

## **Grenzenlos scharf: Mikroskopieren und Lithographieren mit Quantenchemie**

Im Jahr 2014 verlieh die Königlich Schwedische Akademie der Wissenschaften den Nobelpreis für Chemie an Eric Betzig, Stefan Hell und William Moerner für ihre Leistungen im Bereich der höchstauflösenden optischen Fluoreszenzmikroskopie.<sup>1</sup> Ein Nobelpreis für Chemie auf dem Gebiet der Mikroskopie? Wie passt das zusammen? Ein gewisses Staunen ging durch die Fachwelt. Zwar kam ein Nobelpreis auf diesem Gebiet nicht ganz unerwartet, aber nachdem die optische Mikroskopie doch eigentlich der Optik, also der Physik zuzurechnen ist, ging man allenthalben von einem Nobelpreis für Physik aus, eventuell noch von einem Nobelpreis für Physiologie und Medizin, da die hauptsächlichen Anwendungen der höchstauflösenden Fluoreszenzmikroskopie in der Physiologie, Zellbiologie und der Medizin liegen. Aber Chemie? Im Folgenden will ich versuchen, ein wenig die Hintergründe dafür zu schildern, weshalb auf den zweiten Blick der Nobelpreis für Chemie gar nicht so überraschend ist, lag der Schlüssel zur Überwindung des klassischen

Beugungslimits der Auflösung in der Mikroskopie doch bei der quantenchemischen molekularen Dynamik von Farbstoffmolekülen. Mehr noch, in neueren Arbeiten wird dasselbe Prinzip, das erstmalig zur Überwindung des Beugungslimits in der optischen Mikroskopie geführt hat, heute auch dafür verwendet, photochemische Reaktionen lokal auf Volumina einzugrenzen, deren Abmessungen nur noch ein Zehntel der Wellenlänge des Lichts betragen. Damit wird auch in der dreidimensionalen Photolithographie das Beugungslimit gebrochen.

### **Das Problem, das keines (mehr) ist**

Lassen Sie uns zunächst einen Blick zurückwerfen auf den Stand des Wissens, wie er in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts formuliert worden war und wie er, wider besseres Wissen, das durch die Quantenmechanik seit 1930 zur Verfügung steht, für rund 120 Jahre Gültigkeit behalten sollte. Bereits 1869 argumentierte Emile Verdet, dass die Auflösung eines Mikroskops aufgrund der Beugung limitiert sei durch die Wellenlänge des verwendeten Lichts und den Öffnungswinkel für das einfallende Licht.<sup>2</sup> Er bezog sich dabei auf Erkenntnisse über die Auflösung von Teleskopen, die laut John Herschel erstmalig von dessen Vater Friedrich Wilhelm Herschel formuliert worden waren, nämlich dass die Auflösung eines Teleskops umso besser sei, je größer dessen Apertur sei.<sup>3</sup> John Herschel beschreibt auch das bei der Abbildung eines Punkts durch ein Teleskop auftretende Beugungsscheibchen,<sup>4</sup> das später von Airy berechnet worden ist<sup>5</sup> und seither als Airyscheibe bezeichnet wird. Zwei dicht beieinanderliegende Sterne müssen, um mit einem Teleskop aufgelöst werden zu können, mindestens so weit voneinander entfernt sein, dass das Maximum der Airyscheibe des einen Sterns mit dem ersten Minimum der Airyscheibe des anderen zusammenfällt. Laut Airy, Verdet und Lord Rayleigh war dieser Zusammenhang anderen Wissenschaftlern wie Fraunhofer und M. Foucault auch bereits bekannt. Verdet hat nun diese für Teleskope längst

bekannte Tatsache auf Mikroskope übertragen.<sup>2</sup> Ganz ähnlich argumentierten später auch Helmholtz<sup>6</sup> und Lord Rayleigh.<sup>7-8</sup>

Unabhängig davon widmete sich auch Ernst Abbe in enger Zusammenarbeit mit Carl Zeiss diesem Thema. Heute würde man vermutlich sagen, dass die Firma Carl Zeiss Jena einen Industrie-Forschungsauftrag an eine Universität vergeben hat. Dessen Gegenstand war, die ultimativen theoretischen Grenzen zu bestimmen, die, trotz bester Optik und Feinmechanik, die Auflösung in der Mikroskopie limitieren. Die Firma Carl Zeiss war damals bereits führend in der Herstellung von Mikroskopen und dennoch oder gerade deshalb bestand die Vermutung, dass die Auflösung nicht, wie durch die geometrische Optik suggeriert, bis ins unendliche gesteigert werden könne. Es mag ein wenig Wohlwollen gegenüber dem Auftraggeber mit im Spiel gewesen sein, aber ganz Unrecht hatte Abbe sicher nicht, als er über die Zeiss'sche Werkstatt schrieb:<sup>9</sup>

