

INAUGURAL – DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Naturwissenschaftlich – Mathematischen
Gesamtfakultät
der Ruprecht – Karls – Universität
Heidelberg

vorgelegt von
Diplom Physiker Florian Staier
aus Göttingen
Tag der mündlichen Prüfung: 24. Juni 2009

**Entwicklung, Bau und Test einer
UHV Röntgenstreuammer
für die digitale In-Line Holographie**

**Gutachter: Prof. Dr. Michael Grunze
Prof. Dr. Dr. Christoph Cremer**

Entwicklung, Bau und Test einer UHV Röntgenstreuammer für die digitale In-Line Holographie

Digitale In-Line Holographie ist ein linsenloses Verfahren, bei dem ein Pinhole aus einer kohärenten Lichtquelle eine Kugelwelle generiert, die von der zu untersuchenden Probe teilweise gestreut wird. Diese gestreuten Photonen interferieren dann auf einem digitalen CCD-Detektor mit der ursprünglichen Kugelwelle. Die Rekonstruktion dieser Interferenzmuster erfolgt mittels Kirchhoff-Helmholtz-Transformation.

Dieses Verfahren kann nicht nur mit sichtbarem Licht, sondern auch mit Photonen in UV- und VUV-Bereich angewendet werden. Biologisch besonders interessant ist in diesem Bereich das Wasserfenster bei Wellenlängen von 2,3 nm bis 4,4 nm.

In dieser Arbeit wurde eine Ultrahochvakuum Streukammer entwickelt, um mit Synchrotronstrahlung solche Messungen durchführen zu können. Dabei wurde ein thermisch stabilisierter optischer Tisch im Vakuum realisiert, auf dem sich 13 motorisierte Achsen befinden, um Pinhole, Probe und Kamera gegeneinander zu verfahren. Zusätzlich ist die tomographische Aufnahme von Proben möglich.

Erste Ergebnisse demonstrieren die Leistungsfähigkeit der neuen Apparatur an verschiedenen Strahlungsquellen wie BESSY und FLASH mit unterschiedlichen biologischen Proben. Es konnte nicht nur gezeigt werden, dass Strahlenschäden momentan nicht der limitierende Faktor der Holographie sind, sondern es wurde auch die bislang höchste Auflösung mit digitaler In-Line Holographie erreicht, und erstmals materialspezifischer Kontrast in Zellkernen gezeigt. Außerdem wurden mit der neuen Apparatur erste Tomographieexperimente durchgeführt und Proben mit Kohärenter Röntgenstreuung aufgenommen.

Design, construction and test of a UHV X-ray scattering chamber for digital in-line holography

Digital in-line holography is a lensless imaging technique where a pinhole generates a spherical wave from a coherent light source, which is partly scattered by a sample. These scattered photons interfere with the original spherical reference wave on a digital CCD-detector. The reconstruction of this interference pattern is done by a Kirchhoff-Helmholtz transformation.

This technique can not only be used with visible light, but also with photons in the UV- and VUV-range. Especially for biological samples the water window at a wavelength between 2,3 nm and 4,4 nm is very interesting.

In this thesis a ultra-high vacuum scattering chamber was developed to run such measurements with synchrotron radiation. Therefore a thermal stabilized optical table inside a vacuum chamber was realized. This carries 13 motorized axes to move pinhole, sample and camera. Additionally a tomography stage was implemented.

First results show the performance of the new device at different light sources like BESSY and FLASH with several biological samples. It was not only shown that radiation damage is not a limiting factor for holography, but also the so far highest resolution for digital in-line holography was achieved and material specific contrast in a cell nucleus was shown for the first time. Additionally first tomographic experiments were done with the new setup and samples were imaged with coherent x-ray scattering.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	V
1 Einleitung	1
2 Grundlagen	4
2.1 Vakuumtechnik	4
2.1.1 Saugleistung und Leitwert	5
2.1.2 Ausgasraten und erreichbare Drücke	6
2.2 Strahlungsquellen	7
2.2.1 Synchrotronstrahlung	8
2.2.2 BESSY Beamline UE52SGM	10
2.2.3 Freie Elektronen Laser	11
2.2.4 Wechselwirkung von Röntgenstrahlung mit Materie .	12
2.2.5 Auflösungsbegrenzung durch Strahlenschäden . . .	14
2.3 Bildgebende Verfahren	15
2.3.1 Mikroskopie	15
2.3.2 Röntgenmikroskopie	18
2.3.3 Kohärente Röntgenstreuung	20
2.4 Holographie	22
2.4.1 In-Line Geometrie	23
2.4.2 Rekonstruktion	24
2.4.3 Auflösung	25
2.4.4 Pinholes	26
2.4.5 Röntgenholographie	27
2.4.6 Holographieaufbau bei BESSY	29
2.4.7 Materialspezifischer Kontrast	30
2.4.8 Streukammern	30
3 Aufbau	33
3.1 Planung	34
3.2 Kryotransfersystem	36

3.2.1	Plunge Freezer	36
3.2.2	Transferhalter	37
3.3	Experimentierkammer	39
3.3.1	Motorisierte Verfahrtsche	39
3.3.2	Shutter und Kamera	41
3.3.3	Steuersoftware	43
3.4	Vakuumtechnik	46
3.4.1	Anforderungen an das Vakuumsystem	47
3.4.2	Ausgasraten und Pumpleistungen	47
3.4.3	Verwendeter Aufbau	50
3.4.4	Steuerung der Vakuumkomponenten	51
3.5	Differentielles Pumpstück	53
3.5.1	Kapillarverjüngung	54
3.5.2	Spiegel und Phosphor - die Justage	55
3.5.3	Laser	56
3.6	Gestell	56
3.6.1	Transport	57
3.6.2	Justage an der Beamline	58
4	Messungen	61
4.1	Experimente bei BESSY (HZB)	61
4.1.1	Drift und deren Korrektur	61
4.1.2	Energiespektren	64
4.1.3	Auflösungsbestimmung bei Diatomeen	67
4.1.4	Materialkontrast bei Fibroblasten	71
4.1.5	Nucleoli in Lungenkrebs Zellen	74
4.1.6	Chromosomen	76
4.1.7	Tomographie	78
4.2	Strahlenschäden	82
4.3	Experimente bei FLASH (DESY)	86
4.3.1	Strahl und Kohärenzstabilität bei FLASH	86
4.3.2	Holographie Experimente	87
4.3.3	CXDI und Fourier Holographie Experimente	89
4.4	Zonenplatten	92
5	Zusammenfassung und Ausblick	96
A	Technische Zeichnungen	99
B	Software	106

C Schaltpläne	112
Literaturverzeichnis	121
Publizierte Teile dieser Arbeit	127
Danksagung	129

Abbildungsverzeichnis

2.1	Foto der BESSY Experimentierhalle	8
2.2	Brillanz der verschiedenen Synchrotronstrahlungsquellen	9
2.3	Schematische Zeichnung der Beamline UE52 bei BESSY	10
2.4	Schematische Zeichnung der Beamlines PG0 und PG2 bei FLASH	11
2.5	Absorptionslänge verschiedener Elemente	12
2.6	Strukturzerstörende Dosis und Rose Kriterium	14
2.7	Grundprinzip des Strahlengangs im Mikroskop	15
2.8	Grundprinzip der Auflösung eines Mikroskops	16
2.9	Schema einer Zonenplatte	18
2.10	Schema eines Rastertransmissionsröntgenmikroskops	19
2.11	Beispiel für Kohärente Streuung	20
2.12	Grundprinzip der Holographie	22
2.13	Grundprinzip der In-Line Holographie	23
2.14	Hologramm eines Diatomees in In-Line Geometrie	24
2.15	REM Bild eines Pinholes	26
2.16	VUV Holographie	28
2.17	Testaufbau mit der Alice Kammer	29
2.18	Materialspezifischer Kontrast	31
2.19	Materialspezifische Korrelationsmikroskopie	32
3.1	Foto der HORST-Apparatur	33
3.2	CAD Zeichnung der Verstelleinheiten	34
3.3	CAD Zeichnung der Vakuumkammer	35
3.4	Foto des Plungefreezers	37
3.5	CAD Zeichnung des Kryotransfersystems	38
3.6	Foto der Experimentierkammer	40
3.7	CAD Zeichnung und Foto des Probenhalters	41
3.8	Foto des Pinholehalters und des Kamerahalters	42
3.9	Foto des Pinhole- und Probenhalters	43
3.10	Foto der Kamera	44
3.11	Steuerfenster für die Verfahrtscheibe	45

3.12	Positionsspeicher für die Verfahrtsche	46
3.13	Druckanstiegskurven in der großen Testkammer	48
3.14	Druckanstiegskurven in der kleinen Testkammer	49
3.15	Aufbau des Vakuumsystems	50
3.16	Steuereinheit des Vakuumsystems	52
3.17	Foto des differentiellen Pumpstückes	53
3.18	Foto der Kapillarapertur zur Gasdurchflussverringernng	54
3.19	Foto von Phosphor und Spiegel	55
3.20	CAD Zeichnung des Gestelles	57
3.21	Foto der vertikalen Justageeinheiten	58
3.22	Foto der horizontalen Verstellung	59
3.23	HORST bei BESSY und FLASH	60
4.1	Driftmessung	62
4.2	Temperaturkurven	63
4.3	Energiespektren	64
4.4	Bildausschnitte des Energiediagrammes	65
4.5	Intensitäts- und Transmissionsdiagramme bei verschiedenen Energien	66
4.6	Diatomeen Rekonstruktion	68
4.7	Diatomeen Auflösung	69
4.8	Intensitätsprofile des Diatoms	70
4.9	Fibroblasten	71
4.10	Fibroblastenzellkern	72
4.11	Materialkontrast im Fibroblastenzellkern	73
4.12	Lungenkrebs 1	74
4.13	Lungenkrebs 2	75
4.14	Chromosom	76
4.15	Auflösungsbestimmung Chromosom	77
4.16	Tomographie 1	79
4.17	Tomographie 2	80
4.18	Tomographie 3	81
4.19	Strahlenschäden	82
4.20	Strahlenschäden bei der Tomographie	83
4.21	Vergrößerung der Strahlenschäden bei der Tomographie	84
4.22	Kohärenz bei FLASH	86
4.23	Holographie von Diatomeen bei FLASH	87
4.24	Holographie von Fibroblasten bei FLASH	88
4.25	CXDI bei FLASH	89
4.26	CXDI- und Holographieaufbau	90
4.27	Fourier Holographie	91

4.28	Skizze der Zonenplattenexperimente	92
4.29	OSA 500 μm hinter dem Brennpunkt der Zonenplatte	93
4.30	OSA im Brennpunkt der Zonenplatte	94
4.31	OSA 500 μm vor dem Brennpunkt der Zonenplatte	95
A.1	CAD Zeichnung der Experimentierkammer (Rückseite)	99
A.2	CAD Zeichnung der Experimentierkammer (Tür)	100
A.3	CAD Zeichnung des differentiellen Pumpstückes	101
A.4	CAD Zeichnung des Spiegelhalters	102
A.5	CAD Zeichnung des Spiegelhalterarmes	103
A.6	CAD Zeichnung des äußeren Transportgestelles	104
A.7	CAD Zeichnung des inneren Transportgestelles	105
B.1	Hauptfenster der Überwachungssoftware	106
B.2	Softwareinitialisierungsroutinen	107
B.3	Hauptschleife der Überwachungssoftware	108
B.4	Bedienfeld der Drucküberwachung	109
B.5	Schaltplan des Bedienfeldes	110
B.6	Plot der Druck und Temperaturentwicklung	111
C.1	Stromversorgung des Controllers	113
C.2	Steuerung der Scroll-Pumpen	114
C.3	Steuerung der Vorvakuumventile 1 bis 3	115
C.4	Steuerung der Vorvakuumventile 4 bis 6	116
C.5	Steuerung der Turbomolekularpumpen 1 und 2	117
C.6	Steuerung der Turbomolekularpumpe 3	118
C.7	Steuerung der Ultrahochvakuumventile 1 und 2	119
C.8	Steuerung der Ultrahochvakuumventile 3 und 4	120

Kapitel 1

Einleitung

Der Wunsch der Naturwissenschaftler und Mediziner immer kleinere Strukturen beobachten zu können hat zur Entwicklung der verschiedensten bildgebenden Techniken und Verfahren geführt. Nachdem zunächst die Lupe zur Beobachtung kleiner Strukturen verwendet wurde, konnte die Vergrößerung durch den Einsatz von Linsensystemen weiter verbessert werden. Dies führte zur Entwicklung des ersten Mikroskops.

Seit dem wurden Mikroskope kontinuierlich weiterentwickelt, um immer kleinere Strukturen besser auflösen zu können. Dazu gehören nicht nur verbesserte Optiken sondern zum Beispiel auch die Entwicklung der Phasenkontrastmikroskopie durch [Zernike]. Auch die Eigenschaft einiger Farbstoffe sich an spezifische Moleküle anzulagern wird zur Erkennung bestimmter Strukturen, besonders bei biologischen Proben verwendet. So erscheinen zum Beispiel mit einer Färbung nach [Giemsa] Zellkerne rötlich und das Zytoplasma blau.

Die Entwicklung der Fluoreszenzmikroskopie und später der konfokalen Mikroskopie führte zu einer deutlichen Verbesserung der Auflösung sowie zur Erforschung weiterer spezifisch bindender Fluorophore bis hin zur Färbung einzelner Sequenzen der DNS durch Fluoreszenz *in-situ*-Hybridisierung. Auch die Beleuchtung und Detektion des emittierten Lichtes der Fluoreszenzfarbstoffe wurde kontinuierlich weiterentwickelt, zum Beispiel durch ein System mit zwei Objektiven [Cremer78] [Hell]. Heute kann mit Lichtmikroskopie eine Auflösung im Bereich von einigen zehn Nanometern erzielt werden, die Lokalisationsgenauigkeit für einzelne Moleküle liegt noch deutlich darunter [Albrecht].

Die Holographie wurde 1948 erstmals durch [Gabor] als Möglichkeit, Abbildungsfehler des Elektronenmikroskopes zu umgehen, beschrieben. Nach der Entwicklung der ersten Laser standen ausreichend starke, kohärente Lichtquellen zur Verfügung, um dieses vollständig linsenlose Verfahren auch

zur Bildaufnahme mit sichtbarem Licht einzusetzen.

Dabei sind grundsätzlich zwei verschiedene Geometrien möglich: Off-Axis- und In-Line-Holographie. Bei der Off-Axis Holographie wird der Strahl durch einen Strahlteiler aufgeteilt. Mit einem Teil wird die Probe beleuchtet, und das von ihr gestreute Licht mit einem Detektor aufgefangen. Mit dem anderen Teil des Strahles wird der Detektor, auf dem dann aus beiden Strahlen ein für die dreidimensionale Struktur der Probe charakteristisches Interferenzmuster entsteht, direkt beleuchtet [Leith]. Bei der von Gabor ursprünglich vorgeschlagenen In-Line Geometrie werden durch ein Pinhole kohärente Kugelwellen erzeugt, die an einer teilweise transparenten Probe gestreut werden. Auf dem Detektor interferiert dann der gestreute Teil der Kugelwelle mit dem ungestreuten Referenzstrahl, der die Probe durchdringt. Hier liegen alle Komponenten (Pinhole, Probe und Detektor) auf einer Linie (In-Line).

Holographie im optischen Bereich wird heute vielseitig eingesetzt. So dienen Hologramme nicht nur als Echtheitsnachweis bei Kreditkarten und Geldscheinen, sondern gerade die Möglichkeit dreidimensionale Strukturen direkt abbilden zu können wird wissenschaftlich vielfältig verwendet. So können zum Beispiel Mikroorganismen wie Algen dreidimensional lokalisiert oder sogar vierdimensional verfolgt werden [Kreuzer01] [Heydt].

Da die Holographie ein linsenloses Verfahren ist, bietet sich ihre Anwendung im Bereich der Röntgenstrahlen an, da hier der Einsatz herkömmlicher Linsen aufgrund des geringen Brechungsindex transparenter Werkstoffe nicht möglich ist. Zudem können mit den deutlich kleineren Wellenlängen der Röntgenstrahlung theoretisch auch sehr viel kleinere Objekte aufgelöst werden. Praktisch ist hier jedoch hauptsächlich die Größe des Pinholes entscheidend [Barth08].

Ein weiterer Vorteil der Röntgenholographie ist die Möglichkeit auf Farbstoffe verzichten zu können, und statt dessen materialspezifischen Kontrast zu verwenden. Gerade im Bereich sehr hoch aufgelöster Mikroskopie stellt sterische Aberration ein Problem dar, das auf diese Weise vermieden werden kann. Bei ersten Vorexperimenten dieser Arbeit konnte materialspezifischer Kontrast bereits gezeigt werden [Rosenhahn08].

Biologisch besonders interessant ist der Bereich des Wasserfensters bei einer Wellenlänge von 2,3 nm bis 4,4 nm bzw. einer Photonenenergie von 530 eV bis 280 eV, in der die Photonen von Wasser nicht signifikant absorbiert werden. In diesem Wellenlängenbereich werden die Photonen jedoch von größeren Luftschichten absorbiert, so dass die Experimente im Vakuum durchgeführt werden müssen.

Kohärente Strahlquellen mit ausreichender Brillianz sind in diesem Wellenlängenbereich in Form von Synchrotron-Strahlquellen aus Elektronen-

speicherringen wie zum Beispiel BESSY, und dem Freie Elektronen Laser (FLASH) bei DESY vorhanden.

Ziel dieser Arbeit war es eine Vakuumkammer zu planen und zu bauen, mit der holographische Experimente mit Synchrotronstrahlung durchgeführt werden können. Dabei mussten nicht nur die speziellen Anforderungen der Experimente, wie sehr genaue Positionierbarkeit bei weiten Fahrwegen der einzelnen Komponenten gegeneinander sowie geringe Vibrationen der einzelnen Komponenten berücksichtigt werden, sondern auch der Umstand, das sich das gesamte Experiment im Vakuum befinden muß. Außerdem sollte die gesamte Apparatur transportabel sein und den Sicherheitsvorschriften und Vakuumrichtlinien an den verschiedenen Strahlquellen genügen.

Die Planung des Aufbaus wurde vollständig am Computer mit Hilfe von 3D-CAD Software durchgeführt. Auf diese Weise konnten beim späteren Aufbau mögliche Kollisionen zwischen einzelnen Komponenten vermieden werden, und die Planung weiterer Komponenten wird deutlich vereinfacht. Nach der Planung wurden die benötigten Komponenten beschafft und deren Vakuumtauglichkeit überprüft. Schließlich wurde das gesamte System aufgebaut und im Labor getestet.

Erste Messungen mit der neuen Apparatur wurden erfolgreich am Speicherring BESSY des Helmholtz-Zentrums Berlin für Materialien und Energie GmbH durchgeführt. Dabei wurden fossile Diatomeen, Fibroblasten und Lungenkrebszellen mit der bislang höchsten durch digitale In-Line Holographie erreichten Auflösung aufgenommen, materialspezifische Kontraste im Zellkern, sowie die erfolgreiche Anwendung der Tomographie gezeigt. Außerdem wurden erste Experimente mit Zonenplatten durchgeführt und Untersuchungen zu den durch die Aufnahme verursachten Strahlenschäden angestellt.

Am Freie Elektronen Laser FLASH bei DESY wurden erstmals Bilder mit einem Holographieaufbau aufgenommen und rekonstruiert. Aufnahmen durch kohärente Röntgenstreuung, die in Zusammenarbeit mit verschiedenen anderen Gruppen durchgeführt wurden, zeigen die Vielseitigkeit der mit der neuen Apparatur möglichen und durchgeführten Experimente.

Kapitel 2

Grundlagen

In diesem Kapitel werden die Grundlagen der Arbeit vorgestellt. Dies umfasst sowohl einige Begriffe der Vakuumtechnik, wie auch eine Einleitung in die verschiedenen bildgebenden Verfahren der Optik und Röntgenoptik. Dazu werden auch kurz die verschiedenen Generationen der Strahlungsquellen erläutert.

2.1 Vakuumtechnik

Das Arbeiten im Vakuum ist eine Grundvoraussetzung für Experimente mit weicher UV-Strahlung, da diese von Luft stark absorbiert wird. Hier sollen jedoch nur die für diese Arbeit relevanten Grundlagen betrachtet werden.

