3HT. AFM-Experimente offenbarten, dass die beiden Polymere nicht perfekt segregiert sind, was sich anhand der Bildung von Inseln mit Größen im oberen nm- oder unteren  $\mu\text{m}$ -Bereich erkennen ließ. P3HT war über den gesamten Dünnfilm verteilt – wenn auch sehr inhomogen –, und die Inseln wiesen größere Mengen an PCBM auf. Aus dem Verhältnis zwischen der P3HT-Photolumineszenz (die sowohl von der PL-Aktivität als auch der P3HT-Konzentration abhängt) und der Raman-Signalintensität (die von der P3HT-Konzentration abhängt) konnten die Autoren Rückschlüsse auf die Effizienz der lokalen PL-Lösung ziehen, die ein Maß für den Elektronentransport von den P3HT-Donoren zu den PCBM-Akzeptoren ist und in den PCBM-angereicherten Inseln besonders hoch war. TERS wurde ferner genutzt, um den Effekt unterschiedlicher Annealing-Zeiten auf die Mikro- und Nanostruktur dieser Modell-

polymerblends zu untersuchen (Abbildung 6).<sup>[123]</sup> Erst vor kurzem erforschten Zhang et al. 30 nm dünne Schichten des organischen Halbleiters Diindoperylen (DIP) ebenfalls mittels spitzenverstärkter PL-Emission und Raman-Streuung, was die generelle Anwendbarkeit dieser Methode auf organische Halbleiter/Photovoltaikmaterialien unterstreicht.<sup>[125]</sup>



**Abbildung 6.** a,b) Intensitätsverteilung der Photolumineszenz von P3HT (a) und PCBM (b) sowie c) TER-Intensität der  $\nu(\text{C}=\text{C})$ -Mode von P3HT auf einem P3HT:PCBM-Film. d) Effizienz der Photolumineszenzauslösung in P3HT im gleichen Scanbereich (pixelweise Verhältnis der Werte von (a) und (c)). Scanbereich:  $1\text{ }\mu\text{m} \times 0.75\text{ }\mu\text{m}$ ,  $32 \times 28$  Pixel. (Abdruck mit Genehmigung aus Lit. [123].)

Chalkopyrit-artige Dünnsschicht-Solarzellabsorber wie das CIS/CISE/CIGS/CIGSe-System bestehen aus Schichten, welche eine Dicke von mehreren  $\mu\text{m}$  haben können. Sie zeigen entlang der Tiefenachse Heterogenitäten wie Konzentrationsgradienten sowie mechanische Spannung und Dehnung, welche auf der Mikro- und Nanoskala untersucht wurden.<sup>[126]</sup> Gegenüber anderen auf diesem Gebiet eingesetzten Methoden, wie der Röntgenfluoreszenzanalyse (XRF), bietet die Raman-Spektroskopie den Vorteil, Informationen über die Stöchiometrie und Kristallstruktur von Materialien zu liefern, anstatt lediglich Informationen über die Elementzusammensetzung.<sup>[127]</sup> TERS-Messungen an Querschnitten dieser Materialien könnten daher interessante Informationen liefern. Aufgrund der Opazität der Materialien wären solche Messungen mittels Beleuchtung/Detektion von oben durchzuführen. Werkzeuge für die chemische Analyse von Dünnsschicht-Solarzellmaterialien auf der Mikro- und Nanometerskala werden definitiv benötigt, um einen rationalen Zusammenhang zwischen Herstellung/Verarbeitung, Mikro-/Nanostruktur und Solarzelleffizienz herzustellen. Das Potential von TERS zur Untersuchung einzelner Oberflächenzustände in anorganischen Halbleitern wie Nb-dotiertem Rutil ( $\text{TiO}_2$ ) wurde vor kurzem von Sevinc et al. demonstriert.<sup>[128]</sup>

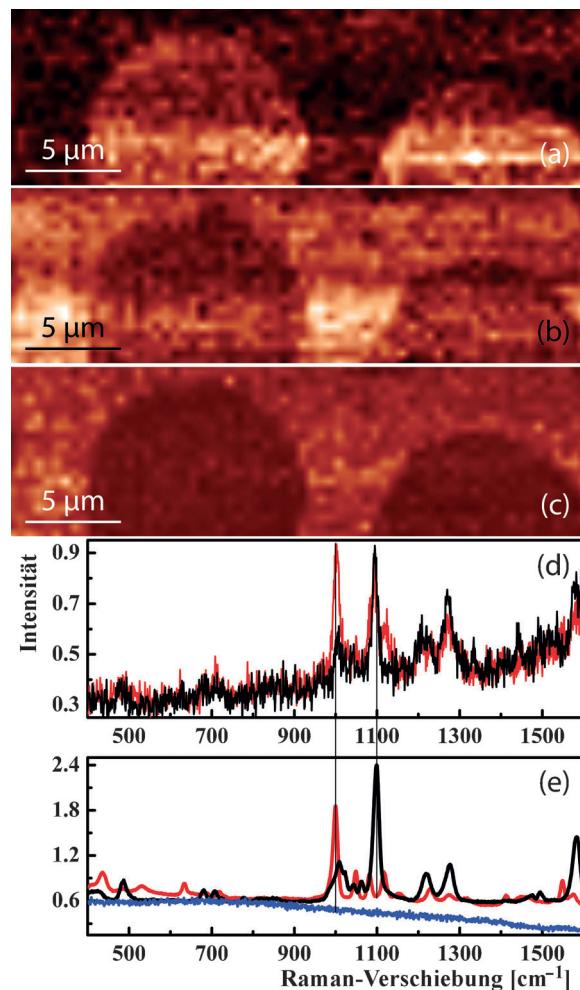
#### 4.4. Nur wenige Moleküle: strukturierte selbstorganisierte Thiol-Monolagen