*„... denn die Kleinheit der Dimensionen, welche zumal bei den stärkeren Objectiven unvermeidlich ist, lässt die Schwierigkeiten ihrer Herstellung nach exacten Maassen als ausserordentlich gross ansehen. Nichtsdestoweniger hat sich mir dieses Bedenken als unzutreffend herausgestellt, nachdem ich nähere Kenntniss erlangt hatte über die Einrichtungen und die technischen Verfahrungsweisen, die in einer wohlgeleiteten optischen Werkstatt bei der Construction der Mikroskope in Anwendung kommen.“*

Das heißt, die Probleme waren nicht in Unzulänglichkeiten bei der Fertigung zu suchen, sondern waren von fundamentalerer Art. Jedenfalls, so im Einleitungskapitel, reichen die „*geometrisch definirbaren Verhältnisse des Strahlengangs*“ für eine vollständige Beschreibung nicht aus. Nichtsdestotrotz scheint die theoretische Betrachtung der klassischen „*dioptrischen Bedingungen der Leistungen des Mikroskops*“ der eigentliche Gegenstand des Forschungsauftrags gewesen zu sein, den Abbe dann auch pflichtbewusst auf 22 Seiten ausbreitet, ehe er zum entscheidenden Kapitel „*Die physikalischen Bedingungen für die Ab-*

*bildung feiner Strukturen*“ kommt. Empirisch, so schreibt er, sei es eine seit langem anerkannte Tatsache, dass die „*Vollkommenheit der Bilder ... durch die Grösse des Oeffnungswinkels bedingt seien*“. Die Gründe hierfür seien aber nicht bekannt gewesen. Zunächst vergleicht Abbe empirisch eine ganze Reihe von Objektiven und erkennt, dass die Vergrößerung für die Auflösung unerheblich ist, der Öffnungswinkel hingegen die zentrale Rolle spielt. Er schließt, dass die Limitierungen im Beugung verursachenden Gegenstand selbst liegen müssen. Er erkennt, dass, je kleiner die Strukturen in einem Objekt sind, die gebeugten, wie er sich ausdrückt „*Lichtbüschel*“ zunehmend weiter von der optischen Achse weggebogen werden, und dass diese Beugung proportional zur Wellenlänge des verwendeten Lichts ist. Er erkennt, dass in der hinteren Fokalebene des Objektivs (heute würde man sagen in der Fourier-Ebene) diese Beugungsbüschel ein scharfes, beobachtbares Bild ergeben, wobei der Büschelabstand umso größer ist, je größer die Wellenlänge und je kleiner die typische Strukturgröße des Objekts sind. Abbe beschreibt nun, wie er, beinahe spielerisch, einige dieser Büschel im Tubus des Mikroskops ausblendet und bemerkt, dass darunter die Auflösung leidet. Damit war klar: die Beugungsordnungen, nicht aber der Zentralstrahl („*ungebeugter Lichtkegel*“) enthalten die Information über die Geometrie eines beobachteten Gegenstands. Die Minimalforderung ist, dass mindestens die erste Beugungsordnung den Tubus des Mikroskops zu passieren hat. Oder im Original<sup>9</sup> auf Seite 477:

*„Durch kein Mikroskop können Theile getrennt (oder die Merkmale einer real vorhandenen Structur wahrgenommen) werden, wenn dieselben einander so nahe stehen, dass auch der erste durch Beugung erzeugte Lichtbüschel nicht mehr gleichzeitig mit dem ungebeugten Lichtkegel in das Objektiv eintreten kann.“*

Unmittelbar nach dieser fundamentalen Erkenntnis formuliert Abbe dann seine berühmte Formel als Prosa-Text, so wie über-

haupt in der gesamten Abhandlung interessanterweise keine einzige Formel benutzt wird, sondern alle mathematischen Zusammenhänge ausformuliert werden. Konkret liest man bei Abbe:

*„Irgend eine bestimmte Farbe zu Grunde gelegt, ergibt sich der betreffende Minimalwerth für rein centrale Beleuchtung durch Division der Wellenlänge mit dem Sinus des halben Oeffnungswinkels, für den höchsten zulässigen Grad schiefer Beleuchtung aber bei jedem Oeffnungswinkel genau halb so gross – sonst gleiche Umstände vorausgesetzt. – Da nun auch beim Immersionssystem der Oeffnungswinkel durch kein Mittel erheblich über diejenige Grösse, die 180° in Luft entsprechen würde, hinausgeführt werden kann, so folgt, dass, wie auch das Mikroskop in Bezug auf die förderliche Vergrösserung noch weiter vervollkommen werden möchte, die Unterscheidungsgrenze für centrale Beleuchtung doch niemals über den Betrag der ganzen, und für äusserst schiefe Beleuchtung niemals über den der halben Wellenlänge des blauen Lichts um ein Nennenswerthes hinausgehen wird.“*

Wesentlich geläufiger ist uns heutzutage natürlich die mathematische Formulierung in Form einer Gleichung:

$$d = \frac{\lambda}{2n \sin \alpha} = \frac{\lambda}{2NA} \quad (1)$$

wobei  $d$  den minimal gerade noch aufzulösenden Abstand zweier ansonsten ununterscheidbarer Punkte darstellt und  $\lambda$  die Wellenlänge des verwendeten Lichtes ist.  $\alpha$  ist der halbe Öffnungswinkel des Objektivs und  $n$  der Brechungsindex, den Abbe ebenfalls erwähnt. Der Faktor 2 im Nenner tritt nach Abbe „für den höchsten zulässigen Grad schiefer Beleuchtung“ auf. Damit meint er folgendes: Falls parallel zur optischen Achse beleuchtet wird, so müssen, neben dem ungebeugten Strahl, noch mindestens die +1. und die -1. Beugungsordnung das Mikroskop passieren. Da beide aber dieselbe Information enthalten, kann man auch so schief beleuchten, dass neben dem Hauptmaxi-

mum nur noch eine der beiden, sagen wir die +1. Beugungsordnung, hindurchgeht. Dadurch gewinnt man den Faktor 2 im Nenner. Das Produkt aus Brechungsindex  $n$  und dem Sinus des halben Öffnungswinkels wird gemeinhin auch als Numerische Apertur  $NA$  abgekürzt.

Abbe schließt seinen Aufsatz mit einem Kommentar, der ex post im Zusammenhang mit dem Nobelpreis für Chemie 2014 sehr aktuell erscheint. Er schreibt:

*„Die eigentliche Capacität des Mikroskops im strengeren Sinne aber muss ich – so lange nicht Momente geltend gemacht werden, die ganz ausserhalb der Tragweite der aufgestellten Theorie liegen – schon bei der oben bezeichneten früheren Grenze als vollständig erschöpft ansehen ...“*

Interessant ist vor allem der Einschub, mit dem Abbe die Gültigkeit seiner Schlussfolgerungen auf die Gültigkeit der zum damaligen Zeitpunkt bekannten theoretischen Grundsätze der klassischen Wellenlehre einschränkt. Dieser als Einschub formulierte Vorbehalt sollte von der Nachwelt jedoch gründlich ignoriert werden. Stattdessen ging die Formulierung „vollständig erschöpft“ in das Allgemeinwissen der Physik über. Das Abbesche Auflösungskriterium wurde nicht mehr hinterfragt, auch dann nicht, als etwa 50 Jahre später im Zuge der neu aufkommenden Quantentheorie bis Ende der 20er Jahre eigentlich alle Information verfügbar war, um zu widerlegen, dass die Beugung die Auflösung eines Mikroskops kategorisch begrenze. Dazu kam es dann erst rund 65 weitere Jahre später, im Jahr 1994, doch alles der Reihe nach.

## **Beugungsunlimitierte Nahfeldoptik**

Alle oben genannten Autoren des 19. Jahrhunderts beziehen sich in ihren Schriften ganz eindeutig und ausschließlich auf sich ausbreitende Wellen, oder in der damaligen Sprache, auf die „Undulationstheorie“. Damit ist a priori klar, dass sich das

resultierende Beugungslimit nach Gleichung (1) auch nur auf die sogenannte Fernfeldoptik beziehen kann. Davon zu unterscheiden ist die Nahfeldoptik, bei der die sogenannten evaneszenten Wellen eine Rolle spielen, also Wellen, die wenigstens in einer Raumrichtung exponentiell gedämpft sind. Damit wird die Komponente des Wellenvektors in dieser Richtung, nennen wir sie die  $z$ -Richtung im kartesischen Raum, imaginär, also  $ik_z$  mit  $k_z \in \mathbb{R}$ . Man erkennt nun sofort, dass damit die beiden lateralen Komponenten über das für propagierende Wellen existierende Limit  $\omega/c$  hinaus wachsen können:

$$\frac{\omega}{c} = \sqrt{k_x^2 + k_y^2 - k_z^2} \quad (2)$$

Die damit erreichbaren  $k_{x,y} > \omega/c$  führen nun dazu, dass im Ortsraum Details sichtbar werden, die, fouriertransformiert, laterale Raumfrequenzen jenseits von  $\omega/c$  besitzen, oder aber Details mit Abmessungen kleiner als  $\lambda/2\pi$ . Aus Gleichung (2) ist auch unmittelbar ersichtlich, dass die Auflösung in lateraler Richtung umso größer wird, je größer die Dämpfung des Feldes in der  $z$ -Richtung ausfällt – das große Dilemma der Nahfeldoptik. Diese ist intrinsisch auf die unmittelbare Oberfläche einer Probe beschränkt. Hierbei stellt sich die Frage: wie nahe ist „Nah“? Dies kann nur in Einheiten der dem Problem immanenten Größe angegeben werden, also in Einheiten der Wellenlänge. Um eine effiziente Auflösungserhöhung zu erhalten, muss man sich mindestens im Bereich von einem Zehntel der Wellenlänge bewegen. Die Schwierigkeit der technischen Umsetzung skaliert also invers mit der Wellenlänge.

Jeder von uns hat schon einmal ein Nahfeldexperiment selber durchgeführt, indem er das Antennenkabel des Radios (oder des Fernsehers) in die Antennenbuchse in der Wand eingesteckt hat. Trifft man die richtige Buchse, hat man Empfang, liegt man nur einen Zentimeter daneben, hat man keinen Empfang. Die Wellenlängen des UKW Rundfunks betragen rund 5 Meter. Bei einem halben Zentimeter Buchsenradius bemisst sich die Orts-

auflösung also auf  $\lambda/1000$ . Auch im Bereich der mechanischen Wellen ist eine Auflösung weit unterhalb der Wellenlänge schon lange bekannt. Ärzte und Hebammen bestimmen mit ihren Stethoskopen die Lage von Lunge, Herz und Fötus auf 5 cm genau, obwohl sie Schallwellen von bis zu 10 m Wellenlänge abhören. Dies war mit Sicherheit auch Verdet, Abbé, Helmholtz und Lord Rayleigh bekannt.

Die Problematik in der Optik ist schlicht die Kürze der Wellenlänge, im sichtbaren Bereich zwischen 400 und 800 Nanometer, und die damit verbundene technische Schwierigkeit, kontrolliert auf wenige 10 nm Abstand an das Objekt heranzukommen. E. A. Syngé hat 1928 postuliert, dass durch ein Loch in einem Metallfilm mit einem Durchmesser im sub-Wellenlängenbereich auch mit sichtbarem Licht Strukturen mit Abmessungen kleiner als die der Wellenlänge auflösbar sein sollten.<sup>10</sup> Realisiert wurde ein Nahfeldmikroskop für elektromagnetische Wellen im Zentimeterbereich dann im Jahr 1972 durch E. A. Ash und G. Nichols.<sup>11</sup> Diese zeigten bereits eine Auflösung unterhalb eines Millimeters, konkret  $\lambda/60$ . Im Bereich der Optik blieb ein Nahfeldmikroskop aber lange Zeit jenseits der technischen Möglichkeiten. Da das Feld senkrecht zur Probe exponentiell abfällt, muss der Abstand sehr exakt eingehalten werden, ansonsten handelt man sich exponentielle Schwankungen in der Güte der Auflösung ein. Mit einem Wort: Es bedurfte erst der Erfindung von Rastersondenmikroskopen, bei denen eine Abtastspitze mit Hilfe von piezoelektrischen Kristallen mit Ångström-Genauigkeit über einer Probe positioniert werden kann. Das erste derartige Mikroskop, das Rastertunnelmikroskop, haben Binnig und Rohrer 1981 publiziert<sup>12</sup> und dafür 1986 den Nobelpreis für Physik erhalten. Unter Zuhilfenahme dieser Technologie konnten dann zwei Gruppen unabhängig voneinander das optische Raster-Nahfeldmikroskop realisieren. Dies waren bei IBM in Rüschlikon bei Zürich Pohl, Denk und Lanz<sup>13</sup> und in den USA eine Gruppe an der Cornell Universität.<sup>14-15</sup> Ein Jahr später konnte auch U. Ch. Fischer von einer optischen Nahfeld-



auflösung berichten, allerdings hat er es in der Tat vollbracht, der ursprünglichen Idee von Syngé folgend, durch sub-wellenlängengroße Löcher in einem Metallfilm hindurch abzubilden.<sup>16</sup> Bei der Gruppe an der Cornell Universität ist zu erwähnen, dass dieser auch Eric Betzig angehörte, der ein weiterer Laureat des Nobelpreises für Chemie 2014 ist. Allerdings hat Betzig, darauf weist das Nobel-Komitee ausdrücklich hin,<sup>1</sup> den Preis nicht für seine Leistungen in der Nahfeldmikroskopie sondern für diejenigen in der höchstauflösenden Fernfeldmikroskopie erhalten, wie weiter unten noch erläutert werden wird.