Grundlegender Parameter von Vakuumkomponenten ist der Druck p . Er ist nach DIN 1314 definiert als Quotient von Normalkraft auf eine Fläche und wird stets absolut (p_{abs}) angegeben. Dabei entspricht ein Druck von 1 bar $10^5 \frac{kg}{ms^2}$ oder $10^5 \frac{N}{m^2}$. Diese Werte zeigen bereits eindrucksvoll welche Kräfte auf eine nahezu vollständig evakuierte Apparatur wirken. Ein weiterer wichtiger Parameter ist die mittlere freie Weglänge λ . Unter Annahme einer Maxwell'schen Gleichgewichtsfunktion gilt nach [Umrath] in guter Näherung:

$$\lambda \approx \frac{1}{\sqrt{2}\pi n d^2}$$

wobei n die Teilchenzahldichte und d der Teilchendurchmesser ist. Generell unterscheidet man in Abhängigkeit von der mittleren freien Weglänge vier unterschiedliche Druckbereiche: Grob-, Fein-, Hoch- sowie Ultrahochvakuum (vgl. Tabelle 2.1). Bei der in dieser Arbeit entwickelten Apparatur liegen wir ausschließlich im Hoch- und Ultrahochvakuumbereich.

Druckbereich	Druck [mbar]	λ
Großvakuum	300 ... 1	0,1 ... 100 μm
Feinvakuum	1 ... 10^{-3}	0,1 ... 100 mm
Hochvakuum (HV)	10^{-3} ... 10^{-7}	10 cm ... 1 km
Ultrahochvakuum (UHV)	10^{-7} ... 10^{-12}	1 km ... 10^5 km

Tabelle 2.1: Die verschiedenen Vakuumdruckbereiche

2.1.1 Saugleistung und Leitwert

Zum Abschätzen der Pumpengrößen wichtig ist die Saugleistung q_s einer Pumpe

$$q_s = \frac{p \cdot dV}{dt}$$

sowie der Strömungsleitwert

$$q_{Lw} = \Delta p \cdot L$$

(vgl. [Demtröder]). Mit ihm kann der Gasdurchsatz in einer gegebenen Geometrie bestimmt werden. Der Leitwert L richtet sich dabei zum einen nach der Geometrie der Verbindung, und zum anderen nach der Art der Strömung, wobei nach [Umrath] grundsätzlich drei Bereiche in Abhängigkeit von der freien Weglänge λ einzelner Gasatome unterschieden werden:

- Viskose oder Kontinuumsströmung: Sie kommt fast ausschließlich im Großvakuum vor. Den Charakter dieser Strömung bestimmen die Wechselwirkungen der Teilchen untereinander, daher spielt die innere Reibung, die Viskosität der strömenden Substanz, eine große Rolle. Treten Wirbel beim Strömungsvorgang auf, so spricht man von turbulenter Strömung, findet ein Gleiten verschiedener Schichten des strömenden Mediums gegeneinander statt, so nennt man die Strömung laminar. Viskose Strömung liegt generell dann vor, wenn die mittlere freie Weglänge der Teilchen sehr viel kleiner als der Durchmesser der Leitung ist: $\lambda \ll d$.
- Knudsenströmung: Der Übergang von viskoser Strömung zur molekularen Strömung ist die Knudsenströmung. Sie herrscht im Feinvakuumgebiet vor: $\lambda \approx d$.
- Molekularströmung: Die Molekularströmung ist im Hoch- und Ultrahochvakuumbereich vorherrschend. In diesen Bereichen können sich die Teilchen ohne gegenseitige Behinderung frei bewegen. Molekularströmung liegt vor, wenn die mittlere freie Wegstrecke eines Teilchens sehr viel größer als der Durchmesser der Leitung ist: $\lambda \gg d$.

Der Leitwert L einer Vakuumverbindung lässt sich nach [Umrath] bei einem Rohr im Bereich der Molekularströmung abschätzen mit:

$$L \approx 12,1 \cdot \frac{d^3}{l}$$

wobei d der Rohrdurchmesser und l die Länge des Rohres ist. Der Leitwert verhält sich also proportional zu dritten Potenz des Rohrdurchmessers. Um eine Druckdifferenz in einem System aufrecht zu halten ist es dementsprechend sinnvoll die Verbindungswege so klein wie möglich zu halten.

2.1.2 Ausgasraten und erreichbare Drücke

Der erreichbare Enddruck einer Vakuumapparatur ist abhängig von der Leckrate sowie der Ausgasrate der Apparatur. Dabei ist die Leckrate q_L die Gasströmung durch die Außenwände in das Innere der Apparatur, die Ausgasrate q_A die durch von Oberflächen abgegebene oder aus eingebauten Materialien entweichende Gasströmung. Diese Gasströmung führt nach [Demtröder] bei nicht gepumpten Systemen mit dem Volumen V zu einem Druckanstieg

$$\frac{dp}{dt} = \frac{q_L + q_A}{V}$$

aus dem sich Leck- und Ausgasrate bestimmen lassen, indem man zunächst die Leckrate der leeren Apparatur bestimmt und dann mit eingebauten Vakuumkomponenten Leck- und Ausgasrate misst, also

$$q_A = \frac{dp \cdot V}{dt} - q_L.$$

Bei aktiv gepumpten Systemen herrscht ein Gleichgewicht zwischen Ausgas- und Leckrate sowie Saugleistung der Vakuumpumpe, also $q_S = q_L + q_A$. Damit stellt sich nach [Umrath] auch ein von diesen Parametern abhängiger Druck ein:

$$p = \frac{q_L + q_A}{S},$$

wobei S das Saugvermögen der verwendeten Pumpe ist. Der Druck in einer gegebenen Vakuumkammer hängt also lediglich von Ausgas- und Leckrate sowie dem Saugvermögen der verwendeten Pumpe ab.

Die Messungen der Ausgasraten einiger in dieser Arbeit verwendeten Komponenten sind in Kapitel 3.4.2 näher beschrieben. In der hier vorliegenden Arbeit muss der Enddruck des Systems an der Verbindung zum Strahlrohr $5 \cdot 10^{-9}$ mbar (BESSY), bzw $1 \cdot 10^{-6}$ mbar (FLASH) erreichen.

2.2 Strahlungsquellen

Alle optischen bildgebenden Verfahren sind auf eine Strahlungsquelle angewiesen. Dies war bei den ersten Mikroskopen noch Sonnenlicht, später wurden zur genaueren spektralen Analyse Quecksilberdampf lampen mit Farbfiltern eingesetzt. Modernere Verfahren nutzen nicht nur die Amplitude sondern auch die Phaseninformationen und sind deshalb auf kohärentes Licht angewiesen. Im sichtbaren Bereich erzeugt man dieses durch Laser, im Vakuum-UV (VUV) und Röntgenbereich werden aufwändigere Strahlungsquellen benötigt.

Man unterscheidet Röntgenquellen der ersten, zweiten, dritten und vierten Generation. Diese unterscheiden sich im Wesentlichen durch die Brillianz der emittierten Strahlung, die nach [Kim] beschrieben wird als

$$B = \frac{F}{4\pi^2 \sigma_{Tx} \sigma_{Ty} \sigma_{Tx'} \sigma_{Ty'}}$$

also der Photonenfluss F in Photonen/(s · 0,1% der Linienbreite) pro Fläche und Raumwinkel, wobei σ_{Tx} und σ_{Ty} die gesamte Quellengröße in x und y , und $\sigma_{Tx'}$ sowie $\sigma_{Ty'}$ die gesamte Divergenz in horizontaler bzw. vertikaler Richtung ist.

- Bei der ersten Generation wurden Teilchenbeschleuniger der Teilchenphysik (Synchrotrons) unter anderem bei DESY “parasitär” verwendet. Es wurde erkannt, dass die tangential aus dem Beschleuniger austretende Strahlung nicht nur einen Energieverlust darstellt, sondern für Experimente sinnvoll genutzt werden kann.
- In der zweiten Generation wurden Synchrotronstrahlungsquellen allein zur Erzeugung der Strahlung gebaut. Dabei speichert man die beschleunigten Teilchen, meist Elektronen, für mehrere Stunden in Speicherringen und erreicht damit konstante Arbeitsbedingungen. Die Erzeugung der Strahlung erfolgt mit speziellen Magneten, den Dipolmagneten und Wigglern wie zum Beispiel bei BESSY I.
- Die dritte Generation bilden Synchrotrone mit Undulatoren im Speicherring. Mit ihnen kann eine höhere Brillianz als mit Wigglern erzeugt werden. Dieses Prinzip wurde bei BESSY II verwirklicht.
- Freie-Elektronen-Laser (FEL), bei denen Linearbeschleuniger unter Ausnutzung des SASE (Self-Amplified Spontaneous Emission) Effektes (vgl. Kapitel 2.2.3) verwendet werden, stellen die vierte Generation dar. Sie verfügen über eine noch deutlich größere Brillianz und erzeugen zudem einen größeren Anteil kohärenter Photonen.

Für diese Arbeit wurden Messungen an Strahlungsquellen der dritten (BESSY II, Berlin) und der 4. Generation (FLASH, Hamburg) durchgeführt.

2.2.1 Synchrotronstrahlung

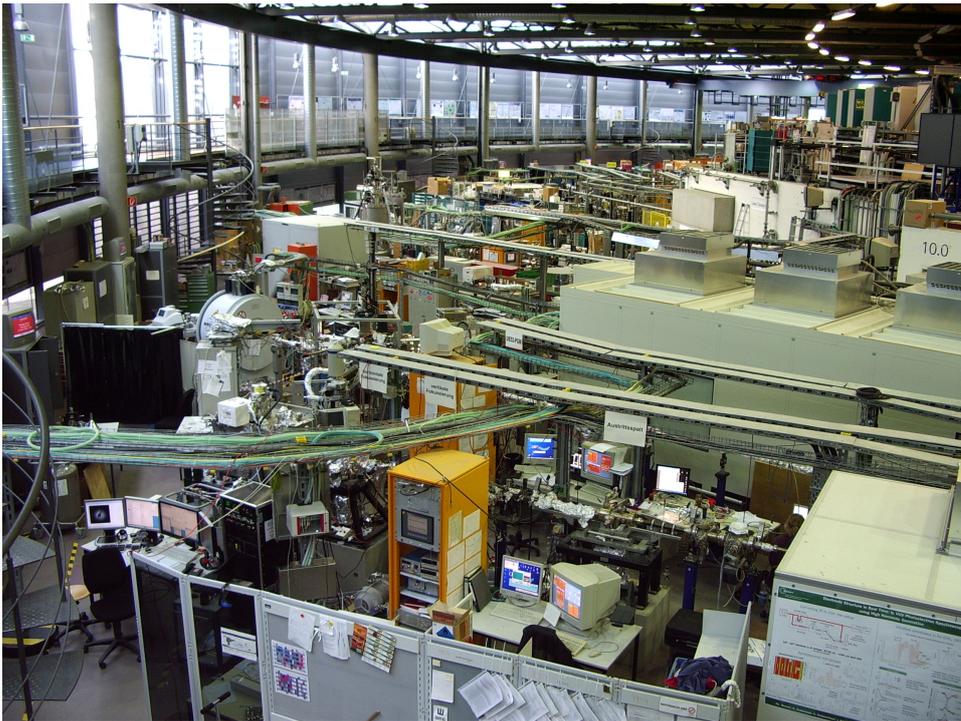


Abbildung 2.1: Foto der BESSY Experimentierhalle. Im Vordergrund ist die für diese Arbeit verwendete Beamline UE52SGM zu erkennen.

Synchrotronstrahlen sind elektromagnetische Wellen, die durch Ablenkung von schnellen, geladenen Teilchen entstehen. Die Grundlagen gehen dabei auf [Hertz] zurück, der die Entstehung elektromagnetischer Wellen durch schnell beschleunigte Ladungen beschrieb. Dass dieser Effekt auch bei Teilchenbeschleunigern, besonders im Bereich relativistischer Energien, auftritt wurde 1944 von Ivanenko und Pomeranchuk vorausgesagt [Ivanenko], damals unter der Prämisse des ausgleichenden Energieverlustes, also eher als designbedingter Nachteil. Beobachtet wurde Synchrotronstrahlung erstmals 1947 an einem 70 MeV Betatron bei General Electric [Elder]. Bereits damals wurde sie eingesetzt, allerdings nur, um Maschinenparameter wie Strahlstabilität und Fokussierung zu optimieren [Pollock].

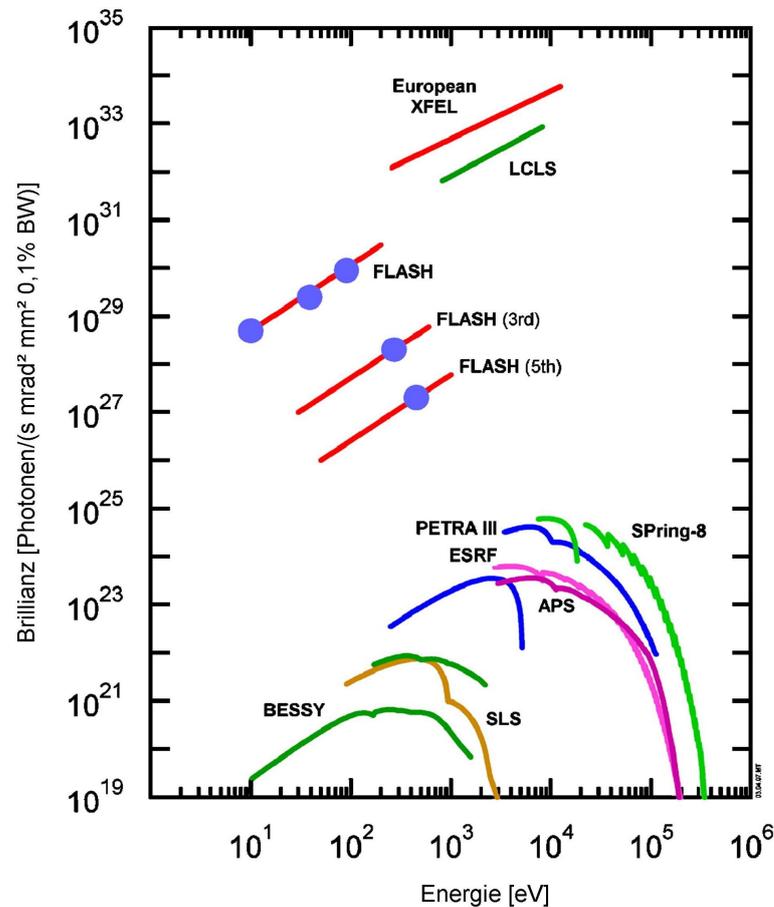


Abbildung 2.2: Brillanz der verschiedenen Synchrotronstrahlungsquellen sowie von FLASH und dem geplanten XFEL aus [Bosted].

Die von einem, auf die Energie E beschleunigten, geladenen Teilchen auf einer Kreisbahn abgestrahlte Energie P ist nach [Demtröder]

$$P = \frac{q^2 \cdot c}{6\pi\epsilon_0 r^2} \left(\frac{E}{m_0 c^2} \right)^4,$$

wobei q die Ladung des Teilchens, r der Radius der Kreisbahn, m_0 die Ruhemasse des geladenen Teilchens und ϵ_0 die elektrische Feldkonstante ist. Elektronen eignen sich aufgrund der geringen Ruhemasse also besonders gut zum Erzeugen elektromagnetischer Strahlung.

Mittlerweile werden in Strahlquellen der dritten Generation Speicherringe ausschließlich zur Erzeugung von Synchrotron Strahlung betrieben.

Dazu werden Elektronen in einem Synchrotron auf hohe Energien beschleunigt, und dann in einen Speicherring eingespeist, in welchem sie bei konstanter Energie umlaufen, um ein konstantes Spektrum der Strahlung sicherzustellen. Die Erzeugung der Strahlen erfolgt in Undulatoren: langen Anordnungen von Dipolmagneten mit abwechselnder Orientierung, die die Elektronen in periodischen, meist sinusförmigen Bahnen ablenken. Diese Strahlung wird dann in tangential vom Speicherring wegführenden Vakuumrohren den Experimenten zugeführt.

2.2.2 BESSY Beamline UE52SGM

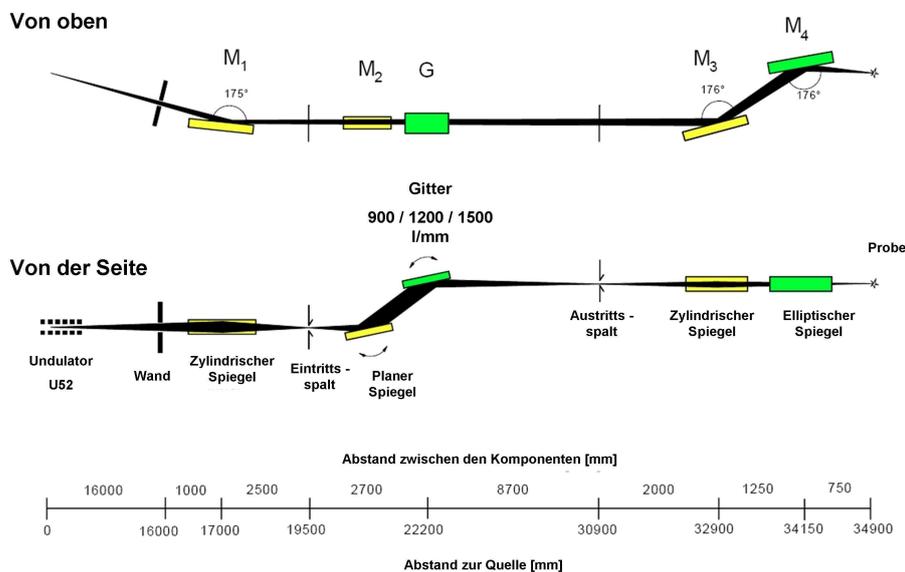


Abbildung 2.3: Schematische Zeichnung der Beamline UE52 bei BESSY. Links befindet sich der Undulator, der Strahl trifft dann nach einem Fokussierspiegel auf den Eintrittsspalt, Spiegel und Gitter des Monochromators, Austrittsspalt und zwei weitere Fokussierspiegel (nach [Godehusen]).

Der vom *Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie GmbH* (HZB) seit 1998 betriebene Speicherring BESSY II ist eine Synchrotron Strahlungsquelle der dritten Generation. Elektronen laufen hier mit einer Energie von bis zu 1,7 GeV in einem Speicherring mit 240 m Umfang um.

Die in dieser Arbeit verwendete Beamline UE52SGM verfügt über einen Undulator mit verstellbarem Spalt um die gewünschten Photonenenergien vorzuselektieren, und außerdem über einen Monochromator mit drei ver-

schieden Gitterabständen, die je nach gewünschter Energie gewechselt werden können, sowie einen verstellbaren Austrittsspalt um die Bandbreite zu beeinflussen [Godehusen]. Außerdem verfügt die Beamline über horizontale und vertikale Fokussierspiegel, so dass am Experiment ein Strahldurchmesser von nur $17\ \mu\text{m}$ (FWHM) erreicht wird. Ein Schema der Beamline findet sich in Abbildung 2.3.

2.2.3 Freie Elektronen Laser

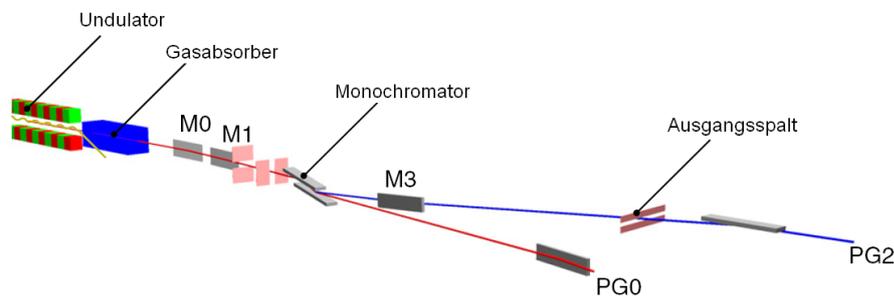


Abbildung 2.4: Schematische Zeichnung der Beamlines PG0 und PG2 bei FLASH nach [Wellhöfer]. Links befindet sich der Undulator, danach kommt ein Gasabsorber, der Monochromator und bei PG2 schließlich der Austrittsspalt.

Freie Elektronen Laser (FEL) werden auch als Strahlquellen der 4. Generation bezeichnet. Im Unterschied zu einem Speicherring, bei dem die Elektronen auf einer Kreisbahn umlaufen, kommen hier Linearbeschleuniger zum Einsatz, außerdem wird ein deutlich längerer Undulator verwendet.