Für manche Anwendungen z.B. in der Katalyse oder der Biologie ist die chemische Charakterisierung von Molekülen auf einer Oberfläche von entscheidender Bedeutung für das Verständnis ihrer Reaktivität und Funktion. Die geringe Menge an Molekülen erschwert ihre spektroskopische Charakterisierung jedoch.

Ein Beispiel für die Verwendung von TERS zur räumlichen Darstellung weniger Analytmoleküle (sogar sehr ähnlicher chemischer Strukturen) auf Oberflächen ist eine Arbeit von Stadler et al. über strukturierte Thiol-Monolagen (Abbildung 7).<sup>[94]</sup> Die Arbeit schloss an eine frühere Studie von Picardi et al. über die TERS-Bildgebung von Thiolen an, die darin den Einfluss der STM-Parameter und der Polarisation des einfallenden Laserstrahls auf das Signal einer Azobenzolthiol-Monolage untersuchten.<sup>[93]</sup> Stadler et al. druckten im Mikrokontaktverfahren Kreise aus 2-Mercaptopyridin (2-PySH) auf ein ultraflaches Goldsubstrat und füllten die Lücken zwischen den Kreisen, indem sie die Probe in eine Lösung aus isomerem 4-Mercaptopyridin (4-PySH) tauchten. Bei der Probencharakterisierung mit AFM (Topographie, Phasenkontrast) gelang es nicht, zwischen den verschiedenen Bereichen zu unterscheiden. Mittels konfokaler Raman-Spektroskopie wurden keinerlei Signale erhalten, weil es sich bei diesen Thiolen um schwache Raman-Streuer handelt und die Zahl der Moleküle im Laserfokus zu klein war. Mittels TERS-Bildgebung konnten jedoch die beiden Isomere detektiert und unterschieden werden. Stadler et al. verwendeten eine elektrochemisch geätzte Silberspitze in der Gap-Mode-Konfiguration und tasteten damit die Probe ab, wobei mit geringer Laserleistung (300 µW) und kurzer Aufnahmezeit (0.5 s) an jedem Pixel ein vollständiges Raman-Spektrum aufgenommen wurde. Bilder der Größe  $30 \times 10 \mu\text{m}^2$  zeigen die Intensitäten der Markerbanden der beiden isomeren Thiole (Abbildung 7a,b). Das komplementäre Muster der beiden Thiole (2-PySH in den Kreisen, 4-PySH in den Zwischenräumen) stimmt mit dem Muster des Mikrokontaktestempels überein, der zur Probenvorbereitung benutzt wurde. Das Experiment demonstriert eindrucksvoll die Leistungsfähigkeit von TERS, dessen Verstärkungseffekt und gewonnene spektroskopische Information in jedem Pixel zur vollständigen Charakterisierung dieser Probe nötig war. Die laterale Auflösung, die TERS erreichen kann, wurde hierbei nicht einmal vollständig ausgenutzt (Pixelgröße von 500 nm).

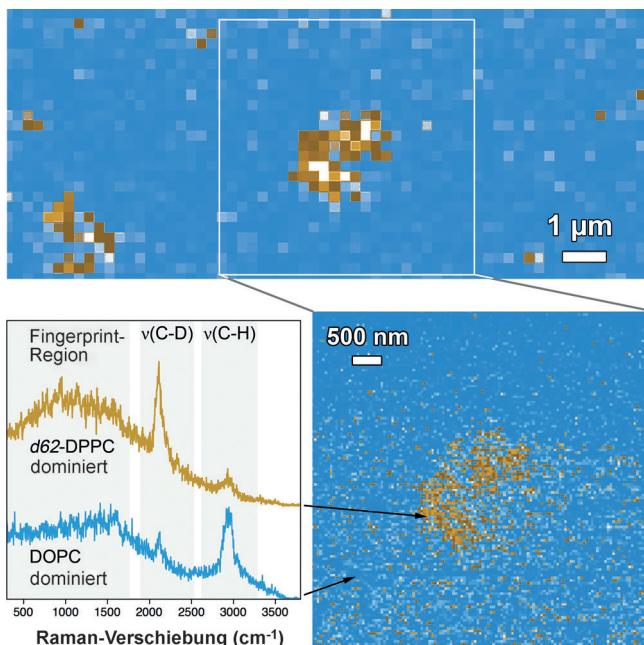
#### 4.5. „Rafting“ im Nanomaßstab: gemischte Lipidschichten