Aus der Schweizer Gruppe wird von Dieter Pohl noch eine aufschlussreiche Anekdote überliefert.<sup>17</sup> Er berichtet:

*„Wie tief das Abbe-Limit auch 1985 noch in den Köpfen der Mikroskopiker verwurzelt war, musste ich bei einem Vortrag bei der Tagung der Deutschen Gesellschaft für angewandte Optik (DGaO) erfahren. Ich stieß auf blanke Ablehnung, als ich Transmissions-Aufnahmen mit 20 nm kleinen Details zeigte. Ein in Würde ergrauter Optiker brachte es auf den Punkt: ‚Junger Mann, Haben Sie noch nie etwas von der Abbeschen Grenze gehört?!‘ Sagte es und begann mit seinem Nachbarn ein lautes Gespräch ...“*

Diese Begebenheit zeigt eindrücklich, dass das sogenannte Abbe-Limit als dogmatisch betrachtet wurde und jegliche kritische Reflexion darüber zu unterbleiben hatte. Im Kontext der Nahfeldoptik ist das besonders abwegig, da ja, siehe oben, die Arbeit von Abbe niemals für das Nahfeld gedacht war und in der Akustik und im Radiowellenlängenbereich die Nahfeldauflösung trivial ist. Aber sobald das Adjektiv „optisch“ ins Spiel kommt, erntete man vehementen Widerstand. Auf ein weiteres Detail sei in diesem Zusammenhang noch hingewiesen. Der Titel der Originalarbeit zur Nahfeldoptik lautet *„Optical stethoscopy: Image recording with resolution  $\lambda/20$ “*.<sup>13</sup> Damit betonen die Autoren um Dieter Pohl sehr anschaulich die Parallele zu der in der Medizin seit langem bekannten Anwendung der Nahfeldakustik.

## Quantenmechanik und Quantenchemie

Das vermeintliche Problem, dass man in einem Fernfeldmikroskop nicht genauer abbilden könne, als es die Beugung gestattet, blieb also trotz der Erfolge der Nahfeldmikroskopie aufrecht, zumal diese auf Oberflächen beschränkt ist und somit insbesondere die dreidimensionale optische Abbildung von lebenden Zellen nicht gestattet. Letztere stellt aber eine wichtige Anwendung der optischen Mikroskopie im Bereich der Lebenswissenschaften dar. Dort wird überwiegend auf die Fluoreszenz-Fernfeldmikroskopie zurückgegriffen. Grund genug, sich über die Interaktion von Licht mit Farbstoffmolekülen (oder irgendeiner anderen absorbierenden und fluoreszierenden Spezies wie zum Beispiel Atomen, Farbzentren in Festkörpern oder kolloidalen Halbleiterquantenpunkten) auseinanderzusetzen. Und in der Tat steckt gerade hierin der Schlüssel, mit dem es gelungen ist, die Auflösung eines optischen Mikroskops von der Lichtbeugung zu entkoppeln. Interessanterweise wurden alle dafür notwendigen theoretischen Ansätze bereits in den 20er Jahren des 20. Jahrhunderts entwickelt, wie gleich kurz skizziert werden wird. Das Beugungslimit hatte sich aber derart in das kollektive Gedächtnis der Naturwissenschaftler und Ingenieure eingebrannt, dass jahrzehntelang niemand auf die Idee kam zu fragen, ob man mit den damals neuen Ansätzen der Quantenmechanik und Quantenchemie, die Verdet, Abbe und Rayleigh ja noch nicht kennen konnten, das Beugungslimit unterlaufen könne.

Zunächst hatte Niels Bohr im Jahre 1913 bereits im ersten Teil der berühmten Trilogie „*On the Constitution of Atoms and Molecules*“ seine Postulate eingeführt, mit deren Hilfe die Serien der Spektrallinien des Wasserstoffatoms erklärt werden konnten.<sup>18</sup> Drei Jahre später hat Albert Einstein postuliert, dass es, wenn sich im Planckschen Sinne Strahlung und Materie im thermischen Gleichgewicht befinden, neben der Absorption und der spontanen Emission auch zwingend eine stimulierte Emission geben müsse.<sup>19</sup> Dabei stellte sich heraus, dass der für