Die Erzeugung kohärenter Strahlung wird durch den Microbunching-Effekt möglich, das heißt eine Mikrostrukturierung des Elektronenpaketes entsteht durch die Wechselwirkung mit der erzeugten Strahlung. Das Elektronenpaket wird in dünne Scheiben strukturiert, die senkrecht zur Flugrichtung ausgerichtet sind. Diese Scheiben haben einen genau der Wellenlänge der emittierten Strahlung entsprechenden Abstand, so dass alle Elektronen in dem Paket gleichzeitig kohärent emittieren können. Durch das phasenrichtige Emittieren der Strahlung addieren sich die Amplituden der einzeln erzeugten Wellen und nicht mehr die Intensitäten, wie es bei zufälliger, nicht phasenrichtiger emittierter Strahlung der Fall wäre. Die Folge ist, dass die Intensität der emittierten Strahlung beim FEL proportional zum Quadrat der Anzahl der emittierenden Elektronen steigt und nicht mehr linear. Dieser

Effekt wird als SASE (Self-Amplified Spontaneous Emission) bezeichnet, und ist die Ursache für die sehr hohe erreichbare Brillanz im Bereich von $10^{29} - 10^{30}$ Photonen/(s mrad² mm² · 0,1% BW), die neben der größeren Kohärenz den Hauptvorteil des FEL darstellt [Saldin].

2.2.4 Wechselwirkung von Röntgenstrahlung mit Materie

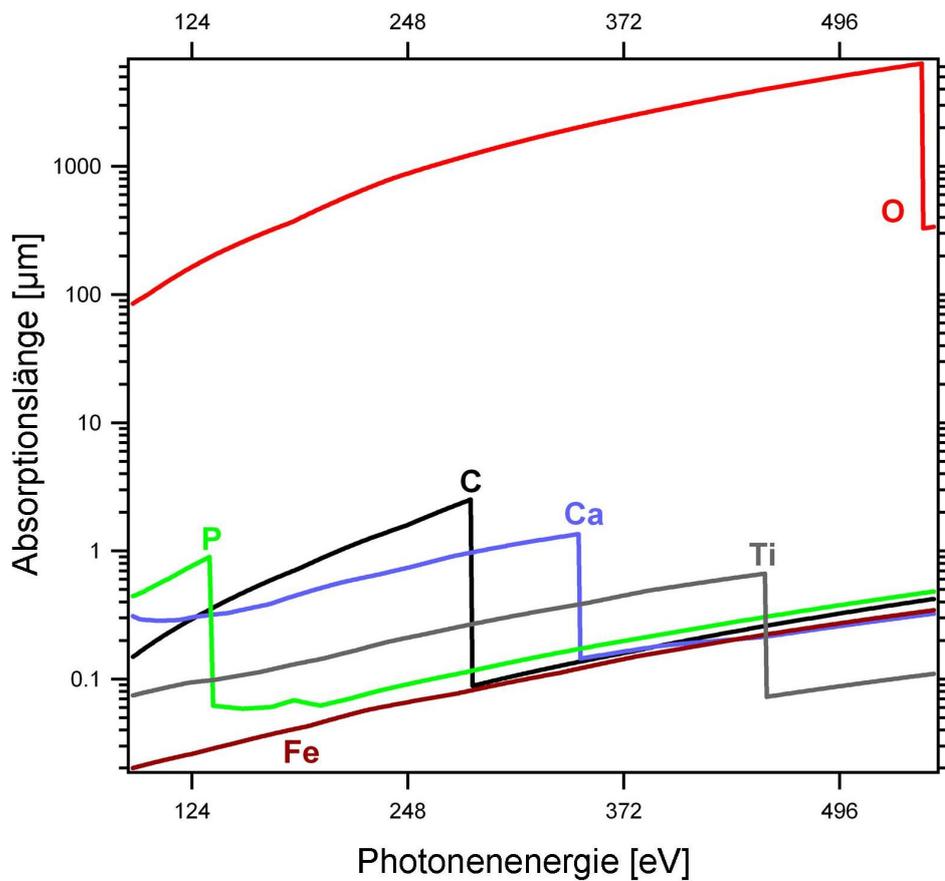


Abbildung 2.5: Absorptionslänge verschiedener Elemente im Bereich des Wasserfensters, also zwischen den Absorptionskanten von Kohlenstoff und Sauerstoff [CXRO].

Die Untersuchung von Proben mit weicher Röntgenstrahlung wird erst durch deren Wechselwirkung mit dieser Strahlung ermöglicht. Diese beruht hauptsächlich auf Absorption, Phasenverschiebung und elastischer Streuung, da inelastische oder Compton Streuung erst bei Energien von mehreren keV auftritt [Demtröder].

Absorption und Phasenverschiebung von Röntgenstrahlen in einem homogenen Material kann nach [Demtröder] makroskopisch durch den komplexen Brechungsindex n beschrieben werden:

$$n = 1 - \delta - i\beta.$$

Wenn sich eine ebene Welle

$$E_0 = A_0 e^{i(\omega t - k \cdot z)}$$

also in einem homogenen Material bewegt, gilt

$$E_0 = A_0 e^{i(\omega t - nk \cdot z)} = \underbrace{A_0 e^{i(\omega t - k \cdot z)}}_{\text{Vakuumausbreitung}} \cdot \underbrace{e^{i\delta k z}}_{\text{Phasenverschiebung}} \cdot \underbrace{e^{-\beta k z}}_{\text{Absorption}},$$

wobei δ die Phasenverschiebung und β die Absorption bestimmt. Die Absorption wird normalerweise durch den Absorptionskoeffizienten

$$\mu = 2\beta k = \frac{4\pi\beta}{\lambda}$$

oder den Massenabsorptionskoeffizienten

$$\mu_m = \frac{\mu}{\rho}$$

angegeben, wobei ρ die Massendichte des Materials ist. Diese Massendichte ist elementspezifisch, das heißt bei jedem Material treten abhängig von der Wellenlänge unterschiedliche Absorptionskoeffizienten auf. Da diese bekannt sind, ermöglicht eine Serie von Aufnahmen bei unterschiedlichen Wellenlängen Rückschlüsse auf die in der Probe vorhandenen Elemente und deren Verteilung. Abbildung 2.5 zeigt die Absorptionslängen verschiedener Elemente im biologisch wichtigen Bereich des Wasserfensters, also zwischen den Absorptionskanten von Kohlenstoff und Sauerstoff [Wolter].

2.2.5 Auflösungsbegrenzung durch Strahlenschäden

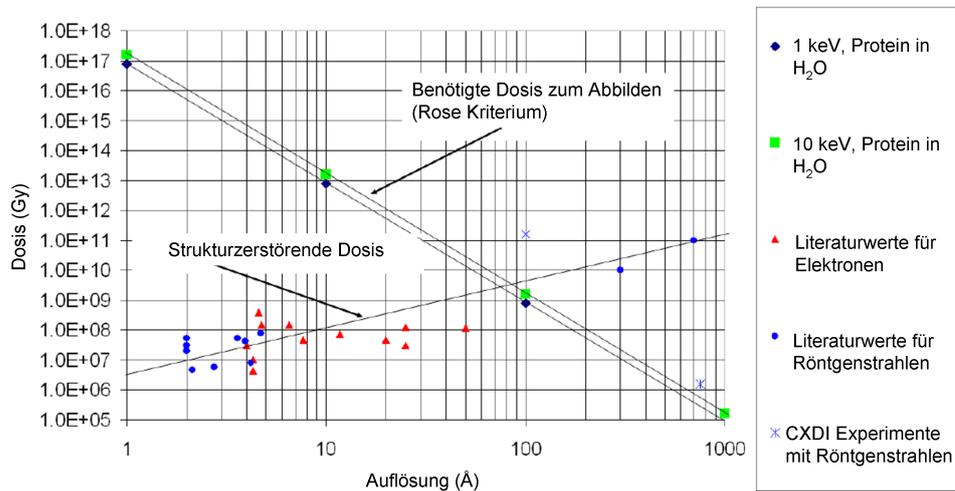


Abbildung 2.6: Zur Bildaufnahme nötige Dosis der Röntgenstrahlung bei Kohärenter Röntgenstreuung (Rose Kriterium), sowie strukturzerstörende Dosis in Abhängigkeit von der Auflösung bei unterschiedlichen bildgebenden Verfahren nach [Marchesini03b].

Die Auflösung bei bildgebenden Verfahren mit Röntgenstrahlung ist stets durch die Strahlungsschädigung des Präparates begrenzt. Für immer kleinere abzubildende Strukturen ist eine immer größere Anzahl an Photonen nötig, da stets eine gewisse Anzahl an Photonen mit der abzubildenden Struktur wechselwirken muß, um diese rekonstruieren zu können. Nach [Rose] muss dafür ein Signal zu Rauschverhältnis von mindestens 5 gegeben sein, also mindestens 25 Photonen müssen mit der aufzulösenden Struktur wechselwirken und den Detektor treffen. Diese Photonen haben durch die Wechselwirkung, gerade im Bereich von Röntgenstrahlen, natürlich auch einen zerstörenden Effekt auf die Struktur. Mit steigender Strahlenbelastung der Probe werden immer größere Strukturen zerstört. Nach [Howells] ist der Zusammenhang zwischen Dosis und der Größe der zerstörten Struktur

$$\text{Dosis [Gy]} = 1 \cdot 10^8 \cdot \text{Auflösung [nm]}$$

Abbildung 2.6 zeigt das Rose Kriterium für Kohärente Röntgenstreuung sowie die strukturzerstörende Dosis in Abhängigkeit von der zu beobachtenden Strukturgröße. Hier wird sichtbar, dass es ein Minimum für die erreichbare Auflösung gibt, und zwar wenn die für die Auflösung benötigte Strahlendosis eine Struktur in der gleichen Größenordnung zerstört.

2.3 Bildgebende Verfahren

2.3.1 Mikroskopie

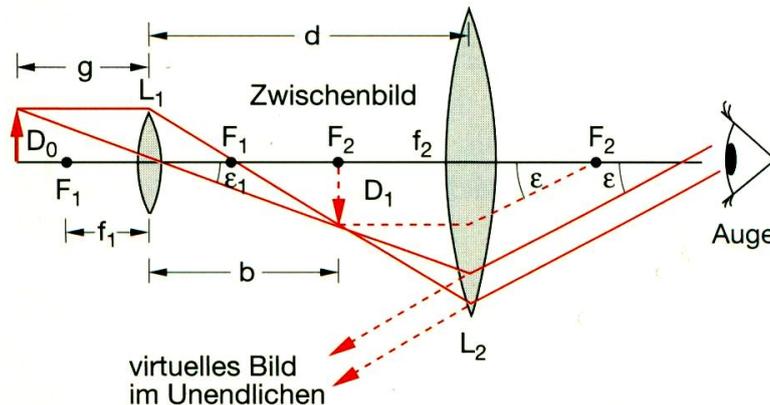


Abbildung 2.7: Grundprinzip des Strahlengangs im Mikroskop aus [Demtröder]. Links ist das Objekt abgebildet, daneben das Objektiv, das Okular und rechts das „Auge des Betrachters“.

Nach der Entdeckung von Linsen, die als Lupen zur optischen Vergrößerung kleiner Objekte verwendet wurden, stellte das Mikroskop den nächsten Schritt in der Entwicklung vergrößernder Optiken dar. Hier werden im einfachsten Fall zwei Linsen verwendet, wobei die erste Linse (Objektiv) ein reelles Zwischenbild des Gegenstandes in der Brennebene einer zweiten Linse (Okular) entwirft (Abbildung 2.7). Das Auge sieht also von jedem Punkt des Objektes parallele Strahlenbündel. Aus dem Strahlensatz ergibt sich das Verhältnis

$$\frac{D_1}{D_0} = \frac{b}{g},$$

wobei D_0 die Größe des Gegenstandes, D_1 die Größe des virtuellen Zwischenbildes, g der Abstand zwischen Gegenstand und Objektivlinse und b der Abstand zwischen dem virtuellen Zwischenbild und der Objektivlinse ist. Aus der Linsengleichung ergibt sich:

$$\frac{1}{f_1} = \frac{1}{g} + \frac{1}{b} \Rightarrow b = \frac{g \cdot f_1}{g - f_1}.$$

Befindet sich das Objekt in der Nähe der Brennebene von L_1 wird $b \gg g \Rightarrow D_1 \gg D_0$. Hier wirkt das Okular als Lupe für das Zwischenbild. Der

Sehwinkel ϵ ist also

$$\tan \epsilon = \frac{D_1}{f_2} = \frac{D_0 \cdot b}{g \cdot f_2}.$$

Bei einem Abstand s_0 des Objektes vor dem Auge wäre der Sehwinkel dagegen:

$$\tan \epsilon = \frac{D_0}{s_0},$$

was zu einer Winkelvergrößerung V_M von

$$V_M = \frac{D_0 b s_0}{D_0 g f_2} = \frac{b \cdot s_0}{g \cdot f_2}$$

führt, und mit $d = b + f_2$ ergibt sich dann wegen $g \approx f_1$ für die Vergrößerung V_M des Mikroskops:

$$V_M \approx \frac{(d - f_2) s_0}{f_1 \cdot f_2}.$$

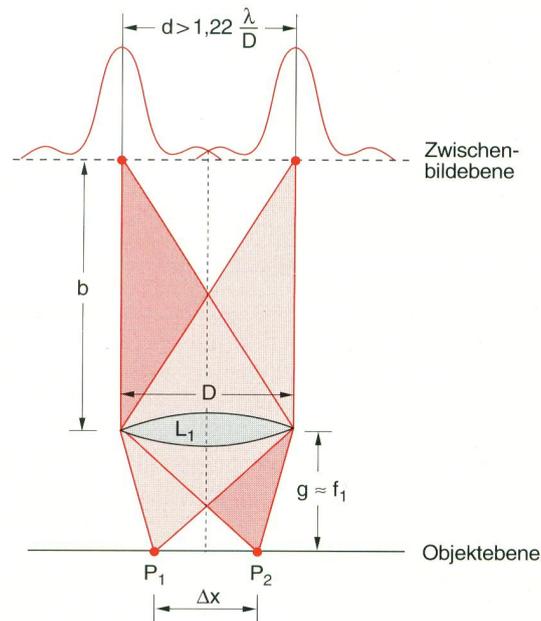


Abbildung 2.8: Grundprinzip der Auflösung eines Mikroskops aus [Demtröder].

Die Auflösung ist hier jedoch durch Beugung begrenzt. Betrachtet man einen Punkt P_1 des Objektes, der sich im Abstand g vor der Objektivlinse L_1 mit Durchmesser D befindet (Abbildung 2.8), entsteht in der Bildebene

im Abstand b ein Beugungsscheibchen mit dem Durchmesser der zentralen Beugungsordnung

$$d_{\text{Beug}} = 2,44 \cdot \lambda \frac{b}{D}.$$

Damit zwei räumlich nahe liegende Punkte P_1 und P_2 mit Abstand Δx getrennt zu beobachten sind, muss der Abstand der Beugungsmaxima mindestens $0,5 \cdot d_{\text{Beug}} = 1,22 \cdot \lambda b / D$ betragen. Dies entspricht einem Objektstand von

$$\Delta x_{\text{min}} = \frac{1}{2} d_{\text{Beug}} \frac{g}{b} = 1,22 \cdot \lambda \frac{g}{D}.$$

Im Allgemeinen liegt die Objektebene in der Nähe der Brennebene von L_1 , so dass $g \approx f$ ist. Damit ist

$$\Delta x_{\text{min}} = 1,22 \cdot \lambda \frac{f}{D}.$$

Der von der Linse erfasste, maximale Öffnungswinkel 2α ist durch

$$2 \sin \alpha = \frac{D}{f}$$

bestimmt. Damit erhält man für die Auflösung:

$$\Delta x_{\text{min}} = 1,22 \cdot \frac{\lambda}{2n \sin \alpha},$$

wobei $n \sin \alpha$ als numerische Apertur (NA) bezeichnet wird [Demtröder].

Die Auflösung in der klassischen Lichtmikroskopie ist also begrenzt durch die numerische Apertur (moderne Objektive erreichen hier einen Wert von 1,5 bis 1,6) sowie die Wellenlänge des verwendeten Lichtes.

Allerdings kann der Öffnungswinkel durch die Verwendung eines zweiten Objektivs erhöht werden. Dies wurde bereits 1978 von [Cremer78] vorgeschlagen und realisiert. Auf diese Weise konnte eine Auflösung von 75 nm, also deutlich unterhalb des Abbe-Kriteriums, realisiert werden [Hell]. Moderne Verfahren wie SMI Mikroskopie oder 4PI STED Mikroskopie ermöglichen es die Auflösung noch weiter zu verbessern [Albrecht] [Klar].

Für eine noch größere Auflösung liegt es außerdem nahe, zu kleineren Wellenlängen zu gehen, also Messungen zum Beispiel im Bereich der weichen Röntgenstrahlen mit einer Wellenlänge im Nanometerbereich vorzunehmen.

2.3.2 Röntgenmikroskopie

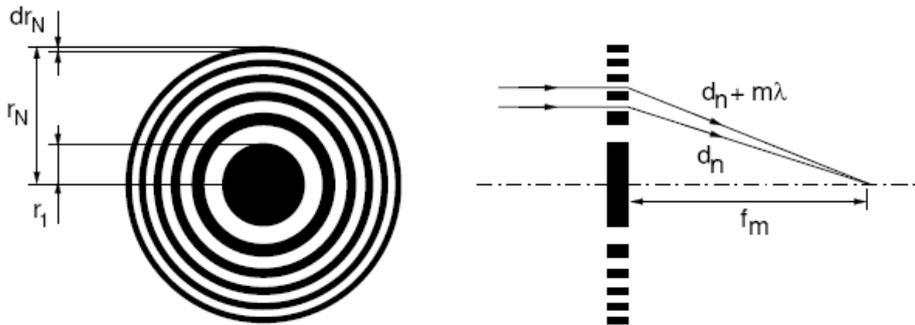


Abbildung 2.9: Schema einer Zonenplatte mit N konzentrischen Zonen. Links ist die Ansicht entlang der optischen Achse, rechts der Querschnitt abgebildet, aus [Wiesemann].

Für die Röntgenmikroskopie ist zunächst eine völlig andere Art der Optik nötig, da normale Glas- oder Quarzlinzen besonders im weichen Röntgenbereich einen Brechungsindex von nahezu 1 haben. Deshalb werden Fresnelsche Zonenplatten verwendet, also runde Streugitter mit nach außen zunehmender Liniendichte (Abbildung 2.9). Dabei sind die Zonen so angeordnet, dass transparente Bereiche zu einem optischen Wegunterschied von m Wellenlängen λ führen, und damit durchgelassene Strahlen im Fokusabstand f_m konstruktiv interferieren. Um dies zu erfüllen muss der Radius r_n der n -ten Zone nach [Wiesemann]

$$r_n = mn\lambda f_m + \frac{m^2 n^2 \lambda^2}{4}, \quad n = 1 \dots N$$

betragen. Dabei kann für lange Brennweiten ($f_m \gg mn\lambda/4$) der zweite Term vernachlässigt werden, und es ergibt sich:

$$f_m = \frac{r_N^2}{mN\lambda}.$$

Die Auflösung ergibt sich dann aus der Linienbreite der äußersten Zone [Wiesemann]:

$$\Delta x_{\min} = 1,22 \cdot \frac{dr_N}{m}.$$

Mit dieser neuen Optik ist es nun möglich Röntgenstrahlen zu fokussieren oder auch ein Objekt auf einem Detektor abzubilden und so einen

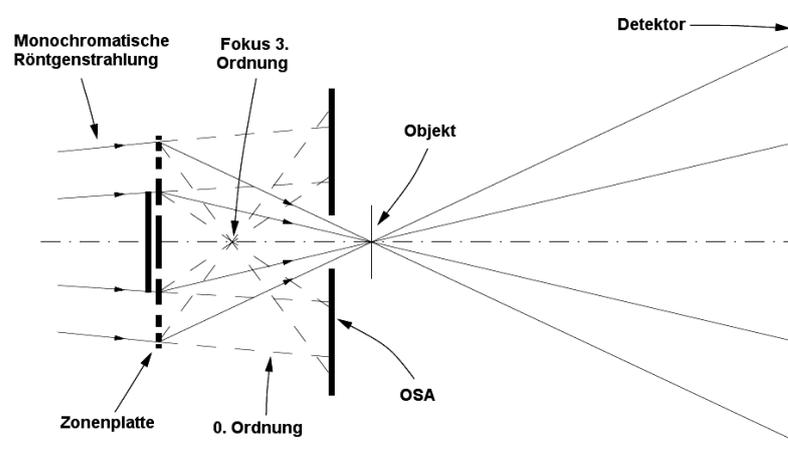


Abbildung 2.10: Schema eines Rastertransmissionsröntgenmikroskops nach [Wiesemann]. Der monochromatische Röntgenstrahl wird durch eine Zonenplatte fokussiert, höhere Ordnungen werden durch eine OSA (Order sorting aperture) ausgeblendet. Das Objekt befindet sich im Fokus und der transmittierte Strahl wird mit einem Detektor aufgenommen.

dem optischen Mikroskop entsprechenden Aufbau zu realisieren. Man unterscheidet grundsätzlich zwischen Transmissionsröntgenmikroskopen (TXM) und Rastertransmissionsröntgenmikroskopen (STXM). Beim Rastertransmissionsröntgenmikroskop wird die einfallende, monochromatische Röntgenstrahlung durch eine Zonenplatte auf einen Punkt im Objekt fokussiert, und die transmittierte Welle von einem Detektor aufgenommen. Ein zweidimensionales Bild der Probe entsteht dann durch Abrastern des Raumes entweder durch die Zonenplatte oder durch die Probe (Abbildung 2.10).