Die Anwendung der TERS-Bildgebung auf biologische Proben ist eine herausfordernde, aber auch sehr vielversprechende Aufgabe. Die Nanometer-Auflösung der TERS-Bildgebung in Kombination mit den Verstärkungseffekten ermöglicht die Abbildung auch schwach streuender kleiner Biomoleküle. Opilik et al. demonstrierten kürzlich die Anwendung von TERS zur Untersuchung von Lipiddomänen (Abbildung 8).<sup>[92]</sup> Diese Lipiddomänen, welche durch Phasenseparation der verschiedenen Lipide entstehen, gelten als



**Abbildung 7.** a–c) Spitzenverstärkte spektroskopische Abbildungen; Größe  $30 \times 10 \mu\text{m}^2$ . a) Intensität der 2-PySH-Markerbande bei  $1000 \text{ cm}^{-1}$ . b) Intensität der 4-PySH-Markerbande bei  $1100 \text{ cm}^{-1}$ . Die Abbildungen zeigen komplementäre Muster mit einer erhöhten Intensität des im Mikrokontaktverfahren gedruckten Thiols in den Kreisen und einer erhöhten Intensität des zum Ausfüllen der Lücken verwendeten Thiols in der Umgebung der Kreisflächen. c) Intensitätsverhältnis der beiden Markerbanden. d) TERS-Spektren (0.5 s) der gedruckten 2-PySH-Fläche (rot) und der mit 4-PySH bedeckten Fläche (schwarz). Geringe Rückstände an 4-PySH in der roten Kurve sind bei  $1100 \text{ cm}^{-1}$  zu sehen. e) SERS-Referenzspektren (120 s) von 2-PySH (rot), SERS-Spektrum (10 s) von 4-PySH (schwarz) und konfokales Hintergrundspektrum (60 s; blau) einer 2-PySH-Thiol-Monolage. (Abdruck aus Lit. [94].)

gute Modellsysteme zur Untersuchung der Kompartimentalisierung biologischer Membranen zu Lipid-Rafts. Opilik et al. verwendeten die Langmuir-Blodgett-Technik, um eine Monolage eines binären Gemisches aus gesättigten und ungesättigten Phospholipiden auf einem ultraflachen Goldsubstrat abzuscheiden. Um die laterale Verteilung der individuellen Komponenten in der Lipidmonolage zu analysieren, wurde Gap-Mode-STM-TERS mit einer elektrochemisch geätzten Silberspitze durchgeführt. Die dominanten C-H-Streckschwingungen im Raman-Spektrum (die häufig als Lipidmarkerbanden genutzt werden)<sup>[129]</sup> wurden verwendet, um die Verteilung der beiden Lipide zu visualisieren. Für eine



**Abbildung 8.** TERS-Bildgebung einer gemischten Lipidmonolage, die durch Langmuir-Blodgett-Technik auf Gold aufgetragen wurde. Die Darstellung des Bandenintensitätsverhältnisses zwischen  $\nu(\text{C}-\text{D})$  (Markerbande von d62-DPPC; Dipalmitoylphosphatidylcholin) und  $\nu(\text{C}-\text{H})$  lässt Domänen erkennen, in denen das gesättigte Lipid d62-DPPC dominiert; in den Bereichen um die Domänen dominiert das ungesättigte Lipid DOPC (Dioleoylphosphatidylcholin). (Abdruck aus Lit. [92].) Die Farbskala ist beliebig gewählt.

eindeutige spektroskopische Differenzierung wurde das gesättigte Lipid durch sein deuteriertes Äquivalent (d62) ersetzt. Die C-D-Schwingungen treten bei niedrigerer Wellenzahl auf und lassen sich von den C-H-Schwingungen des undeuterierten (ungesättigten) Lipids leicht unterscheiden. In einem ersten Schritt führten die Autoren einen TERS-Übersichtsscann von  $6 \times 15 \mu\text{m}^2$  zur Lokalisierung einer Lipiddomäne durch und bildeten dann diese Domäne in einer hochaufgelösten Abbildung von  $128 \times 128$  Pixeln ab (jeweils mit vollständiger spektraler Information in jedem Pixel). Die Schrittgröße war 47 nm, also deutlich unterhalb der optischen Beugungsgrenze. Die Messzeit betrug nur 0.5 s pro Pixel bei einer Laserleistung von lediglich 300  $\mu\text{W}$ . Zur Beseitigung von Bildartefakten wurde das Intensitätsverhältnis der beiden Markerbanden graphisch so dargestellt wie in Abschnitt 3.7 beschrieben. Die erhaltenen TERS-Abbildungen zeigen sehr schön die Phasensegregation der beiden Lipide zu Domänen, die mit dem gesättigten Lipid angereichert sind, das von der fluiden, vom ungesättigten Lipid dominierten Phase umgeben ist.

## 5. Zusammenfassung und Ausblick

In den letzten Jahren hat sich die spitzenverstärkte Raman-Spektroskopie zu einem leistungsstarken spektroskopischen Bildgebungsverfahren zur Visualisierung der obersten Schicht (im Allgemeinen die ersten 10–20 nm) mo-

derner Materialien und biologischer Systeme entwickelt. Die außergewöhnlich hohe räumliche Auflösung in Kombination mit vollständiger spektroskopischer Information macht TERS zu einem einzigartigen Werkzeug für die Betrachtung der Nanowelt. Allerdings steht das Verfahren noch einigen technischen Herausforderungen gegenüber, die mit der TERS-Spitze zusammenhängen und vor allem das Ausmaß und die Reproduzierbarkeit der Verstärkung, die räumliche Auflösung und die Lebensdauer der Spitze betreffen. Grundlegende Prinzipien des Verstärkungeffekts, die wichtig für die Verbesserung von TERS-Sonden sind, wurden in Abschnitt 2 diskutiert.

Der Einsatz von TERS für Bildgebungsexperimente erfordert die Lösung technischer Herausforderungen, die über die Optimierung der Spitzehinausgehen und in Abschnitt 3 diskutiert werden. Einige der wichtigsten Aspekte sind: 1) TERS-Sonden werden vom Endanwender nach jeweils individuellen Verfahren hergestellt, mit geringer Reproduzierbarkeit von Spitzehinausgehen zu Spitzehinausgehen. Ein direkter Vergleich der mit verschiedenen Sonden erhaltenen TERS-Ergebnisse ist nur dann möglich, wenn wichtige Kenngrößen wie Kontrast und laterale Auflösung angegeben werden. Methoden zur Bestimmung dieser Parameter werden in Abschnitt 3.2 vorgestellt. 2) Die Interpretation der TERS-Daten erfordert eine sorgfältige Bandenzuordnung ebenso wie die Identifizierung parasitärer Spektren, die von Verunreinigungen der Spitzehinausgehen stammen. Dies ist besonders schwierig bei biologischen Proben mit ihren stark heterogenen (und oftmals nur teilweise bekannten) Zusammensetzungen und ihrer hohen Empfindlichkeit gegenüber lichtinduzierter Veränderungen. Richtlinien für die Bandenzuordnung und die Identifizierung parasitärer Spektren werden in den Abschnitten 3.3 und 3.4 gegeben. Die Erstellung einer TERS/SERS/Raman-Datenbank wird in diesem Zusammenhang ein sehr nützliches Hilfsmittel sein, und erste Bemühungen in diese Richtung erfolgen bereits. 3) Die Aufnahmzeiten pro Pixel müssen so weit wie möglich reduziert werden, um Abbildungszeiten von mehreren Stunden sowie Bildverzerrungen aufgrund des intrinsischen Drifts der SPM zu vermeiden. Zu diesem Zweck werden stark verstärkende Spitzehinausgehen, hocheffiziente optische Systeme und CCD-Kameras benötigt (siehe Abschnitt 3.7). 4) Für vollautomatisierte TERS-Bildgebungsexperimente werden speziell angepasste Software und entsprechende Hardware-Integration von SPM- und Raman-Instrumenten benötigt. 5) Temporäre und/oder lokale Änderungen der Verstärkung im Verlauf eines Abbildungsexperiments führen zu Messartefakten; Strategien zur Entfernung solcher Artefakte werden in Abschnitt 3.7 diskutiert.

Ausgewählte Anwendungen der TERS-Bildgebung sind in Abschnitt 4 zusammengefasst. Sie unterstreichen das Potential dieses Verfahrens zur Charakterisierung von Nanomaterialien wie Nanoröhren, Nanodrähten und Graphen oder auch neuen Dünnschicht-Solarzellmaterialien. In einigen Fällen ist es nicht die hohe räumliche Auflösung, die TERS zu einem interessanten Werkzeug für die Oberflächenanalyse macht; die außerordentliche Verstärkung erlaubt die Identifizierung von nur wenigen Molekülen in selbstorganisierten Monolagen und die Abbildung ihrer Verteilung auf einer größeren Skala (siehe Abschnitt 4.4). Wie in Abschnitt 4.5 am

Beispiel einer gemischten Lipidschicht gezeigt, hat die TERS-Bildgebung das Potential, neue Einblicke in biologische Systeme auf der Nanometerskala zu gewinnen.

Wir kommen zum Schluss, dass die spitzenverstärkte Raman-Spektroskopie nur 12 Jahre nach ihrer erstmaligen Beschreibung in der Literatur erwachsen wird. Mehrere Unternehmen widmen sich intensiv der Konstruktion und möglichen Vermarktung von TERS-Systemen. In der SPM-Industrie wird TERS als wertschöpfende Ergänzung zur STM und AFM gesehen, deren Märkte bald stagnieren könnten. Die verheißungsvolle Perspektive von TERS ist die Möglichkeit der chemischen Identifizierung auf der Nanometerskala, was als das wesentliche Element für eine Anwendung in der Chemie, den Materialwissenschaften und der Biologie gesehen wird.