Beim Transmissionsröntgenmikroskop wird dagegen das gesamte Objekt ausgeleuchtet und dann durch eine Zonenplatte auf einen zweidimensionalen Detektor abgebildet [Wiesemann].

Dieses Verfahren ist mittlerweile ausgereift und in der Anwendung etabliert [Jacobsen92] [Kirz]. Die Auflösung hängt dabei praktisch nur noch von der Qualität der Zonenplatten ab [Schmahl]. Mit aktuellen Röntgenmikroskopen ist es möglich eine Auflösung von 30 nm [Meyer-Ilse] bis zu 15 nm [Chao] zu erreichen .

2.3.3 Kohärente Röntgenstreuung

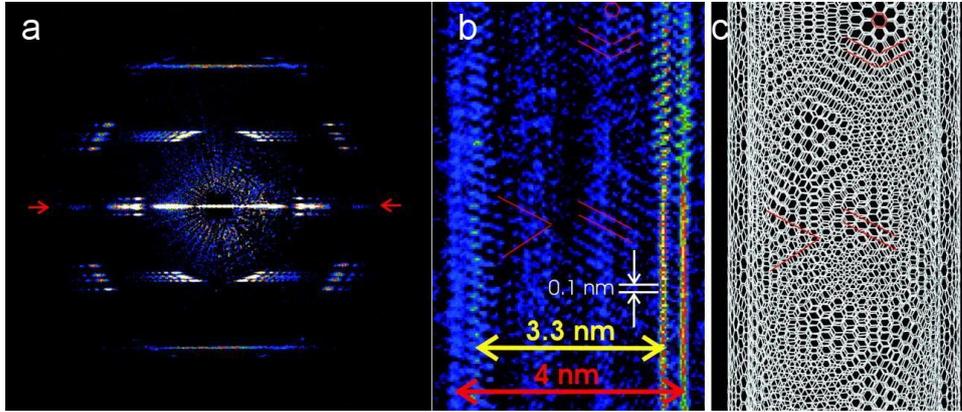


Abbildung 2.11: Beispiel für Kohärente Streuung an einem Kohlenstoff Nanoröhrchen: das vom Detektor aufgenommene Streumuster (a), die Rekonstruktion (b) und das theoretische Modell des Nanoröhrchens (c) [Zuo].

Kohärente Streuung (CDI) ist ein vollständig linsenloses, bildgebendes Verfahren, das auf der Idee, hochaufgelöste, reelle Bilder aus Streumustern kohärent beleuchteter Proben zu rekonstruieren, beruht. Die Optik wird hier also durch Computersoftware bei der Rekonstruktion ersetzt, die frei von optischen Abbildungsfehlern ist.

Experimentell wird dabei eine ebene Welle von einem zu untersuchenden Objekt gestreut und das Streumuster wird mit einem Detektor aufgenommen. Bei den so aufgenommenen Bildern kann jedoch nicht zwischen Amplitude und Phase unterschieden werden, da die Phase der Welle zu Interferenzen führt, die von Amplitudeninformationen im Streubild nicht zu unterscheiden sind.

Mathematisch betrachtet liegt also nach [Fineup] die Information über das Objekt im Phasenraum vor:

$$F(\vec{k}) = \int_{-\infty}^{\infty} f(\vec{x}) e^{2\pi i \vec{k} \cdot \vec{x}} d\vec{x}$$

wobei $F(\vec{k})$ den Phasenraum und $f(\vec{x})$ das zu rekonstruierende Bild im Realraum darstellt. Für einen Detektor mit N Pixeln ergibt sich die Summe:

$$F(k) = \sum_{x=1}^{N-1} f(x) e^{2\pi i k \cdot \frac{x}{N}}$$

Allerdings kann nur die Amplitude, nicht aber die Phase der einfallenden Welle gemessen werden, also $|F(k)|$:

$$|F(k)| = \left| \sum_{x=1}^{N-1} f(x) e^{2\pi i k \cdot \frac{x}{N}} \right|.$$

Hier haben wir ein System mit N Gleichungen aber $2N$ Unbekannten, das sich so nicht lösen lässt. Dieses Phasenproblem lässt sich jedoch mit einer erhöhten Samplingrate [Bates] und geschickten, iterativen Algorithmen umgehen.

Die Ergänzung der Phaseninformation erfolgt dann also durch Software. Zunächst wurden durch einen iterativen “hybrid input-output” (HIO) Algorithmus Bilder der Probe mit Hilfe von niedrig aufgelösten Realraumbildern (z. B. Mikroskopie) rekonstruiert [Fineup]. Später wurden phasenrekonstruierende Algorithmen entwickelt, die nur auf Informationen über den Realraum des Probenhalters angewiesen sind in [Marchesini03a] beschrieben, und das Verfahren erstmals an Röntgenstreumustern (CXDI) demonstriert [Miao]. Die dabei erzielte Auflösung lag bei 75 nm.

Heute können mit Kohärenter Röntgenstreuung und noch weiter verbesserten Rekonstruktionsalgorithmen [Marchesini07] Proben mit atomarer Auflösung (0,1 nm) (Kohlenstoff Nanoröhrchen [Zuo]) oder biologische Proben mit einer Auflösung von 30 nm (Hefezellen [Shapiro]) abgebildet werden.

2.4 Holographie

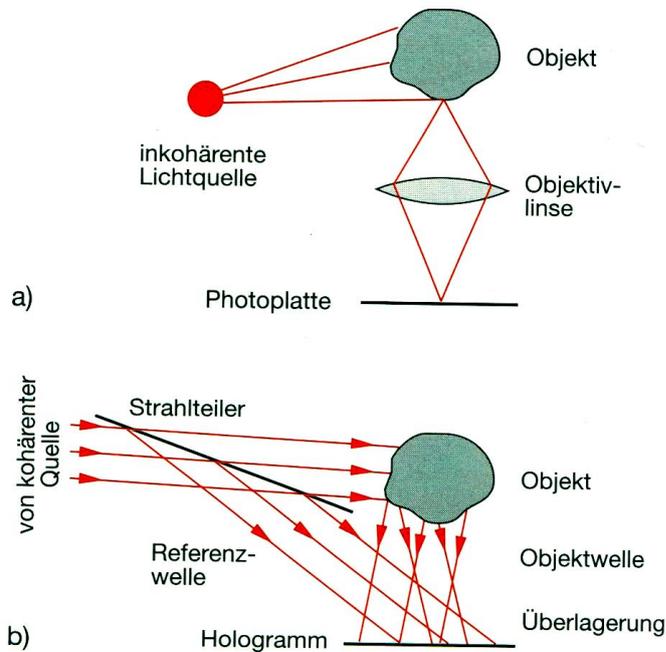


Abbildung 2.12: Grundprinzip der Off-Axis Holographie nach [Demtröder].

Die Holographie geht zurück auf Gabor, der sie 1948 zur Erhöhung der Auflösung in der Elektronenmikroskopie entwickelte [Gabor]. Die Idee ist nicht nur das Streumuster der Probe aufzunehmen, sondern dieses mit einer nicht gestreuten Referenzwelle zu überlagern. Auf diese Weise lässt sich die Phaseninformation der Photonen (und damit die dreidimensionale Struktur) aus der Interferenz zurückgewinnen. Deshalb wird im Unterschied zur Fotografie (Abbildung 2.12a) eine kohärente Lichtquelle verwendet, und nach [Demtröder] die an der Probe gestreute Welle

$$E_S = A_S e^{i(\omega t + \varphi_S(x,y))}$$

mit einer Referenzwelle

$$E_0 = A_0 e^{i(\omega t - k_0 \cdot r)}$$

überlagert, wobei die Phase $\varphi_S(x, y)$ von der Entfernung der streuenden Objekte abhängt (Abbildung 2.12b). Die Intensität auf dem Detektor ist dann:

$$I(x, y) = c \epsilon_0 |E_S(x, y) + E_0(x, y)|^2$$

$$\begin{aligned}
 &= c\epsilon_0 \left| A_0^2 + A_S^2 + A_0^* A_S e^{i(k_0 r_0 + \varphi_S(r_0))} + A_0 A_S^* e^{-i(k_0 r_0 + \varphi_S(r_0))} \right| \\
 &= c\epsilon_0 \left| A_0^2 + A_S^2 + 2A_0 A_S \cos(\varphi_0 - \varphi_S) \right|
 \end{aligned}$$

wobei die von x und y abhängige Phasendifferenz ($\varphi_0 - \varphi_S$) durch die optischen Wegdifferenzen zwischen Referenz- und Streuwelle bestimmt wird. Der phasenabhängige Interferenzterm enthält die Information über die Entfernung der verschiedenen Objektpunkte von den Punkten (x, y) des Detektors [Demtröder].

2.4.1 In-Line Geometrie

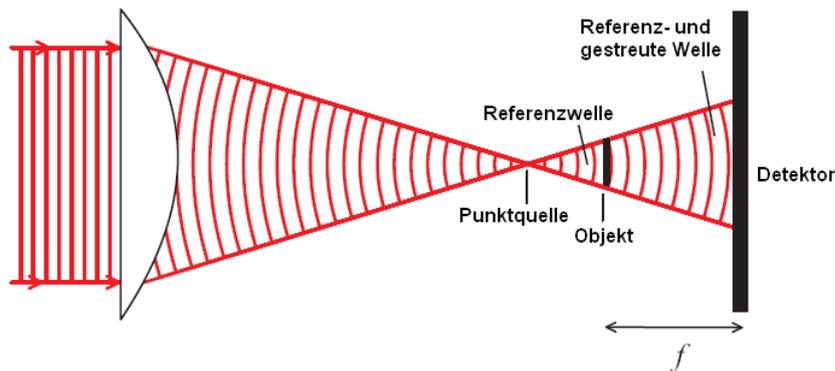


Abbildung 2.13: Grundprinzip der In-Line Holographie nach [Schürmann].

Experimentell einfacher ist die ursprünglich von [Gabor] vorgeschlagene In-Line Geometrie. Dabei wird mit einer punktförmigen, kohärenten Lichtquelle, die zum Beispiel durch ein kleines Pinhole realisiert wird, nur das, in diesem Fall, teilweise transparente Objekt beleuchtet. Dementsprechend ist die Referenzwelle nun eine Kugelwelle:

$$E_0 = \frac{A_0}{r} e^{i(\omega t - k_0 \cdot r)}.$$

Diese wird nun von der gestreuten Welle des mit der Kugelwelle beleuchteten Objektes überlagert und erzeugt ein für die Probe charakteristisches Interferenzmuster. Abbildung 2.14 zeigt beispielhaft das Hologramm eines fossilen Diatomees.

2.4.2 Rekonstruktion

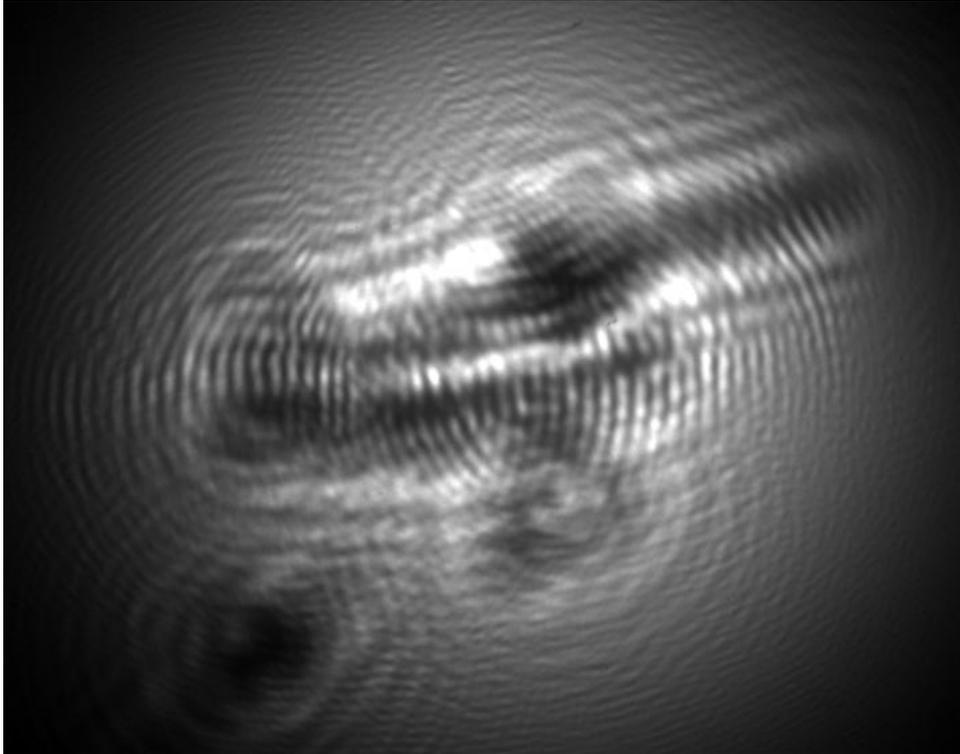


Abbildung 2.14: Hologramm eines fossilen Diatoms aufgenommen mit einem 300 nm Pinhole bei einer Wellenlänge von 1,37 nm in In-Line Geometrie. Die Rekonstruktion dieses Hologrammes ist in Abbildung 4.7 auf Seite 69 dargestellt.

Während [Gabor] aufgrund der zu seiner Zeit fehlenden numerischen Möglichkeiten noch ein direktes optisches Rekonstruktionsverfahren vorgeschlagen hat, bei dem das auf einer Photoplatte aufgenommene Hologramm erneut mit einer kohärenten Welle beleuchtet wird, haben wir heute die Möglichkeit Aufnahmen direkt mit einem digitalen Detektor (CCD Chip) aufzunehmen und im Computer zu rekonstruieren.

Normalerweise erfolgt das mit Hilfe der Kirchhoff-Helmholtz-Formel:

$$K(\vec{r}) = \int_S d^2\xi I(\vec{\xi}) e^{ik\vec{r}/\xi}$$

wobei S die zweidimensionale Oberfläche des Detektors, $\vec{\xi} = (x, y, d)$ der Raum hinter dem Pinhole und $I(\vec{\xi})$ das Hologramm nach Abzug der Quelle

ist. Die von uns verwendete Implementierung dieser Formel in Software nach [Kreuzer02] berücksichtigt außerdem Kissenverzerrungen, die durch das Auftreffen einer Kugelwelle auf einen planen Detektor entstehen, sowie die Nichtlinearität des Phasenfaktors der Kirchhoff-Helmholtz-Formel.

2.4.3 Auflösung

Analog zur Auflösung in der klassischen Mikroskopie kann die Auflösung in der Holographie als

$$\Delta x_{min} = 1,22 \cdot \frac{\lambda}{2 NA}$$

definiert werden. Die Bestimmung der numerischen Apertur ist im Fall der Holographie jedoch anders als beim Mikroskop, da Parameter wie Detektorgröße, Pinholegröße und Größe der Airy Scheibe berücksichtigt werden müssen. Der von der Probe ausgehende Öffnungswinkel zum Detektor ist nach [Barth08] hier

$$\alpha = \arcsin \frac{D/2}{\sqrt{(D/2)^2 + (L-l)^2}}$$

wobei D die Größe des Detektors, L der Pinhole Detektor Abstand und l der Abstand zwischen Pinhole und Probe ist. Für Experimente mit Synchrotronstrahlung ist das Umgebungsmedium Vakuum, also $n = 1$, ausserdem gilt $L \gg D$ und $L \gg l$. Daraus folgt:

$$NA = n \sin \alpha \approx \frac{D/2}{L-l},$$

und damit ergibt sich für die Auflösung:

$$\Delta x_{min} = 0,61 \cdot \frac{\lambda \cdot L}{D/2}.$$

Hier ist die Auflösung also von der Wellenlänge, der Detektorgröße und dem Detektorabstand abhängig. Diese Parameter können jedoch nicht frei gewählt werden. Es gibt ein Optimum wenn der Detektor möglichst vollständig von der Airy Scheibe ausgeleuchtet wird. Die ist unter der Annahme, dass die Wellenlänge viel kleiner ist, als das Pinhole, nach [Barth08] bei einem Detektorabstand von

$$L = \frac{A \cdot D}{2,44 \cdot \lambda}$$

gegeben und ergibt eine numerische Apertur von

$$NA = 1,22 \cdot \frac{\lambda}{A}$$

und damit die Auflösung

$$\Delta x_{min} = \frac{A}{2}.$$

Die Auflösung ist also nur, wenn die Wellenlänge in der Größenordnung des Pinholes liegt von der Wellenlänge abhängig. Bei Wellenlängen, die deutlich kleiner als das Pinhole sind, und bei optimiertem Abstand zwischen Pinhole und Detektor, ist sie nur noch von der Pinholegröße abhängig [Barth08].

2.4.4 Pinholes

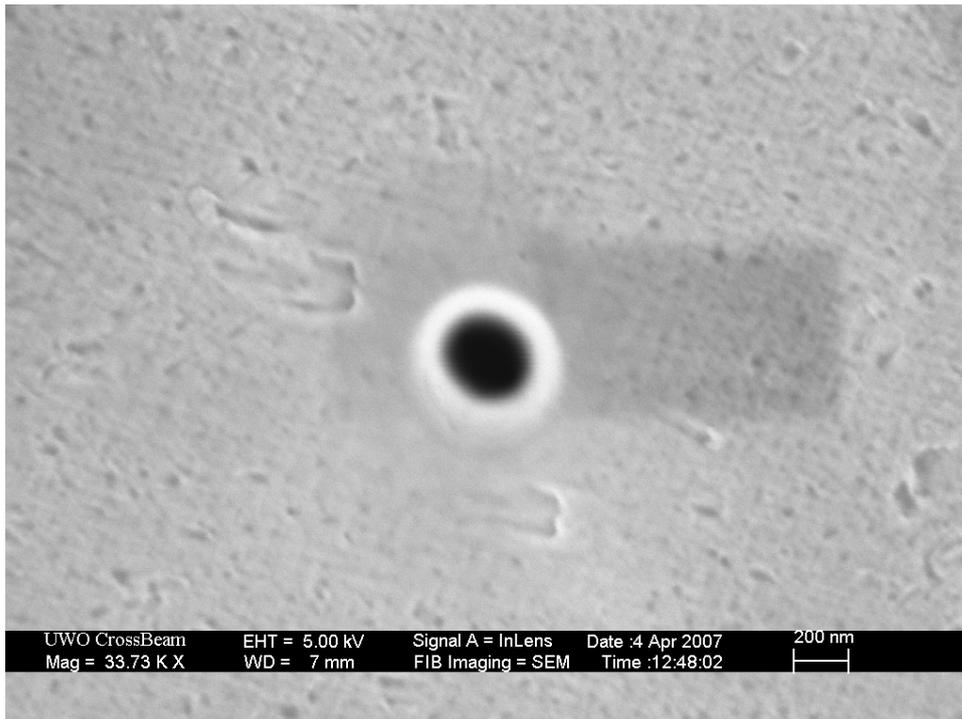


Abbildung 2.15: Rasterelektronenmikroskopiebild eines 250 nm Pinholes der dritten Generation in einer 2 µm dicken Goldfolie aus [Barth08].

Offensichtlich stellen die Pinholes also eine besonders kritische Komponente dar. Aus diesem Grund wurden sie im Verlauf der Vorexperimente

zum Bau der HORST-Kammer über mehrere Generationen weiterentwickelt [Barth08].