*Wir danken der Firma Bruker (Bruker Nano Surfaces Division) für die Zusammenarbeit und finanzielle Unterstützung, Johannes Stadler (ETH Zürich) für kritische Diskussionen und die Bereitstellung der Daten in Abbildung 3 sowie Dr. Dai Zhang (Universität Tübingen) für die Bereitstellung der Daten in Abbildung 6. C.B. dankt der Stiftung Stipendien-Fonds des Verbandes der chemischen Industrie e.V. (finanzielle Förderung) und der Studienstiftung des deutschen Volkes (ideelle Förderung) für Stipendien.*

Eingegangen am 18. Mai 2012,  
veränderte Fassung am 2. September 2012  
Online veröffentlicht am 22. April 2013

Übersetzt von Dr. Farina Schill, Göttingen

- [1] A. Engel, *Adv. Imaging Electron Phys.* **2009**, *159*, 357–386.
- [2] I. Medalsy, U. Hensen, D. J. Muller, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 12309–12314; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 12103–12108.
- [3] S. W. Hell, *Science* **2007**, *316*, 1153–1158.
- [4] S. Berning, K. I. Willig, H. Steffens, P. Dibaj, S. W. Hell, *Science* **2012**, *335*, 551.
- [5] J. C. Vaughan, X. Zhuang, *Nat. Biotechnol.* **2011**, *29*, 880–881.
- [6] G. T. Dempsey, J. C. Vaughan, K. H. Chen, M. Bates, X. Zhuang, *Nat. Methods* **2011**, *8*, 1027–1036.
- [7] R. M. Stöckle, Y. D. Suh, V. Deckert, R. Zenobi, *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *318*, 131–136.
- [8] N. Hayazawa, Y. Inouye, Z. Sekkat, S. Kawata, *Opt. Commun.* **2000**, *183*, 333–336.
- [9] M. S. Anderson, *Appl. Phys. Lett.* **2000**, *76*, 3130–3132.
- [10] B. Pettinger, G. Picardi, R. Schuster, *Electrochemistry* **2000**, *68*, 942–949.
- [11] T. Yano, P. Verma, Y. Saito, T. Ichimura, S. Kawata, *Nat. Photonics* **2009**, *3*, 473–477.
- [12] E. C. Le Ru, P. G. Etchegoin, *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy and Related Plasmonic Effects*, Elsevier, New York, **2009**.
- [13] E. H. Synge, *Philos. Mag.* **1928**, *6*, 356–362.
- [14] D. W. Pohl, W. Denk, M. Lanz, *Appl. Phys. Lett.* **1984**, *44*, 651–653.
- [15] A. Lewis, M. Isaacson, A. Harootunian, A. Muray, *Ultramicroscopy* **1984**, *13*, 227–231.
- [16] L. Neumann, Y. Pang, A. Houyou, M. L. Juan, R. Gordon, N. F. van Hulst, *Nano Lett.* **2011**, *11*, 355–360.
- [17] S. Berweger, J. M. Atkin, R. L. Olmon, M. B. Raschke, *J. Phys. Chem. Lett.* **2010**, *1*, 3427–3432.
- [18] F. Keilmann, R. Hillenbrand, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. A* **2004**, *362*, 787–806.
- [19] M. B. Raschke, C. Lienau, *Appl. Phys. Lett.* **2003**, *83*, 5089–5091.
- [20] F. De Angelis, G. Das, P. Candeloro, M. Patrini, M. Galli, A. Bek, M. Lazzarino, I. Maksymov, C. Liberale, L. C. Andreani, E. Di Fabrizio, *Nat. Nanotechnol.* **2010**, *5*, 67–72.
- [21] L. Novotny, B. Hecht, *Principles of Nano-Optics*, Cambridge University Press, Cambridge, **2006**.
- [22] P. Drude, *Ann. Phys.* **1900**, *306*, 566–613.
- [23] P. Drude, *Ann. Phys.* **1900**, *308*, 369–402.
- [24] E. D. Palik, *Handbook of Optical Constants of Solids III*, Academic Press, New York, **1998**.
- [25] C. F. Bohren, D. R. Huffman, *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*, Wiley, New York, **1983**.
- [26] J. Stadler, T. Schmid, R. Zenobi, *Nanoscale* **2012**, *4*, 1856–1870.
- [27] Z. Yang, Q. Li, Y. Fang, M. Sun, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 9131–9133.
- [28] A. Taguchi, N. Hayazawa, K. Furusawa, H. Ishitobi, S. Kawata, *J. Raman Spectrosc.* **2009**, *40*, 1324–1330.
- [29] B.-S. Yeo, T. Schmid, W. Zhang, R. Zenobi, *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, *387*, 2655–2662.
- [30] N. Hayazawa, T. Yano, S. Kawata, *J. Raman Spectrosc.* **2012**, *43*, 1177–1182.
- [31] M. Fleischer, A. Weber-Bargioni, M. V. P. Altoe, A. M. Schwartzberg, P. J. Schuck, S. Cabrini, D. P. Kern, *ACS Nano* **2011**, *5*, 2570–2579.
- [32] J. A. Schuller, E. S. Barnard, W. Cai, Y. C. Jun, J. S. White, M. L. Brongersma, *Nat. Mater.* **2010**, *9*, 193–204.
- [33] A. Ermushev, B. V. Mchedlishvili, V. Olešnikov, A. Petukhov, *Quantum Electron.* **1993**, *23*, 435–440.
- [34] R. Esteban, R. Vogelgesang, K. Kern, *Nanotechnology* **2006**, *17*, 475–482.
- [35] L. Novotny, N. van Hulst, *Nat. Photonics* **2011**, *5*, 83–90.
- [36] N. Marquestaut, D. Talaga, L. Servant, P. Yang, P. Pauzauskis, F. Lagugné-Labarthet, *J. Raman Spectrosc.* **2009**, *40*, 1441–1445.
- [37] Y. Ogawa, T. Toizumi, F. Minami, A. Baranov, *Phys. Rev. B* **2011**, *83*, 081302.
- [38] B. R. Wood, E. Bailo, M. A. Khiavi, L. Tilley, S. Deed, T. Deckert-Gaudig, D. McNaughton, V. Deckert, *Nano Lett.* **2011**, *11*, 1868–1873.
- [39] P. Hermann, M. Hecker, D. Chumakov, M. Weisheit, J. Rindernknecht, A. Shelaev, P. Dorozhkin, L. M. Eng, *Ultramicroscopy* **2011**, *111*, 1630–1635.
- [40] N. Anderson, A. Hartschuh, L. Novotny, *Nano Lett.* **2007**, *7*, 577–582.
- [41] C. Williams, D. Roy, *J. Vac. Sci. Technol. B* **2008**, *26*, 1761–1764.
- [42] S. Kharintsev, G. Hoffmann, P. Dorozhkin, J. Loos, *Nanotechnology* **2007**, *18*, 315502.
- [43] T.-A. Yano, T. Ichimura, A. Taguchi, N. Hayazawa, P. Verma, Y. Inouye, S. Kawata, *Appl. Phys. Lett.* **2007**, *91*, 121101.
- [44] L. G. Cançado, A. Jorio, A. Ismach, E. Joselevich, A. Hartschuh, L. Novotny, *Phys. Rev. Lett.* **2009**, *103*, 186101.
- [45] M. Böhmler, A. Hartschuh, *ChemPhysChem* **2012**, *13*, 927–929.
- [46] C. Neacsu, S. Berweger, M. B. Raschke, *Nanobiotechnology* **2007**, *3*, 172–196.
- [47] C. C. Neacsu, J. Dreyer, N. Behr, M. B. Raschke, *Phys. Rev. B* **2006**, *73*, 193406.
- [48] L. Novotny, S. J. Stranick, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2006**, *57*, 303–331.
- [49] B. Pettinger, K. F. Domke, D. Zhang, R. Schuster, G. Ertl, *Phys. Rev. B* **2007**, *76*, 113409.
- [50] R. M. Roth, N. C. Panoiu, M. M. Adams, R. M. Osgood, C. C. Neacsu, M. B. Raschke, *Opt. Express* **2006**, *14*, 2921–2931.
- [51] B. Pettinger, K. F. Domke, D. Zhang, G. Picardi, R. Schuster, *Surf. Sci.* **2009**, *603*, 1335–1341.

- [52] B. Pettinger, P. Schambach, C. J. Villagómez, N. Scott, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2012**, *63*, 379–399.
- [53] T. Schmid, B. S. Yeo, W. Zhang, R. Zenobi, *Tip Enhancement* (Hrsg.: S. Kawata, V. M. Shalaev), Elsevier, Amsterdam, **2007**.
- [54] C. A. Barrios, A. V. Malkovskiy, A. M. Kisliuk, A. P. Sokolov, M. D. Foster, *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 8158–8161.
- [55] V. Snitka, R. D. Rodrigues, V. Lendraitis, *Microelectron. Eng.* **2011**, *88*, 2759–2762.
- [56] D. Roy, J. Wang, C. Williams, *J. Appl. Phys.* **2009**, *105*, 013530.
- [57] C. Blum, T. Schmid, L. Opilik, S. Weidmann, S. R. Fagerer, R. Zenobi, *J. Raman Spectrosc.* **2012**, *43*, 1895–1904.
- [58] J. R. Lombardi, R. L. Birke, *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 5605–5617.
- [59] K. F. Domke, D. Zhang, B. Pettinger, *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 8611–8616.
- [60] X. Gao, J. P. Davies, M. J. Weaver, *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 6858–6864.
- [61] R. L. McCreery, *Raman Spectroscopy for Chemical Analysis*, Wiley, New York, **2000**.
- [62] J. D. Rodriguez, B. J. Westenberger, L. F. Buhse, J. F. Kauffman, *Analyst* **2011**, *136*, 4232–4240.
- [63] B.-S. Yeo, J. Stadler, T. Schmid, R. Zenobi, W. Zhang, *Chem. Phys. Lett.* **2009**, *472*, 1–13.
- [64] A. Kudelski, B. Pettinger, *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *321*, 356–362.
- [65] E. J. Bjerneld, F. Svedberg, P. Johansson, M. Käll, *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 4187–4193.
- [66] N. P. W. Pieczonka, R. F. Aroca, *ChemPhysChem* **2005**, *6*, 2473–2484.
- [67] P. J. Moyer, J. Schmidt, M. Lukas, A. J. Meixner, G. W. Sandmann, H. Dietz, W. Plieth, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5409–5410.
- [68] D. Richards, R. Milner, F. Huang, F. Festy, *J. Raman Spectrosc.* **2003**, *34*, 663–667.
- [69] J. Heritage, J. Bergman, A. Pinczuk, J. Worlock, *Chem. Phys. Lett.* **1979**, *67*, 229–232.
- [70] T. Itoh, V. Biju, M. Ishikawa, Y. Kikkawa, K. Hashimoto, A. Ikehata, Y. Ozaki, *J. Chem. Phys.* **2006**, *124*, 134708.
- [71] J. Jiang, K. Bosnick, M. Maillard, L. Brus, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 9964–9972.
- [72] S. Mahajan, R. M. Cole, J. D. Speed, S. H. Pelfrey, A. E. Russell, P. N. Bartlett, S. M. Barnett, J. J. Baumberg, *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 7242–7250.
- [73] Y. Maruyama, M. Futamata, *Chem. Phys. Lett.* **2005**, *412*, 65–70.
- [74] M. Moskovits, *J. Raman Spectrosc.* **2005**, *36*, 485–496.
- [75] A. Otto, J. Timper, T. Billmann, G. Kovacs, I. Pockrand, *Surf. Sci.* **1980**, *92*, L55–L57.
- [76] G. I. N. Waterhouse, G. A. Bowmaker, J. B. Metson, *Appl. Surf. Sci.* **2003**, *214*, 36–51.
- [77] M. Chaigneau, G. Picardi, R. Ossikovski, *Surf. Sci.* **2010**, *604*, 701–705.
- [78] B.-S. Yeo, E. Amstad, T. Schmid, J. Stadler, R. Zenobi, *Small* **2009**, *5*, 952–960.
- [79] W. Zhang, T. Schmid, B. S. Yeo, R. Zenobi, *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 2104–2108.
- [80] J. Tsang, J. Demuth, P. Sanda, J. Kirtley, *Chem. Phys. Lett.* **1980**, *76*, 54–57.
- [81] C. Barrios, A. Malkovskiy, R. Hartschuh, *Proc. SPIE* **2008**, *6954*, 69540C.
- [82] B.-S. Yeo, T. Schmid, W. Zhang, R. Zenobi, *Appl. Spectrosc.* **2008**, *62*, 708–713.
- [83] J. F. John, S. Mahurin, S. Dai, M. J. Sepaniak, *J. Raman Spectrosc.* **2010**, *41*, 4–11.
- [84] A. V. Whitney, J. W. Elam, P. C. Stair, R. P. Van Duyne, *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 16827–16832.
- [85] J. Steidtner, B. Pettinger, *Rev. Sci. Instrum.* **2007**, *78*, 103104.