Bei der ersten Generation Pinholes handelte es sich um kommerzielle Lochblenden mit einem Durchmesser von 0,5 μm und 1 μm in einer Nickel Folie von 2,5 μm Dicke auf einer 127 μm dicken Edelstahlhalterung. Obwohl diese Pinholes sehr groß im Vergleich zur Wellenlänge sind, haben sie bei Photonenenergien von 90 eV bis 140 eV zu einer ausreichend großen Airy-Scheibe geführt. Bei diesen ersten Versuchen wurden jedoch auch prinzipielle Nachteile der kommerziellen Pinholes sichtbar: der Durchmesser A wurde nach

$$A = 1,22 \cdot \frac{L \cdot \lambda}{q}$$

aus dem Radius der Airy-Scheibe q , der Wellenlänge λ und dem Pinhole Detektor Abstand L bestimmt. Dabei zeigte sich, dass die Pinholes deutlich größer als vom Hersteller angegeben sind. Die wahre Pinholegröße betrug bei den mit 1 μm spezifizierten Pinholes $1,42 \pm 0,04 \mu\text{m}$ und bei den mit 0,5 μm spezifizierten $0,71 \pm 0,06 \mu\text{m}$ [Barth08]. Viel gravierender war jedoch die Tatsache, dass der direkte Strahl des Synchrotrons von der dünnen Nickel Folie nicht vollständig blockiert wurde und zu einem nicht zu rekonstruierenden, hellen, zentralen Fleck auf dem Detektor führte.

Bei der zweiten Pinholegeneration wurde deshalb die Nickel- durch eine Goldfolie ersetzt. Es wurden Edelstahlscheiben mit einer Dicke von 50 μm und einer zentralen Bohrung von 1,5 mm angefertigt, auf die dann eine 24 karätige 0,7 μm dicke Goldfolie aufgeklebt wurde. In diese Folien wurden dann mit einem fokussierten Ionenstrahl 400 nm große Löcher gebohrt. Dieses Verfahren erwies sich als sehr erfolgreich zur Produktion kleinerer Pinholes, allerdings war es mit der dünnen Goldfolie immer noch nicht möglich den direkten Synchrotronstrahl vollständig zu blockieren [Barth08].

Deshalb wurde bei der dritten Generation der Pinholes die Dicke der Goldschicht erhöht, indem auf die 700 nm dicke Goldfolie zusätzlich 1,3 μm Gold aufgedampft wurde, so dass die Gesamtdicke des Goldes 2 μm beträgt. In diese Goldschicht wurden wieder mit einem fokussierten Ionenstrahl Löcher gebohrt, diesmal mit einem Durchmesser von 250 nm. Diese Pinholes erwiesen sich dann als ausreichend, um den direkten Strahl zu absorbieren [Barth08]. Ein Pinhole der dritten Generation wird in Abbildung 2.15 gezeigt.

2.4.5 Röntgenholographie

Erste Experimente mit Röntgenholographie an einem Röntgenlaser mit einer Wellenlänge von 20,6 nm und 20,9 nm als kohärente Röntgenquelle und

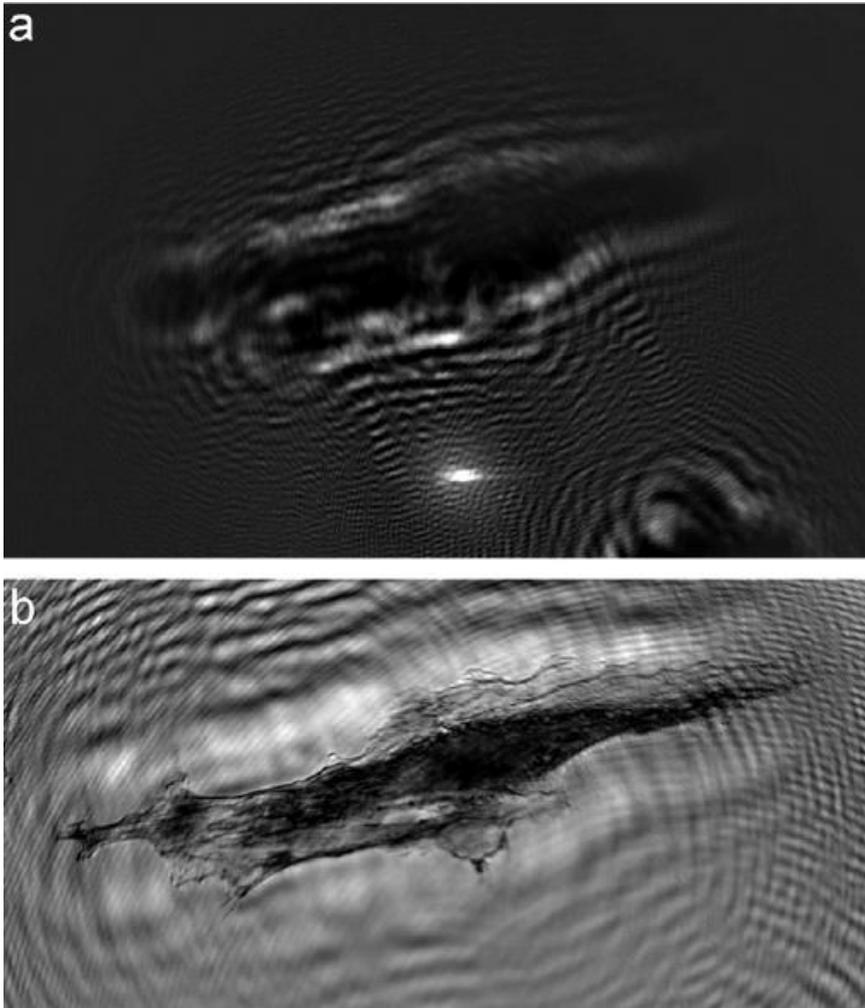


Abbildung 2.16: Hologramm (a) und Rekonstruktion (b) einer Fibroblastenzelle, aufgenommen bei 13,8 nm aus [Rosenhahn07].

Fotofilm als Detektor wurden bereits 1987 von [Trebes] anhand von Goldstrukturen auf einem Glaträger gezeigt. Dort wurde auch auf den Vorteil des materialspezifischen Kontrastes im Wasserfenster (2,3 nm bis 4,4 nm Wellenlänge) hingewiesen, allerdings konnten diese Wellenlängen mit dem verwendeten Röntgenlaser nicht erreicht werden.

Durchgeführt wurden erste Messungen in diesem Wellenlängenbereich an einer Synchrotron-Strahlungsquelle mit PMMA Fotolack als Detektor und Zymogenkörnchen als Probe von [Jacobsen90]. Hier konnte eine Auflösung von 56 nm erreicht werden. Komplexere biologische Objekte (Dia-

tomeen und Fibroblasten) wurden von [Lindaas] mit einer Auflösung von 40 nm bei einer Wellenlänge von 1,89 nm aufgenommen. Hier wurde ebenfalls Fotolack als Detektor verwendet, der mit Rasterkraftmikroskopie ausgelesen wurde.

Ein CCD Detektor, der die direkte digitale Rekonstruktion der Aufnahmen ermöglicht, kam für Röntgenholographie bei [Rosenhahn07] zum Einsatz, hier wurden ebenfalls Fibroblastenzellen als Probe bei einer Wellenlänge von 13,8 nm verwendet. Zur weiteren Verbesserung der Auflösung wurde Holotomographie im Wasserfenster erstmals von [Watanabe] bei einer Wellenlänge von 2,34 nm mit Wolframdrähten und fossilen Diatomeen als Proben gezeigt. Auch hier wurde ein CCD Detektor eingesetzt.

Fourierholographie, bei der ein Referenzloch oder Punkt die Referenzwelle generiert, wurde mit einer Zonenplatte von [McNulty] bei einer Wellenlänge von 3,4 nm an Goldstrukturen durchgeführt. Dabei wurde eine Auflösung von 60 nm erzielt. Auch magnetische Strukturen können auf diese Weise mit hoher Auflösung untersucht werden [Eisebitt].

2.4.6 Holographieaufbau bei BESSY

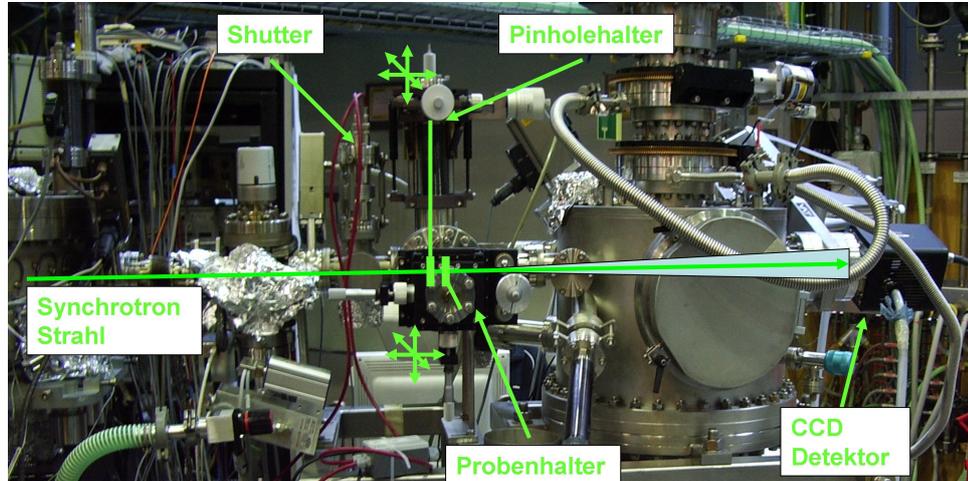


Abbildung 2.17: Testaufbau mit der Alice Kammer der Ruhr Universität Bochum [Grabis]. Zu sehen sind die zusätzlich angebrachten manuellen Manipulatoren für Pinhole und Probe, der Shutter und der CCD Detektor.

Für erste Testexperimente mit Synchrotronstrahlung wurde eine bereits vorhandene Vakuumkammer [Grabis] mit einem Röntgen-CCD-Detektor und manuellen Manipulatoren für Pinhole und Probe ausgestattet, wobei die

eigentliche Kammer nur als “Zwischenstück” für einen vergrößerten Kamerabstand verwendet wurde. Damit konnten Versuche mit unterschiedlichen Pinholes sowie zu materialspezifischem Kontrast durchgeführt werden und erste experimentelle Erfahrungen am Synchrotron gewonnen werden. So hat sich zum Beispiel die Halterung von Probe und Pinhole an langen Armen, die sich außerhalb des Vakuumsystems befinden als unpraktisch erwiesen, da diese sehr anfällig für mechanische und thermische Drift sind.

2.4.7 Materialspezifischer Kontrast

Bei den ersten Probemessungen bei BESSY konnte bereits ein großer Vorteil der Holographie mit Synchrotronstrahlung im Vergleich zur Licht- und Fluoreszenzmikroskopie gezeigt werden: materialspezifischer Kontrast. Dazu wurden Proben mit 2 μm großen Partikeln aus Polystyrol sowie Eisenoxid bei unterschiedlichen Photonenenergien (Wellenlängen) oberhalb (330 eV), auf (283 eV) und unterhalb (220 eV) der Kohlenstoff K-Absorptionskante aufgenommen (Abbildung 2.18). An der Absorptionskante wird der Brechungsindex der Polystyropartikel eins, ist also gleich dem Brechungsindex von Vakuum. Dadurch werden die Partikel bei dieser Photonenenergie im Hologramm unsichtbar. Aus bei verschiedenen Photonenenergien aufgenommenen Hologrammen können dadurch verschiedene Elemente unterschieden werden [Rosenhahn08] [Barth08]. Abbildung 2.19 zeigt farblich kodierte Bilder der Partikel korreliert mit Rasterelektronenmikroskopiebildern (REM). Auf diese Weise können materialspezifischer Kontrast und hohe Auflösung der REM Bilder kombiniert werden.

2.4.8 Streukammern

Verschiedene Apparaturen dienten als Vorbild für den geplanten Aufbau. Zum einen die in Abbildung 2.17 bereits gezeigte Alice-Kammer der Ruhr Universität Bochum [Grabis]. Sie ist zwar für den geplanten Aufbau zu klein, und auch von der Geometrie her als Goniometer, also winkelbasiert konstruiert, und nicht in einer rechtwinkligen Geometrie, die für die Holographie sinnvoller erscheint. Allerdings konnten bei den Experimenten mit dieser Kammer wertvolle Hinweise zum Arbeiten bei BESSY, zur Vakuumtechnik und Steuerung sowie zur Justage von Vakuumsystemen allgemein gewonnen werden.

Zum anderen aber auch das sich derzeit in der Entwicklung befindende Röntgenmikroskop bei BESSY [Guttmann]. Hier waren besonders die kommerziell erhältlichen Komponenten zum Kryotransfer und zum Bewegen

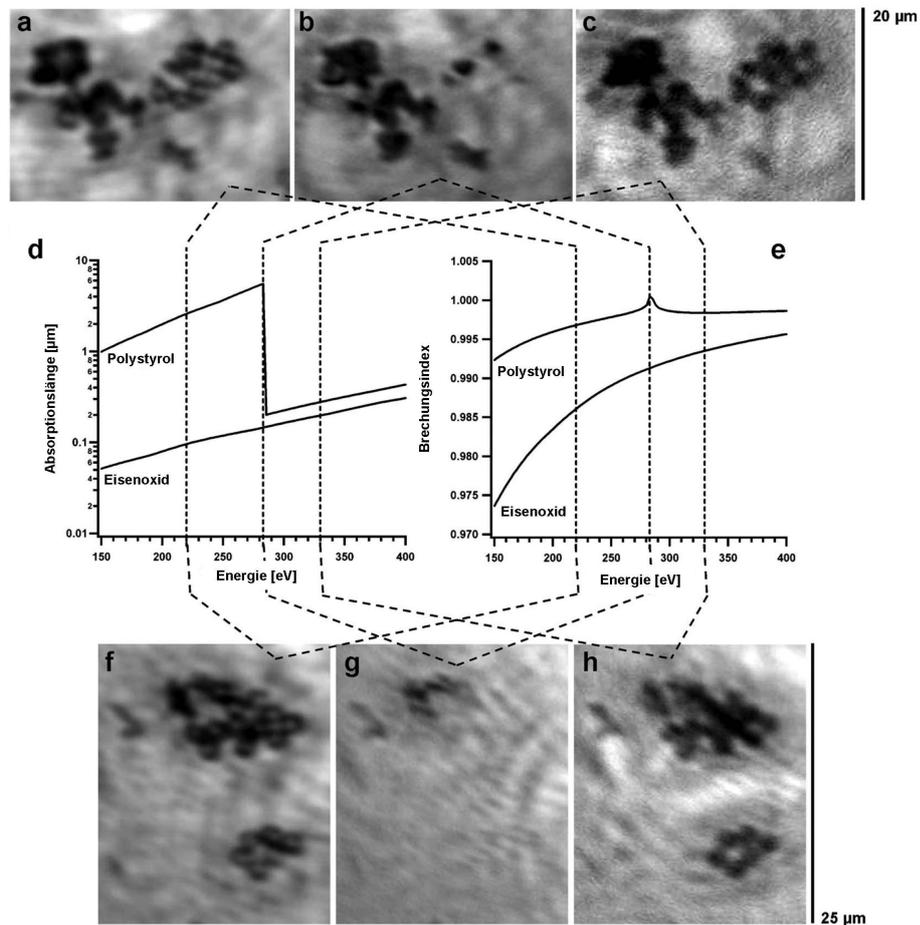


Abbildung 2.18: Unterscheidung verschiedener Elemente durch unterschiedlichen Kontrast bei verschiedenen Photonenenergien aus [Rosenhahn08]. Rekonstruktionen der Hologramme einer Probe aus 2 µm großen Polystyrol- und Eisenoxidpartikeln bei 220 eV (a und f), 283 eV (b und g) sowie 330 eV (c und h). Die Diagramme zeigen die Absorptionslänge (d) sowie den Brechungsindex (e) der beiden Materialien. Deutlich zu erkennen ist, dass die Polystyrolpartikel bei einer Photonenenergie von 283 eV nicht mehr sichtbar sind, da der Brechungsindex bei dieser Energie den Wert eins hat.

der einzelnen Elemente im Vakuum interessant. Deren Einsatz hätte die Entwicklung einer eigenen Apparatur zwar beschleunigt, diese wäre dann allerdings nicht so genau den Anforderungen der Holographie gefolgt, wie es bei einer Eigenentwicklung möglich ist. Weitere Röntgenmikroskope werden in [Kilcoyne] beschrieben.

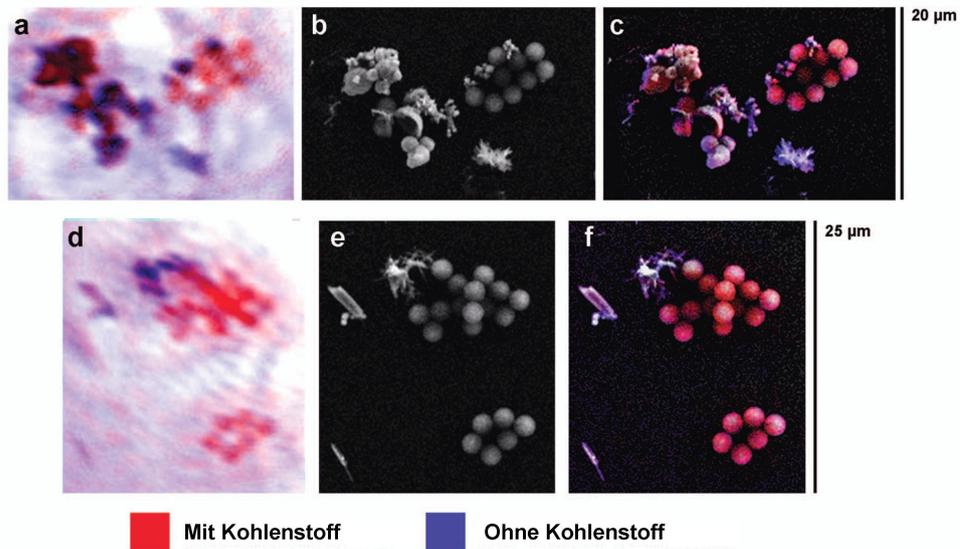


Abbildung 2.19: Materialspezifischer Kontrast einer Probe aus 2 µm großen Polystyrol- und Eisenoxidpartikeln aus [Rosenhahn08]. Farbig codierte Hologrammrekonstruktionen (a und d), Rasterelektronenmikroskopiebilder (b und e) sowie die Korrelation beider Verfahren (c und f).

Ein ähnlicher Aufbau für Kohärente Röntgenstreuung und Kryotomographie wurde von [Beetz] entwickelt und beschrieben.

Außerdem waren verschiedene andere Vakuumsysteme bei BESSY und DESY Grundlage für die geplante Apparatur. Es wurde dabei versucht aus allen bekannten technischen Lösungsansätzen die für die hier geplante Apparatur bestmögliche Lösung zu finden.

Kapitel 3

Aufbau

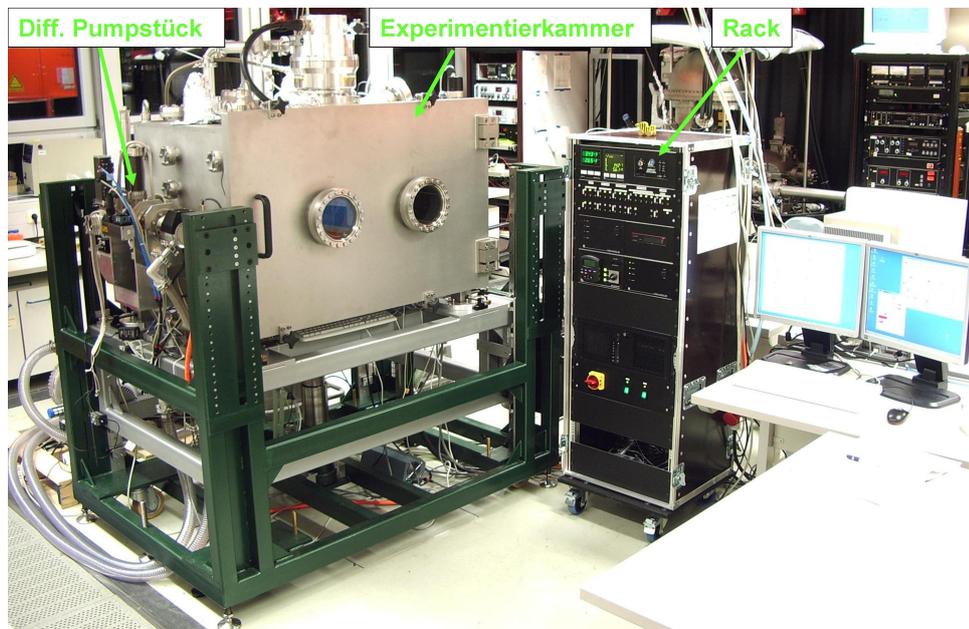


Abbildung 3.1: Foto der HORST-Apparatur. Von links nach rechts: Experimentierkammer mit differentiellem Pumpstück, Rack mit Steuer- und Überwachungsgeräten sowie Computer.