- [86] N. Jiang, E. T. Foley, J. M. Klingsporn, M. D. Sonntag, N. A. Valley, J. A. Dieringer, T. Seideman, G. C. Schatz, M. C. Hersam, R. P. Van Duyne, *Nano Lett.* **2012**, *12*, 5061–5067.
- [87] J. Steidtner, B. Pettinger, *Phys. Rev. Lett.* **2008**, *100*, 236101.
- [88] T. Schmid, B.-S. Yeo, G. Leong, J. Stadler, R. Zenobi, *J. Raman Spectrosc.* **2009**, *40*, 1392–1399.
- [89] K. L. Norrod, K. L. Rowlen, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 4218–4221.
- [90] J. Stadler, T. Schmid, R. Zenobi, *Nano Lett.* **2010**, *10*, 4514–4520.
- [91] A. Weber-Bargioni, A. Schwartzberg, M. Cornaglia, A. Ismach, J. J. Urban, Y. Pang, R. Gordon, J. Bokor, M. B. Salmeron, D. F. Ogletree, S. Cabrini, P. J. Schuck, *Nano Lett.* **2011**, *11*, 1201–1207.
- [92] L. Opilik, T. Bauer, T. Schmid, J. Stadler, R. Zenobi, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 9978–9981.
- [93] G. Picardi, M. Chaigneau, R. Ossikovski, C. Licitra, G. Delapierre, *J. Raman Spectrosc.* **2009**, *40*, 1407–1412.
- [94] J. Stadler, T. Schmid, L. Opilik, P. Kuhn, P. S. Dittrich, R. Zenobi, *Beilstein J. Nanotechnol.* **2011**, *2*, 509–515.
- [95] T. Ichimura, H. Watanabe, Y. Morita, P. Verma, S. Kawata, Y. Inouye, *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 9460–9464.
- [96] E. G. Bortchagovsky, U. C. Fischer, *J. Raman Spectrosc.* **2009**, *40*, 1386–1391.
- [97] M. S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, R. Saito, A. Jorio, *Phys. Rep.* **2005**, *409*, 47–99.
- [98] A. Hartschuh, H. Qian, C. Georgi, M. Böhmler, L. Novotny, *Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, *394*, 1787–1795.
- [99] L. G. Cançado, A. Hartschuh, L. Novotny, *J. Raman Spectrosc.* **2009**, *40*, 1420–1426.
- [100] A. Hartschuh, E. J. Sánchez, X. S. Xie, L. Novotny, *Phys. Rev. Lett.* **2003**, *90*, 95503.
- [101] A. Hartschuh, N. Anderson, L. Novotny, *J. Microsc.* **2003**, *210*, 234–240.
- [102] C. Georgi, A. Hartschuh, *Appl. Phys. Lett.* **2010**, *97*, 143117.
- [103] M. Böhmler, Z. Wang, A. Myalitsin, A. Mews, A. Hartschuh, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 11740–11742; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 11536–11538.
- [104] N. Peica, S. Röhrig, A. Rüdiger, K. Brose, C. Thomsen, J. Maultzsch, *Phys. Status Solidi B* **2009**, *246*, 2708–2712.
- [105] K. Goß, N. Peica, C. Thomsen, J. Maultzsch, C. M. Schneider, C. Meyer, *Phys. Status Solidi B* **2011**, *248*, 2577–2580.
- [106] N. Peica, C. Thomsen, J. Maultzsch, *Phys. Status Solidi B* **2010**, *247*, 2818–2822.
- [107] D. Roy, C. Williams, *J. Vac. Sci. Technol. A* **2010**, *28*, 472–475.
- [108] A. Tarun, N. Hayazawa, T. A. Yano, S. Kawata, *J. Raman Spectrosc.* **2011**, *42*, 992–997.
- [109] N. Peica, C. Thomsen, J. Maultzsch, *Nanoscale Res. Lett.* **2011**, *6*, 174.
- [110] T.-A. Yano, Y. Inouye, S. Kawata, *Nano Lett.* **2006**, *6*, 1269–1273.
- [111] K. S. Novoselov, *Science* **2004**, *306*, 666–669.
- [112] K. S. Novoselov, D. Jiang, F. Schedin, T. J. Booth, V. V. Khotkevich, S. V. Morozov, A. K. Geim, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 10451–10453.
- [113] X. Huang, Z. Yin, S. Wu, X. Qi, Q. He, Q. Zhang, *Small* **2011**, *7*, 1876–1902.
- [114] A. Ferrari, J. Meyer, V. Scardaci, C. Casiraghi, M. Lazzeri, F. Mauri, S. Pisacane, D. Jiang, K. Novoselov, S. Roth, *Phys. Rev. Lett.* **2006**, *97*, 187401.
- [115] G. G. Hoffmann, J. Loos, *Macromol. Symp.* **2008**, *265*, 1–11.
- [116] K. F. Domke, B. Pettinger, *J. Raman Spectrosc.* **2009**, *40*, 1427–1433.
- [117] Y. Saito, P. Verma, K. Masui, Y. Inouye, S. Kawata, *J. Raman Spectrosc.* **2009**, *40*, 1434–1440.
- [118] J. Stadler, T. Schmid, R. Zenobi, *ACS Nano* **2011**, *5*, 8442–8448.
- [119] M. A. Green, K. Emery, Y. Hishikawa, W. Warta, E. D. Dunlop, *Prog. Photovoltaics Res. Appl.* **2012**, *20*, 12–20.

- [120] P. G. Nicholson, F. A. Castro, *Nanotechnology* **2010**, *21*, 492001.
- [121] E. Klimov, W. Li, X. Yang, G. Hoffmann, J. Loos, *Macromolecules* **2006**, *39*, 4493–4496.
- [122] D. Zhang, X. Wang, K. Braun, H. J. Egelhaaf, M. Fleischer, L. Hennemann, H. Hintz, C. Stanciu, C. J. Brabec, D. P. Kern, *J. Raman Spectrosc.* **2009**, *40*, 1371–1376.
- [123] X. Wang, D. Zhang, K. Braun, H. J. Egelhaaf, C. J. Brabec, A. J. Meixner, *Adv. Funct. Mater.* **2010**, *20*, 492–499.
- [124] P. E. Shaw, A. Ruseckas, I. D. W. Samuel, *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 3516–3520.
- [125] D. Zhang, U. Heinemeyer, C. Stanciu, M. Sackrow, K. Braun, L. E. Hennemann, X. Wang, R. Scholz, F. Schreiber, A. J. Meixner, *Phys. Rev. Lett.* **2010**, *104*, 056601.
- [126] D. Abou-Ras, R. Caballero, C. H. Fischer, C. A. Kaufmann, I. Lauermann, R. Mainz, H. Möning, A. Schöpke, C. Stephan, C. Streeck et al., *Microsc. Microanal.* **2011**, *17*, 728–751.
- [127] T. Schmid, C. Camus, S. Lehmann, D. Abou-Ras, C. H. Fischer, M. C. Lux-Steiner, R. Zenobi, *Phys. Status Solidi A* **2009**, *206*, 1013–1016.
- [128] P. C. Sevinc, X. Wang, Y. Wang, D. Zhang, A. J. Meixner, H. P. Lu, *Nano Lett.* **2011**, *11*, 1490–1494.
- [129] C. W. Freudiger, W. Min, B. G. Saar, S. Lu, G. R. Holtom, C. He, J. C. Tsai, J. X. Kang, X. S. Xie, *Science* **2008**, *322*, 1857–1861.