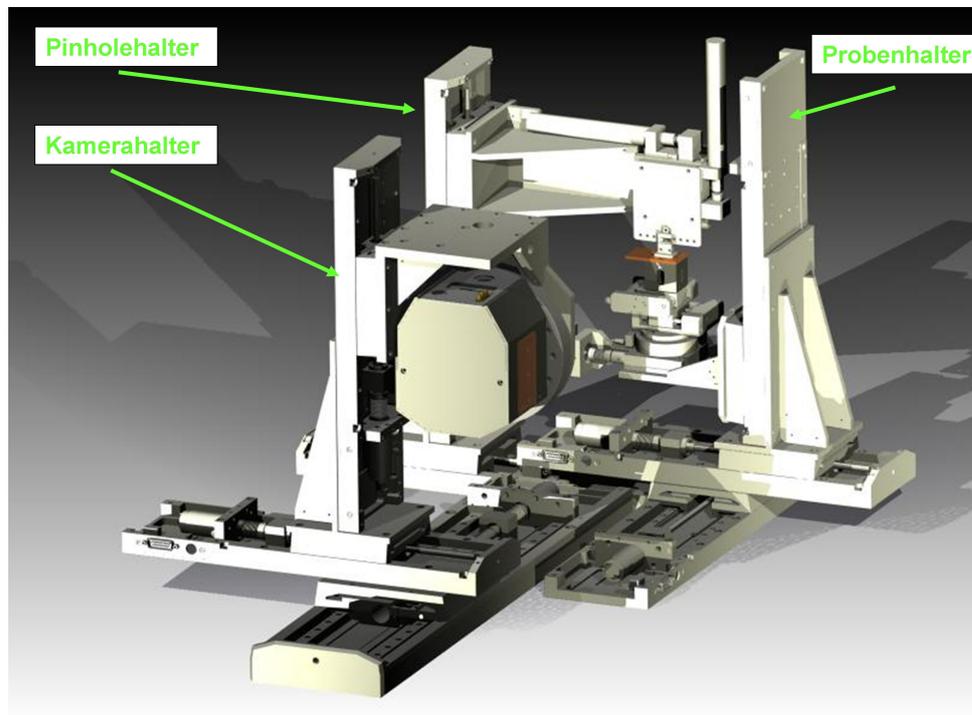


Abbildung 3.2: CAD Zeichnung der Verstelleinheiten. Im Vordergrund die Kamera mit Verfahrtsichen, im Hintergrund Proben- und Pinholehalter ebenfalls mit Tischen.

Planung, Beschaffung und Zusammenbau der Komponenten der *HORST*-Kammer (Holographie Röntgen Streukammer) sind ein zentraler Bestandteil dieser Arbeit. Zu Beginn wurde deshalb die komplette Apparatur per 3D-CAD-Software am Computer geplant. Dadurch konnten Schwierigkeiten wie Kollisionen der verschiedenen motorisierten Einheiten vermieden werden und die mechanische Funktion des gesamten Systems bereits vor dem Bau der ersten Komponente getestet werden. Außerdem wird die spätere Adaption neuer Komponenten deutlich vereinfacht. Diese Vorgehensweise ist bei der Planung einer komplexen Anlage wie der hier Vorgestellten unverzichtbar.

3.1 Planung

Die experimentelle Anordnung aus Shutter, Pinhole, Probe und Kamera stand zu Beginn der Planung bereits fest. Zunächst wurden dann die von der Kammer zu erfüllenden Kriterien zusammengestellt:

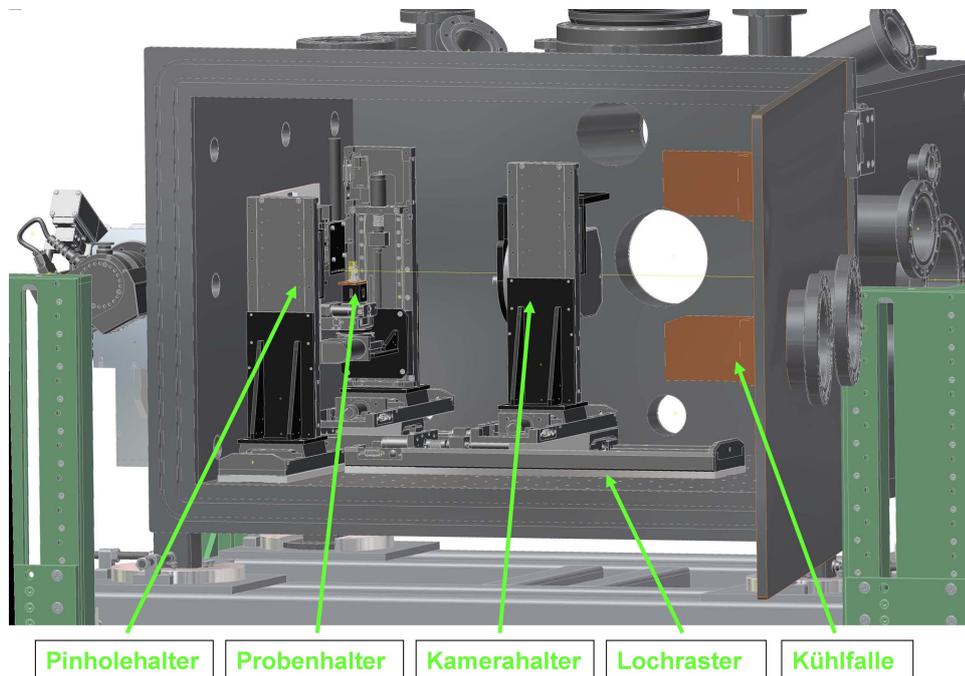


Abbildung 3.3: CAD Zeichnung der Vakuumkammer mit den Versteleinheiten. Links sind die Proben- und Pinholehalter mit Tischen, in der Mitte ist die Kamera ebenfalls mit Verfahrtschienen, Rechts ist die Kühlfalle.

- Die Kammer soll möglichst flexibel für spätere Änderungen im Versuchsaufbau und Adaptionen an andere Verfahren, wie zum Beispiel Kohärente Röntgenstreuung sein.
- Eine möglichst hohe Driftstabilität zwischen Pinhole, Probe und Kamera, um lange Aufnahmezeiten zu gewährleisten.
- Aus dem selben Grund größtmögliche Vibrationsfreiheit.
- Ein sehr kleiner Minimalabstand zwischen Probe und Pinhole für sehr hohe Vergrößerungen.
- Die Kammer soll transportabel und an verschiedenen Beamlines ohne Umbauten einsetzbar sein.
- Die Kammer soll die Vakuum- und Sicherheitsrichtlinien von DESY sowie BESSY erfüllen. Dies schließt ein Interlock System, das an den

Druck sowie die Drehzahl der Turbomolekularpumpe gekoppelt ist, ein.

- In einer späteren Ausbaustufe soll ein Kryotransfersystem angebaut werden können.
- Der experimentelle Aufbau durfte insgesamt einen vorgegebenen Kostenrahmen nicht überschreiten.

Nach diesen Anforderungen wurde entschieden, die Kammer als einen drift- und thermisch stabilen optischen Tisch im Vakuum zu gestalten. Die Verstelleinheiten für die einzelnen Komponenten sollten sich alle im Vakuum befinden und motorisiert sein. Die weitere Planung erfolgte dann von einem zentralen Punkt, dem Probenhalter, aus. Hier wurde zuerst eine Kryotransferhalterung entwickelt, die in der Lage ist die verwendeten Siliziumnitridmembranen im kalten (-196°C) Zustand aufzunehmen und in der Kammer automatisch auszutauschen. Danach wurden die Verstelleinheiten nach den benötigten Freiheitsgraden, Verfahrenswegen und Belastbarkeiten ausgewählt und angeordnet (Abbildung 3.3). Zuletzt wurde die eigentliche Vakuumkammer mit den benötigten Flanschen, das differentielle Pumpstück und das Gestell um den inneren Aufbau herum entwickelt.

3.2 Kryotransfersystem

Ein Kryotransfersystem für die Einschleusung von Proben im gefrorenen Zustand ist für die Untersuchung biologischer Proben zwingend notwendig um diese, wie in der Kryoelektronenmikroskopie mit möglichst wenig Veränderung der Struktur, abbilden zu können [Sartori] [Grimm]. Dieses System ist bereits geplant, gezeichnet und zum Teil auch gebaut worden. Bislang kommt allerdings die weit verbreitete, aber bei weitem nicht so schonende Präparation durch Trocknung der Proben am kritischen Punkt zum Einsatz.

3.2.1 Plunge Freezer

Der Plunge Freezer wurde uns von der Abteilung Baumeister des Max Plank Institutes für Biochemie zur Verfügung gestellt. Er dient dazu die Proben sehr schnell, das heißt bevor das enthaltene Wasser kristallisieren kann, einzufrieren. Dabei werden die Siliziumnitrid Membranen mit einer Eintauchgeschwindigkeit von bis zu 10 m/s in flüssiges Ethan, das eine deutlich höhere Wärmekapazität als flüssiger Stickstoff hat, getaucht. Zunächst wird

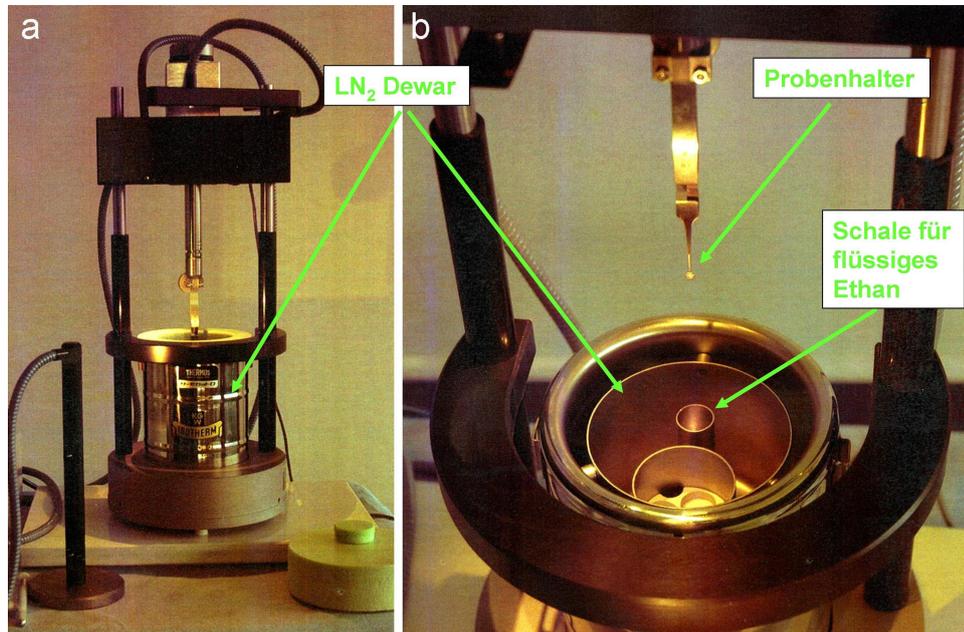


Abbildung 3.4: Foto des Plunge Freezers. Zu erkennen sind der größere Dewar für den flüssigen Stickstoff, sowie der kleine Behälter für das flüssige Ethan. Der Probenhalter befindet sich für die Präparation der Membran oberhalb des Dewars (rechts) und wird zum schnellen Einfrieren elektromagnetisch entriegelt und in das Ethan abgesenkt (links). Der Plunge Freezer wurde uns von der Abteilung Baumeister des Max Plank Institutes für Biochemie zur Verfügung gestellt.

dazu der Dewar des Plunge Freezers mit flüssigem Stickstoff gefüllt (Abbildung 3.4), und in dem eingebauten, kleineren Behälter Ethan, das normalerweise gasförmig vorliegt, kondensiert. Dann wird die Siliziumnitrid Membran am Plunge Freezer befestigt, leicht getrocknet und elektrisch entriegelt, so dass sie mit der nötigen Geschwindigkeit in das Ethan eintaucht. Erste Experimente zeigen, dass dieses Verfahren auch mit den von uns verwendeten, dünnen Membranen funktioniert.

3.2.2 Transferhalter

Das Kryotransfersystem soll ein Einschleusen der gefrorenen Probe in die Experimentierkammer ohne Erwärmung und mit möglichst geringen Kondensationen auf der Probe gewährleisten. Außerdem soll die Probe für holographische Aufnahmen mit hohen Vergrößerungen möglichst dicht an das

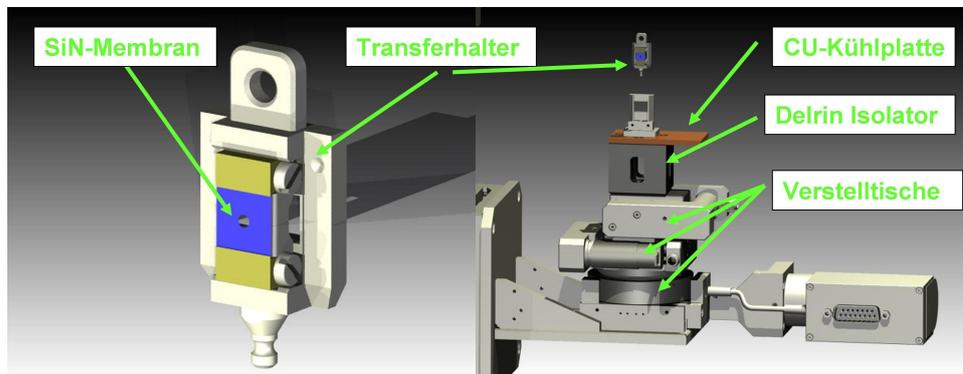


Abbildung 3.5: CAD Zeichnung des Kryotransfersystems. Links ist der Halter für die Siliziumnitrid Membranen (Blau) im Transferschlitten, rechts der gesamte Probenhalter mit der Anschlussplatte für die Kühllitzen aus Kupfer und dem thermischen Isolationsstück aus Delrin abgebildet.

Pinhole herangefahren werden können. Aus diesem Grund wurde ein spezieller Probenhalter für die Aufnahme der Siliziumnitrid Membranen entwickelt. Dieser Halter überragt die Probe in Richtung Pinhole nur um 0,1 mm, erlaubt also sehr kleine Pinhole- Probenabstände und wird von einem Transferschlitten aufgenommen (Abbildung 3.5 links). Der Schlitten verfügt am oberen Ende über eine Öse, mit der er von einem Transferarm auf dem Weg in die Kammer gehalten wird. Am unteren Ende befindet sich ein Zapfen, der den Schlitten in der Halterung des Probenarmes zentriert (Abbildung 3.5 rechts). Unterhalb dieser Halterung befindet sich dann eine Kupferplatte zur Aufnahme von Litzen, die die Wärme des Probenhalters zu einer flüssigstickstoffgefüllten Kühlfalle ableiten sollen. Um das ganze System thermisch vom Arm des Probenhalters mit den Verstelltischen zu trennen, wurde ein Isolationsblock aus Delrin angefertigt. Dieses Material verfügt bei guter Stabilität und Vakuumtauglichkeit über eine sehr geringe Wärmeleitfähigkeit.

3.3 Experimentierkammer

Hauptbestandteil der Apparatur ist die Experimentierkammer mit den Innenmaßen 1000 x 700 x 600 mm. Sie verfügt über eine große Tür, die sich über eine komplette Seitenwand erstreckt und durch zwei Viton Ringe mit Zwischenabsaugung gedichtet wird. Dadurch ist ein einfacher und schneller Zugriff auf alle Komponenten im Inneren der Vakuumkammer möglich.

Durch den Boden der Experimentierkammer wurde ein thermisch stabiler optischer Tisch im Vakuum realisiert. Außen besitzt er Wasser gefüllte Kanäle, durch die die Temperatur konstant gehalten werden kann. Im Inneren befindet sich ein 50 mm Lochraster aus M6 Gewindebohrungen, die eine flexible Montage aller Komponenten ermöglichen. Die technischen Zeichnungen der Kammer sind in Anhang A enthalten.

3.3.1 Motorisierte Verfahrtsche

Um Pinholes, Proben und die Kamera im Vakuum zu bewegen kommt ein System aus 13 motorisierten Verfahrtschen zum Einsatz. Sie wurden mit vakuumtauglichen Motoren und Kabeln sowie vakuumdicht vergossenen Platinen ausgestattet. Dabei wurden mit Gleichstrom betriebene Getriebemotoren verwendet, da diese im Unterschied zu Schrittmotoren im Ruhezustand keinen Strom benötigen und so keine Abwärme und damit keine thermische Drift der Verstelleinheiten verursachen. Um für die Ansteuerung 13 Stromdurchführungen zu vermeiden wurden die Controller der Verfahrtsche ebenfalls vakuumtauglich vergossen, so dass sie in der Experimentierkammer eingebaut werden können und nur zwei Stromdurchführungen für die Energieversorgung sowie für eine serielle Schnittstelle zum Senden der Steuerbefehle und Auslesen der Positionen notwendig sind. In Abbildung 3.6 sind die Controller in einem dafür konstruierten Halter unter der Kammerdecke angebracht zu sehen.

Der Pinholehalter (Abbildung 3.8 links) besteht aus drei motorisierten Tischen mit insgesamt vier Achsen. Die Pinholes können mit zwei Tischen (M-505.3VG, Physik Instrumente) mit jeweils 150 mm Verfahrweg orthogonal zum Röntgenstrahl verschoben sowie mit einem zweiachsigen Kipptisch (M-042.VG, Physik Instrumente) um jeweils $\pm 9^\circ$ gekippt werden. Dabei haben die Verschiebeachsen einen so großen Verfahrweg, dass verschiedene Pinholes gleichzeitig montiert und ohne die Experimentierkammer zu belüften verwendet werden können, und der Pinholehalter bei Bedarf auch ganz aus dem Strahl gefahren werden kann. Die beiden Kippachsen sind erforderlich, um auch nicht orthogonal in das Trägermaterial gebohrte Pinholes parallel zum Röntgenstrahl auszurichten.

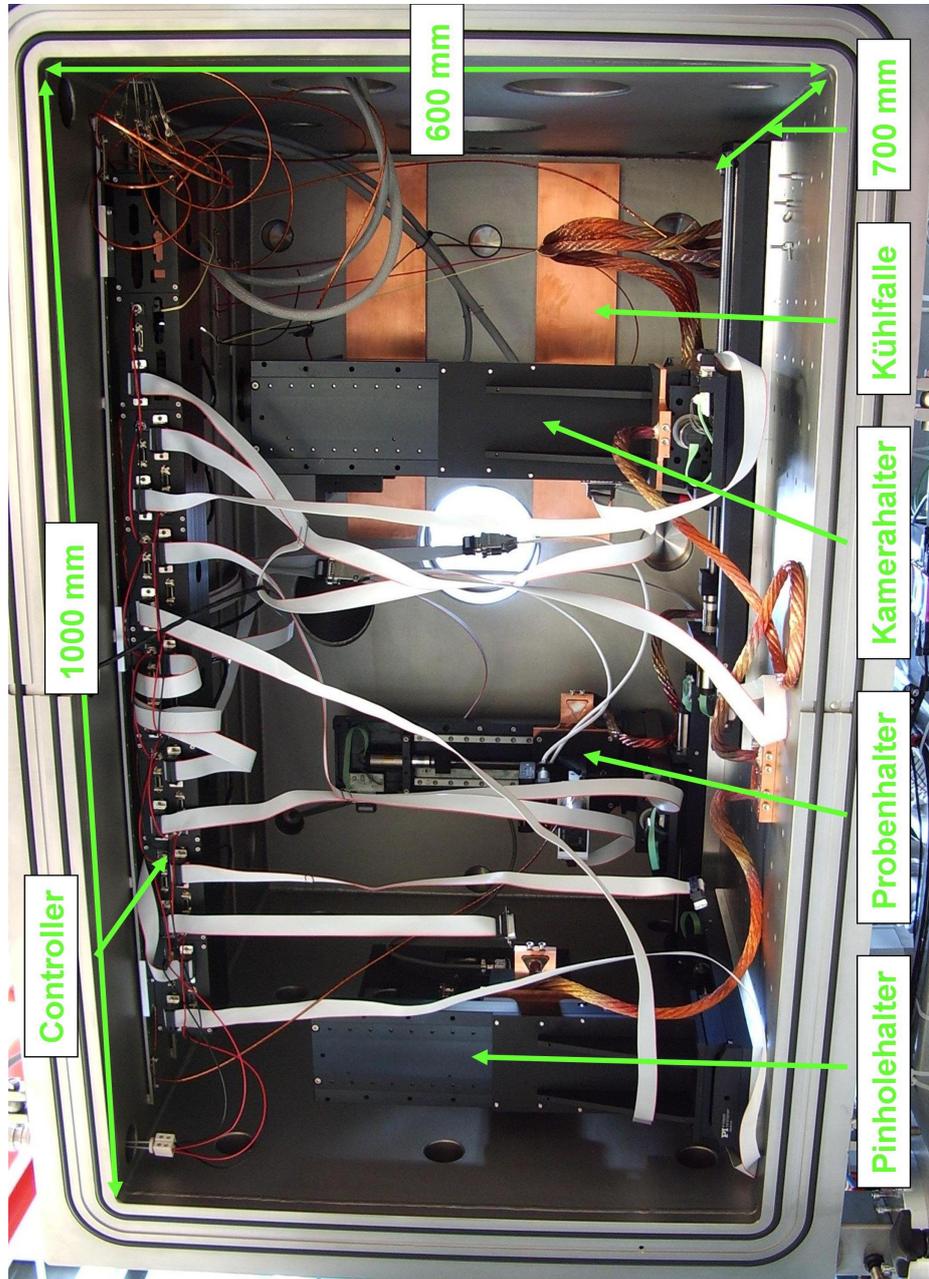


Abbildung 3.6: Foto der Experimentierkammer. Links der Pinholehalter, daneben der Probenhalter, rechts der Kamerahalter. Oben im Bild sind die Controller für die Verfahrtsche zu erkennen.

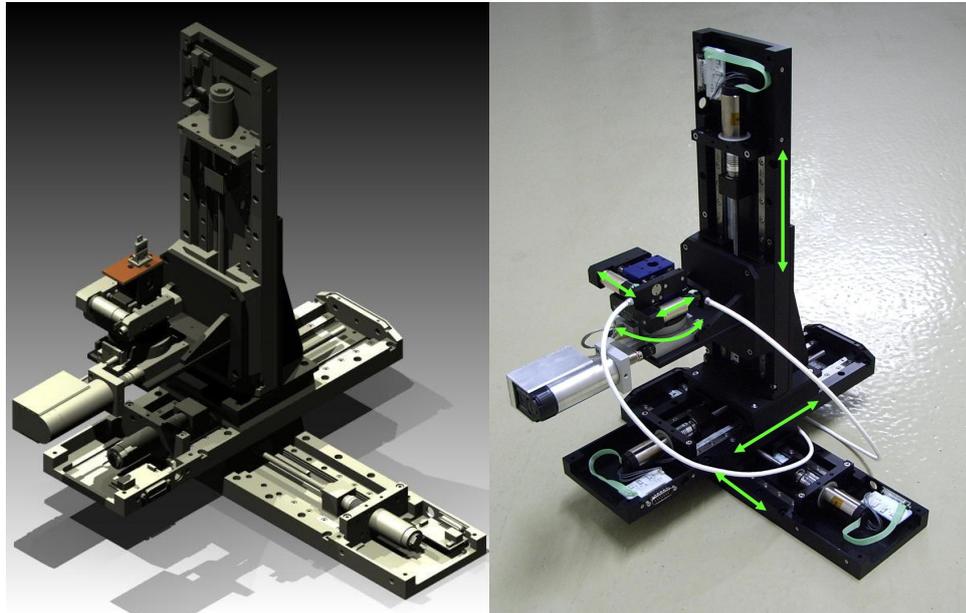


Abbildung 3.7: CAD Zeichnung (links) und Foto (rechts) des Probenhalters mit drei großen Linearverstellern für alle Raumachsen, Drehtisch für die Tomographie und zwei kleinen Linearverstellern.

Der Probenhalter (Abbildung 3.7) verfügt über drei Linearversteller (M-505.3VG, Physik Instrumente) mit jeweils 150 mm Verfahrweg für alle drei Raumachsen. Außerdem sind für die Tomographie ein Rotationstisch (M-037.VG, Physik Instrumente) mit 360° Drehwinkel sowie zwei weitere, kleine Linearversteller (M-111.VG, Physik Instrumente) mit 15 mm Verfahrweg auf der Drehachse montiert, um die Position der Drehachse auf den zu untersuchenden Bereich in der Probe einzustellen.

Der Kamerahalter (Abbildung 3.8 rechts) verfügt ebenfalls über drei Linearversteller für alle drei Raumachsen. Dabei wurde auf einen besonders langen Verfahrweg von 300 mm (M-531.VG, Physik Instrumente) entlang der Strahlachse Wert gelegt um bei unterschiedlichen Pinholegrößen und verschiedenen Wellenlängen den CCD Chip optimal ausleuchten zu können. Die beiden anderen Achsen sind mit Tischen mit 150 mm Verfahrweg (M-505.3VG, Physik Instrumente) ausgestattet.

3.3.2 Shutter und Kamera

An der Kammerwand montiert ist ein vakuumtauglicher UniBlitz Röntgen-shutter mit 5 mm Apertur und einer Verschlusszeit von 100 ms. Er ist über

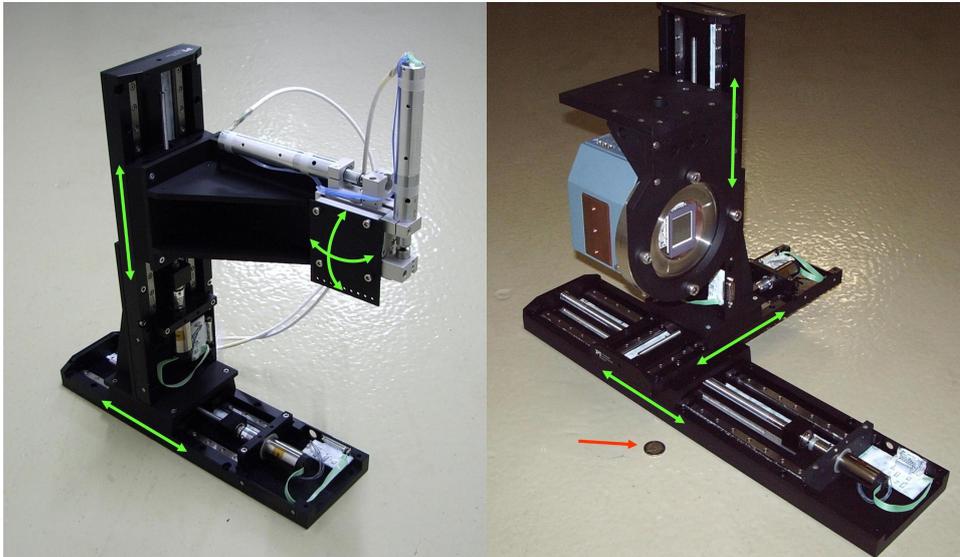


Abbildung 3.8: Links: Foto des Pinholehalters mit zwei Linearverstellern sowie zweiachsigem Kipptisch. Rechts: Foto des Kamerahalters mit drei Linearverstellern in allen drei Raumachsen und Kamera. Zum Größenvergleich daneben eine 2 Euro Münze.

ein Steuergerät direkt mit der Kamera verbunden und öffnet so genau während der Belichtung.

Als Kamera kommt ein hintergrundbeleuchteter 2048x2048 Pixel Röntgen-CCD-Detektor der Firma Andor zum Einsatz. Die verwendete Spezialanfertigung kann über einen CF100 Flansch sowohl außerhalb der Kammer als auch komplett im Vakuum eingesetzt werden. Die Kühlung des Chips auf bis zu -60°C erfolgt durch ein integriertes, dreistufiges Peltierelement. Die dabei entstehende Abwärme wird beim Einsatz außerhalb des Vakuums direkt durch Kühlwasser abgeführt, beim kompletten in-Vakuum Einsatz der Kamera ist dies nicht möglich, da die Vakuumrichtlinien bei FLASH wasserführende Schläuche innerhalb der Vakuumkammer nicht erlauben. Die Abfuhr der Wärme (bei voller Kühlleistung der Peltier Elemente bis zu 100 W) wurde deshalb über vier sauerstofffreie Kupferlitzen mit einem Querschnitt von je 50 mm^2 realisiert, die mit der Flüssigstickstoff gefüllten Kühlfalle verbunden sind. Dieses System ermöglicht durch die große Temperaturdifferenz dT von 216°C und die hohe Wärmeleitfähigkeit von sauerstofffreiem Kupfer von $\lambda = 401\text{ W/mK}$ bei einer Kabellänge dx von

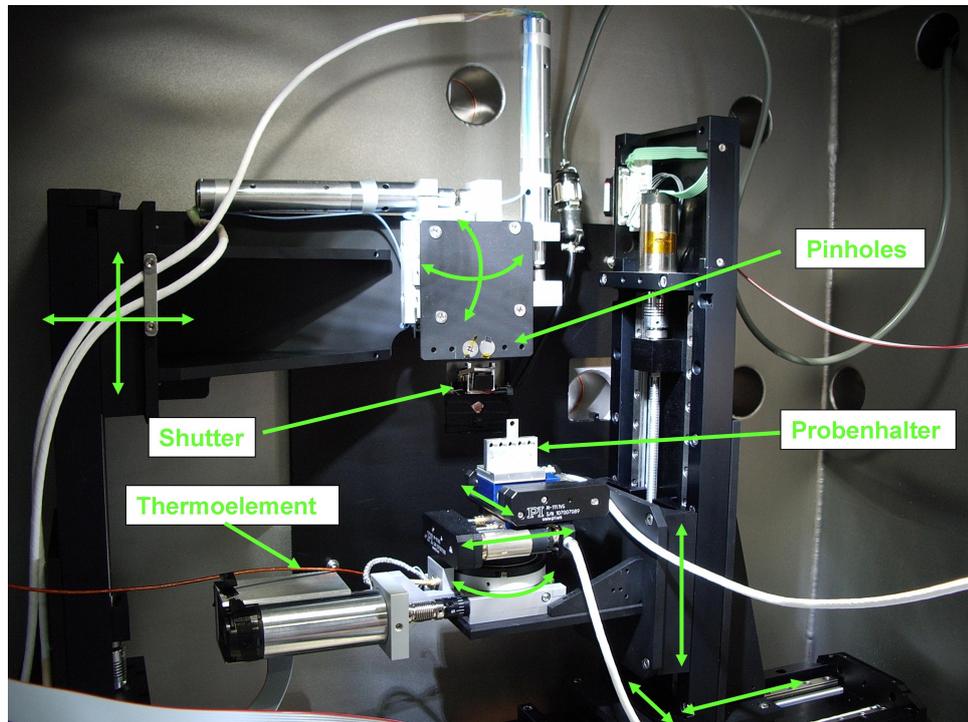


Abbildung 3.9: Foto des Pinhole- und Probenhalters. Oben und links sind die Verfahrtische des Pinholehalters zu erkennen unten und rechts sieht man den Probenhalter. In der Mitte befindet sich der Röntgenshutter.

60 cm nach [Demtröder]

$$\frac{dQ}{dt} = -\lambda \cdot q \cdot \frac{dT}{dx}$$

die Abgabe einer Wärmemenge $\frac{dQ}{dt}$ von 29 W ohne die Bewegungsfreiheit der Kamera im Vakuum einzuschränken. Diese Wärmeleitung reicht aus, um die von der Kamera durchschnittlich umgesetzte Leistung von 20 W abzuführen.

3.3.3 Steuersoftware

Die Software zur Steuerung der Verfahrtische wurde komplett in Visual Basic geschrieben. Sie erlaubt es die Tische sowohl absolut zu positionieren, als auch relativ zur aktuellen Position mit beliebiger Schrittweite und Geschwindigkeit zu verfahren. Außerdem können die Bewegungsparameter der Tische wie Beschleunigung und Maximalgeschwindigkeit eingestellt

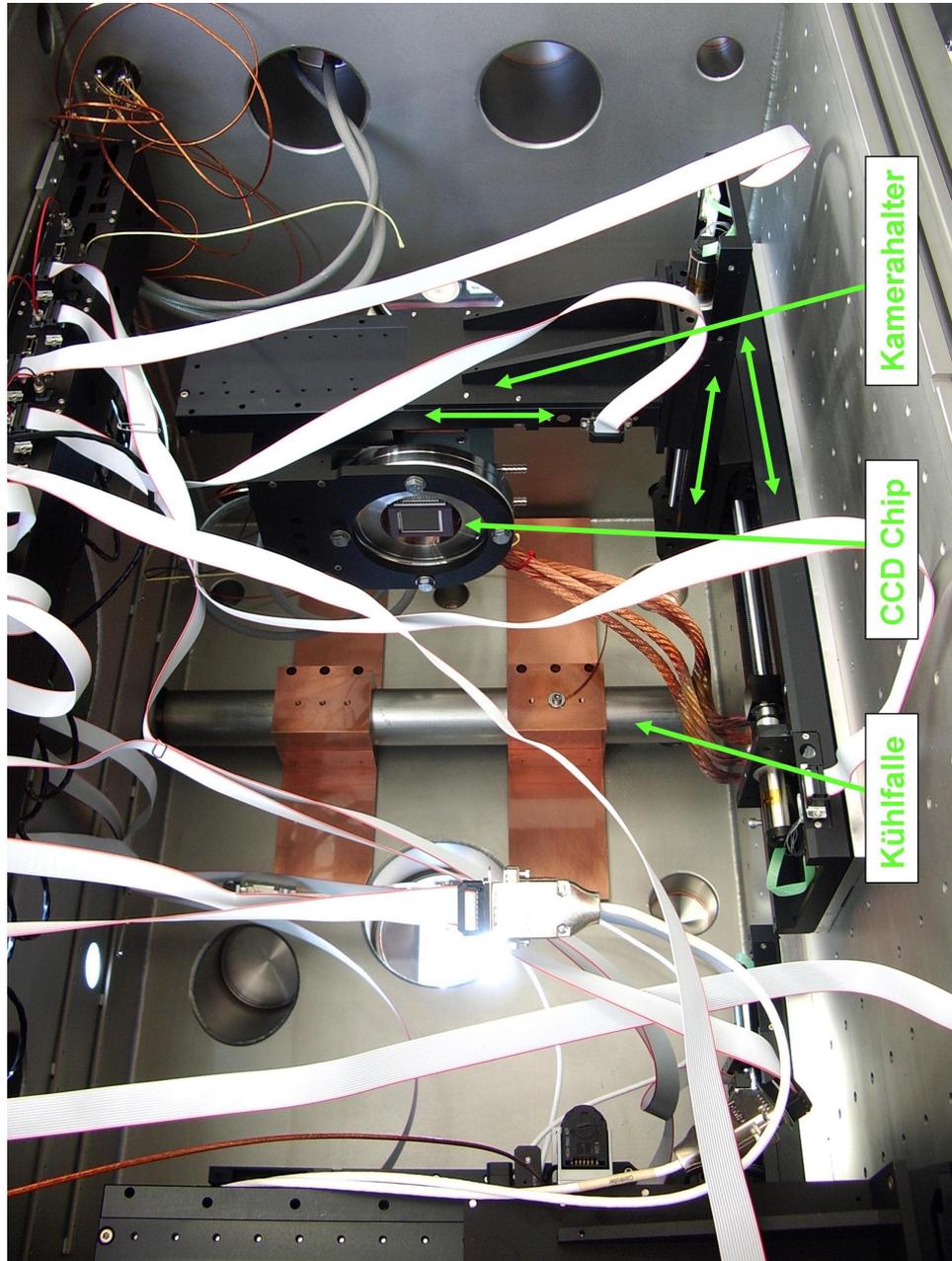


Abbildung 3.10: Foto des Kamerahalters mit montierter Kamera. In der Mitte des runden Halters ist der CCD-Chip zu erkennen. Im Hintergrund ist die Kühlfalle mit Kupferflügeln zum Vergrößern der Oberfläche.

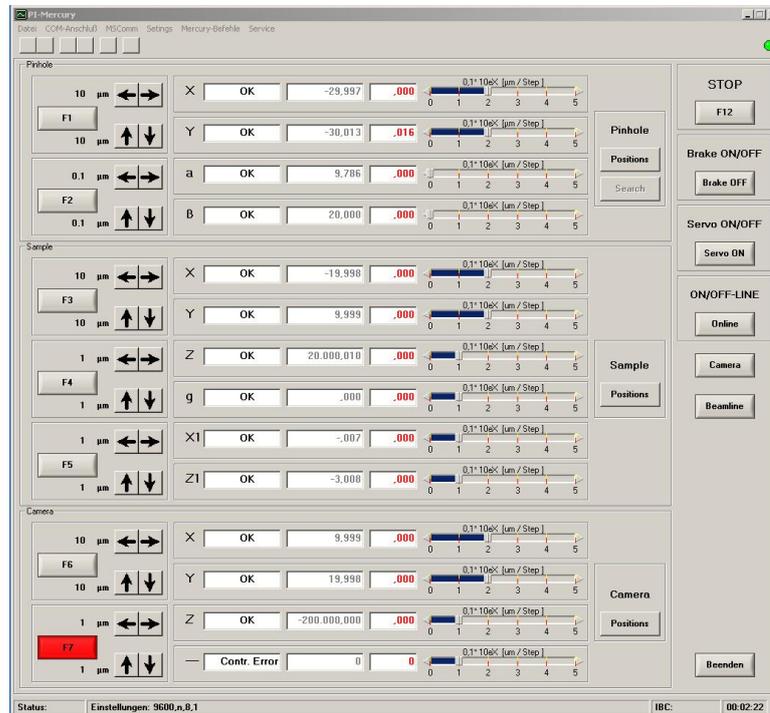


Abbildung 3.11: Steuerfenster für die Verfahrtsche zur Eingabe der Sollposition und der Schrittweite sowie der Information über die aktuelle Position jedes einzelnen Verfahrtsches.

werden. Positionen von Interesse, zum Beispiel einmal gefundene Pinholes, oder interessante Stellen der verschiedenen Proben können gespeichert werden. Sie können dann später per Knopfdruck mit hoher Präzision wieder angefahren werden.

In die Software integriert wurde ein Modul mit dem die Kamera angesprochen werden kann. Es ermöglicht die Steuerung von Belichtung, Shutter, Auflösung und Auslesegeschwindigkeit und verfügt über einfache Möglichkeiten der Bildanalyse, wie zum Beispiel variable Zoom- und Kontrasteinstellungen, um die Qualität der Aufnahme direkt beurteilen zu können. Ebenfalls integriert wurde eine Funktion zur automatischen Suche der Pinholes. Dabei fährt das Pinhole eine größer werdende Spirale bei der nach einem einstellbaren Abstand jeweils ein Bild aufgenommen wird. Die akkumulierte Gesamtintensität dieses Bildes wird dann als Intensität an dem zur Pinholeposition der Aufnahme korrelierten Pixel gespeichert. Auf diese Weise entsteht praktisch eine Übersichtskarte der Transmission des Pinholehalters, und die Pinholes können leicht automatisch lokalisiert werden.

Position	X [µm]	Y [µm]	alpha	beta	Comment
Referenz	-29.997	-30.013	9.786	20.000	
Pos 0	-28.447.790	39.934.210	10.000	20.000	-
Pos 1	-28.646.020	32.380.080	.000	.000	P1 1µm Pinhole
Pos 2	-6.882.989	31.680.130	.000	.000	P3 250 nm Pinhole
Pos 3	-17.286.030	31.642.170	.000	.000	P2 400 nm Einzelpinhole
Pos 4	4.226.992	31.640.130	.000	.000	P4 400 nm Einzelpinhole
Pos 5	16.300.280	29.400.000	.000	.000	-
Pos 6	-17.087.820	35.604.220	10.000	20.000	P2 400 nm Einzelpinhole ALT
Pos 7	15.458.050	31.338.040	.000	.000	P5 400nm Doppelpinhole
Pos 8	25.337.130	37.900.140	10.000	20.000	Zonenplatte ALT
Pos 9	8.999.969	28.899.940	.000	.000	-

Abbildung 3.12: Positionsspeicher für die Verfahrtsche. Fenster zum speichern und abrufen der Positionen verschiedener Pinholes.

Die Steuerung für Undulator und Monochromator den Beamline UE52 bei BESSY wurde ebenfalls in die Software integriert, so das in Zukunft auch spektroskopische Bildserien automatisch aufgenommen werden können.

3.4 Vakuumtechnik

Da die für diese Arbeit verwendete weiche Röntgenstrahlung im Bereich von 100 eV bis 1000 eV durch Luft, insbesondere durch den Sauerstoff der Luft, stark absorbiert wird, und keine stabilen Fenster mit hoher Transmission erhältlich sind, muß die gesamte Apparatur eine direkte Vakuumverbindung zur Strahlquelle (Undulator) besitzen. Das setzt natürlich für den Versuchsaufbau auch eine Vakuumkammer voraus, welche die speziellen Anforderungen der benutzten Strahlrohre (Beamlines) erfüllen muß.

3.4.1 Anforderungen an das Vakuumsystem

Zunächst wurden die Anforderungen der verschiedenen Strahlquellen an die Vakuumtechnik des Experimentes zusammengefasst. Diese sind im Allgemeinen bei Beschleunigern:

- Ölfreies Vakuum - alle verwendeten Pumpen müssen ölfrei sein.
- Interlock - es muss ein potentialfreier Interlock Ausgang vorhanden sein, welcher den Zustand der Turbomolekularpumpe sowie den Druck im differentiellen Pumpstück an das Überwachungssystem der Beamline meldet.
- Der Druck im System darf bestimmte, strahlrohrabhängige Grenzen nicht überschreiten.
- Innerhalb der Vakuumkammer dürfen sich keine flüssigkeitsführenden Schläuche befinden.

Bei der hier vorgestellten *HORST* Kammer wurde zunächst vom Einsatz an der Beamline UE52 bei BESSY sowie vom Einsatz an einem beliebigen Strahlrohr bei FLASH (DESY) ausgegangen. Dabei war bei BESSY vor allem der zu erreichende Druck im Strahlrohr von $5 \cdot 10^{-9}$ mbar kritisch, bei FLASH hingegen wurde auf eine erweiterte Interlockfunktion und die Staubfreiheit der Apparatur gemäß Reinraumspezifikation Wert gelegt. Der Druck ist hier mit $1 \cdot 10^{-6}$ mbar nicht so kritisch, da die Strahlrohre an sich bereits über differentielle Pumpstufen verfügen.

Eine weitere Anforderung an das Vakuumsystem von unserer Seite war eine einfache Zugangsmöglichkeit zum Experiment in Form einer großen Tür, so dass Umbauten und Reparaturen auch während einer Strahlzeit möglichst zeitsparend durchgeführt werden können. Zusätzlich wurde eine kurze Abpumpzeit angestrebt.

Auch wurde die in einer späteren Ausbaustufe vorgesehene Kryotransfereinheit bereits bei der Planung berücksichtigt, ein vorläufiges Konzept erstellt und ein Teil der benötigten Komponenten (Druckmessungen, Vakuumpumpen und Ventile) bereits beschafft.

3.4.2 Ausgasraten und Pumpleistungen

Bereits während der Planung der Experimentierkammer wurden mit mehreren Komponenten erste Tests durchgeführt, um Funktion und Vakuumtauglichkeit zu bestimmen. Dazu kamen zwei verschiedene Systeme zum Einsatz: eine große, an die Flood Gun Apparatur angekoppelte Vakuumkammer

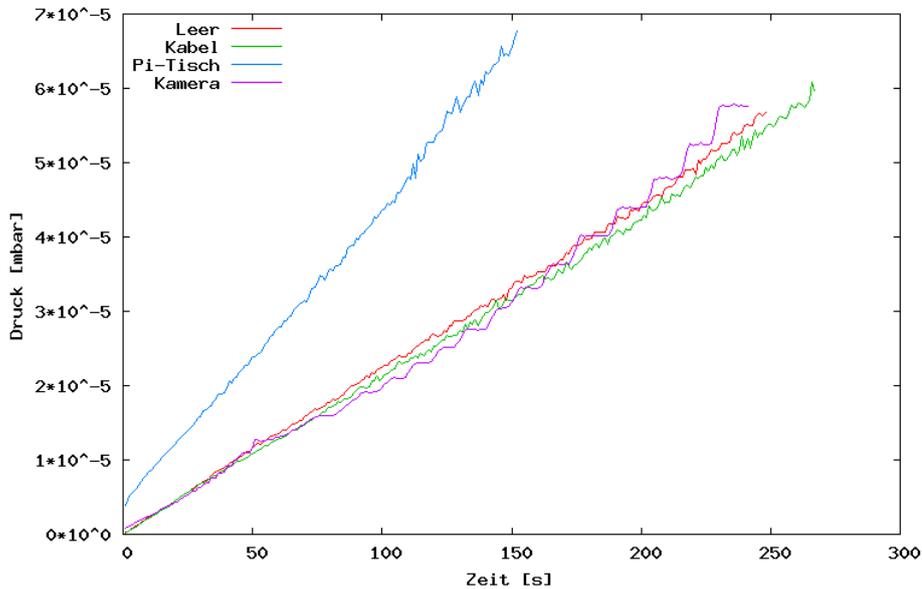


Abbildung 3.13: Druckanstiegskurven von Teflonkabel, Pi-Verfahrtisch (M-505.3VG) und Kamera in der großen Testkammer.

mit einem Volumen von 31,1 Litern, und ein kleineres Kreuzstück mit einem Volumen von 3,9 Litern. Beide Kammern waren mit einer Turbomolekularpumpe mit einer Saugleistung von 300 l/s und einem Ventil, um diese Pumpe von der Kammer zu trennen, ausgestattet. Außerdem verfügten sie über eine Druckmessung. Zunächst wurden nun die Ausgas- und Leckraten der leeren Kammern bestimmt, indem die Geschwindigkeit des Druckanstieges nach dem Schließen des Ventiles gemessen wurde. Die Leck- beziehungsweise Ausgasrate berechnet man dabei nach

$$\frac{dp}{dt} = \frac{q_L + q_A}{V}$$

(Vgl. Kapitel 2.1.2). Plots der Druckanstiegskurven verschiedener Bauteile in der großen Testkammer sind in Abbildung 3.13 aufgetragen, die Druckanstiegskurven in der kleinen Testkammer in Abbildung 3.14. Es ergaben sich die in Tabelle 3.1 angegebenen Ausgasraten.

Alle getesteten Komponenten erwiesen sich damit als ausreichend vakuumtauglich.

Kritisch ist hier besonders der motorisierte Verstelltisch mit einer Ausgasrate von $1,3 \cdot 10^{-5}$ mbar l/s sowie der Controller mit einer Ausgasrate von $2,3 \cdot 10^{-5}$ mbar l/s zu betrachten, da die Kammer in der ersten Ausbaustufe über 13 motorisierte Achsen mit Controllern verfügt, diese Kompo-

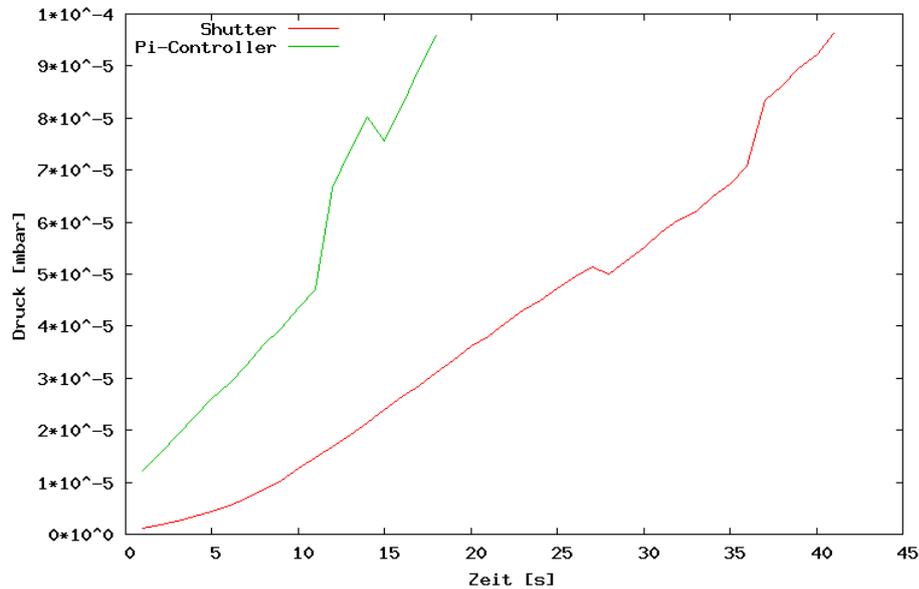


Abbildung 3.14: Druckerhöhungskurven von Shutter und PI-Controller in der kleinen Testkammer.

Komponente	Drukerhöhung [mbar/s]	Ausgasrate [mbar l/s]
Große Testkammer leer	$2,2 \cdot 10^{-7}$	$6,8 \cdot 10^{-6}$
Kleine Testkammer leer	$4,7 \cdot 10^{-9}$	$1,8 \cdot 10^{-8}$
Kamera	$2,3 \cdot 10^{-7}$	$7,2 \cdot 10^{-6}$
Verfahrtisch M-505.3VG	$4,1 \cdot 10^{-7}$	$1,3 \cdot 10^{-5}$
Teflonkabel	$2,2 \cdot 10^{-7}$	$6,8 \cdot 10^{-6}$
Controller	$5,8 \cdot 10^{-6}$	$2,3 \cdot 10^{-5}$
Shutter	$1,5 \cdot 10^{-6}$	$5,9 \cdot 10^{-6}$

Tabelle 3.1: Druckerhöhungs- und Ausgasraten der verschiedenen getesteten Komponenten.

nenen also 13 mal eingebaut werden. In Anbetracht der hohen Ausgasraten der Verstellische sowie der großen Tür, welche zumindest im UHV Bereich ebenfalls ein erhebliches Vakuumleck darstellt, wurde entschieden zwischen Kammer und Strahlrohr ein zusätzliches differentielles Pumpstück einzusetzen. Dieses differentielle Pumpstück verringert den Gasfluss aus der Experimentierkammer in Richtung Beamline erheblich und führt zu deutlich geringeren Vakuumanforderungen im Experiment, welche wiederum die Kosten

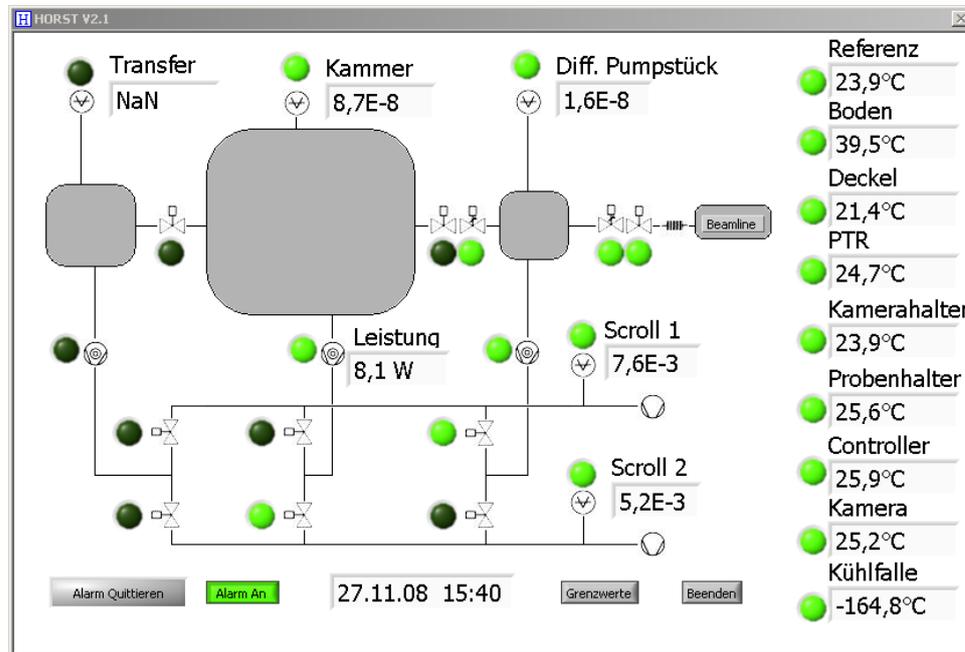


Abbildung 3.15: Schematische Darstellung des Vakuumaufbaues der HORST Apparatur mit Vorpumpen, Turbomolekularpumpen, Ventilen und Druckmessungen im Bedienfenster der Überwachungssoftware.

für die eingesetzten Komponenten senken.

Eine weitere Anforderung an das Vakuumsystem, die damit erfüllt wird, ist eine kurze Abpumpzeit von wenigen Stunden bis zum erforderlichen Betriebsdruck. Dies ermöglicht es, auch während einer Strahlzeit Änderungen am Versuchsaufbau, wie zum Beispiel einen Wechsel von Proben oder Pinholes durchzuführen, ohne dabei Messzeit zu vergeben.

3.4.3 Verwendeter Aufbau

Abbildung 3.15 zeigt einen schematischen Überblick über das eingesetzte Vakuumsystem im Bedienfenster der Überwachungssoftware. Da auf eine große Turbomolekularpumpe aufgrund des großen Volumens, und der geforderten kurzen Abpumpzeit der Experimentierkammer nicht verzichtet werden konnte, wurde auf den zunächst angedachten Einsatz von Ionengetterpumpen verzichtet. Diese hätten zwar einen absolut schwingungsfreien Betrieb ermöglicht, aber auch zu erheblichen Mehrkosten geführt. Diese Mittel wurden für eine komplett magnetgelagerte Turbomolekularpumpe (Turbovac MAG W 1300, Leybold) mit 1300 l/s Saugleistung verwendet,

die nur sehr geringe Vibrationen, die durch die Masse der Vakuumkammer effizient gedämpft werden, verursacht.

Zwei kleinere, aber ebenfalls magnetgelagerte Turbomolekularpumpen mit einer Saugleistung von jeweils 70 l/s (Turbovac TW 70H, Leybold) kommen beim differentiellen Pumpstück und bei der geplanten Transferkammer zum Einsatz. Alle drei Turbomolekularpumpen verfügen über eine eingebaute Compound-Stufe, welche den Betrieb auch bei relativ hohen Vorvakuumdrücken bis 10^{-1} mbar ermöglicht. Um dieses Vorvakuum zu erzeugen werden zwei ölfreie Scroll Vorpumpen mit jeweils 10 l/s ($35 \text{ m}^3/\text{h}$) Saugleistung verwendet (XDS35i, BOC Edwards). Sie können über ein Ventilsystem aus 6 elektropneumatisch betriebenen Ventilen einzeln oder zusammen mit allen Turbomolekularpumpen verbunden werden. Diese Verschaltung ermöglicht die größtmögliche Flexibilität und eine besonders hohe Ausfallsicherheit während der zeitlich sehr begrenzten Strahlzeiten.

Für die Druckmessung werden im Vorvakkumbereich zwei Pirani-Messröhren verwendet (TTR 91 S, Leybold), im UHV Bereich kommen Weitbereichsmessröhren mit kombinierten Pirani- und Penning-Sensoren (PTR 90, Leybold) zum Einsatz (Kaltkathode). Diese haben im Vergleich zu Bayard-Alpert-Messröhren (Glühkathoden) den Vorteil erheblich geringerer Emission im sichtbaren und IR-Bereich, was eine Drucküberwachung auch während einer Messung mit dem in diesem Bereich sehr empfindlichen CCD-Detektor erlaubt.

Die vakuumdichte Trennung zwischen Kammer, differentiellem Pumpstück und Beamline wurde ebenso durch elektropneumatisch betriebene UHV-Plattenventile realisiert.

Ebenfalls, wenn auch nur teilweise, zum Vakuumsystem gehört die Kühlfalle (Abbildung 3.10). Sie besteht aus einem Edelstahlrohr mit einem Volumen von ca. 1,5 Litern, das sich in der Experimentierkammer befindet und im Betrieb mit flüssigem Stickstoff gefüllt wird. Die Oberfläche dieses Rohres, welche durch seitlich angebrachte Kupferplatten noch vergrößert wird, absorbiert alle kondensierbaren Gase mit einer Saugleistung von ca. 10.000 l/s. Das Befüllen der Kühlfalle mit flüssigem Stickstoff erfolgt dabei durch ein automatisches Niveauregelgerät.

3.4.4 Steuerung der Vakuumkomponenten

Die Steuerung aller Vakuumkomponenten wurde in einem, eigens entwickelten, zentralen Steuergerät (Abbildung 3.16) zusammengefasst. Integriert wurden hier auch die Interlocks, die bei einem Druckanstieg die Pumpen ausschalten und die Vakuumventile schließen, sowie ein potentialfreier Kontakt der den Druck sowie die Drehzahl der Turbomolekularpumpe des diffe-

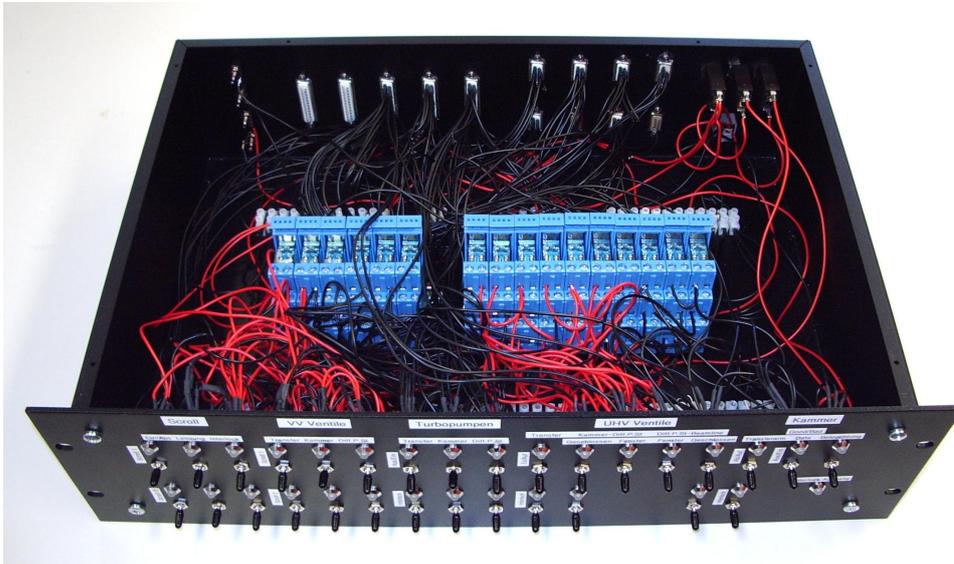


Abbildung 3.16: Foto der Steuereinheit für die Ventile, Vakuumpumpen und das Interlocksystem. Im Vordergrund ist die Frontblende mit Schaltern und Statusanzeigen, in der Mitte die Relais für Rückmeldungen und Interlocks, im Hintergrund sind die Stecker zum Anschließen der Pumpen und Ventile sowie des Beamlineinterlocks zu erkennen.

rentiellen Pumpstückes an die Beamline meldet (Schaltpläne im Anhang C). Die gesamte Steuerung wurde als reine Hardwarelösung mit mechanischen Schaltern, LEDs und Relais realisiert, um Softwareprobleme auszuschließen. Das gesamte Vakuumsystem kann somit an einer einzigen Stelle gesteuert und überwacht werden.

Diese Überwachung schließt auch eine Protokollierung der Drücke, Ventilzustände und Temperaturen des Systems per Computer mit ein. Das heißt alle Parameter können auf dem Computerbildschirm und im Internet in Echtzeit beobachtet werden. Dabei werden die fünf verschiedenen Drücke analog aus den Messgeräten ausgelesen und über einen Analog/Digital-Wandler (NI USB-6008, National Instruments) in den Computer übertragen. Dieser Wandler verfügt außerdem über zwölf Digitaleingänge, mit denen die Ventilpositionen und Statusmeldungen der Turbomolekularpumpen ausgelesen werden. Die Temperaturen werden mit Nickel-Chrom-Nickel Thermoelementen gemessen und über einen Achtkanal A/D-Wandler (USB TC-08, Pico Technology) digitalisiert und per Software ausgelesen.

In dieser Software können dann Grenzwerte für einzelne Parameter gesetzt werden, bei deren Über- oder Unterschreiten eine Alarm auf dem Über-

wachungscomputer und das Versenden einer Nachricht per Email ausgelöst wird. Auf diese Weise kann eine Störung des Vakuumsystems schnell erkannt, und darauf reagiert werden. Abbildungen B.2 und B.3 in Anhang B zeigen das dazu erstellte LabView Programm, Abbildung 3.15 die Bedienoberfläche und Abbildung B.6 zeigt einen beispielhaften Plot der Druck- und Temperaturüberwachung während der Strahlzeit bei BESSY im Dezember 2007. Diese Plots sind besonders beim Auftreten langsamer Veränderungen oder kleiner Vakuumslecks sehr hilfreich.

3.5 Differentielles Pumpstück

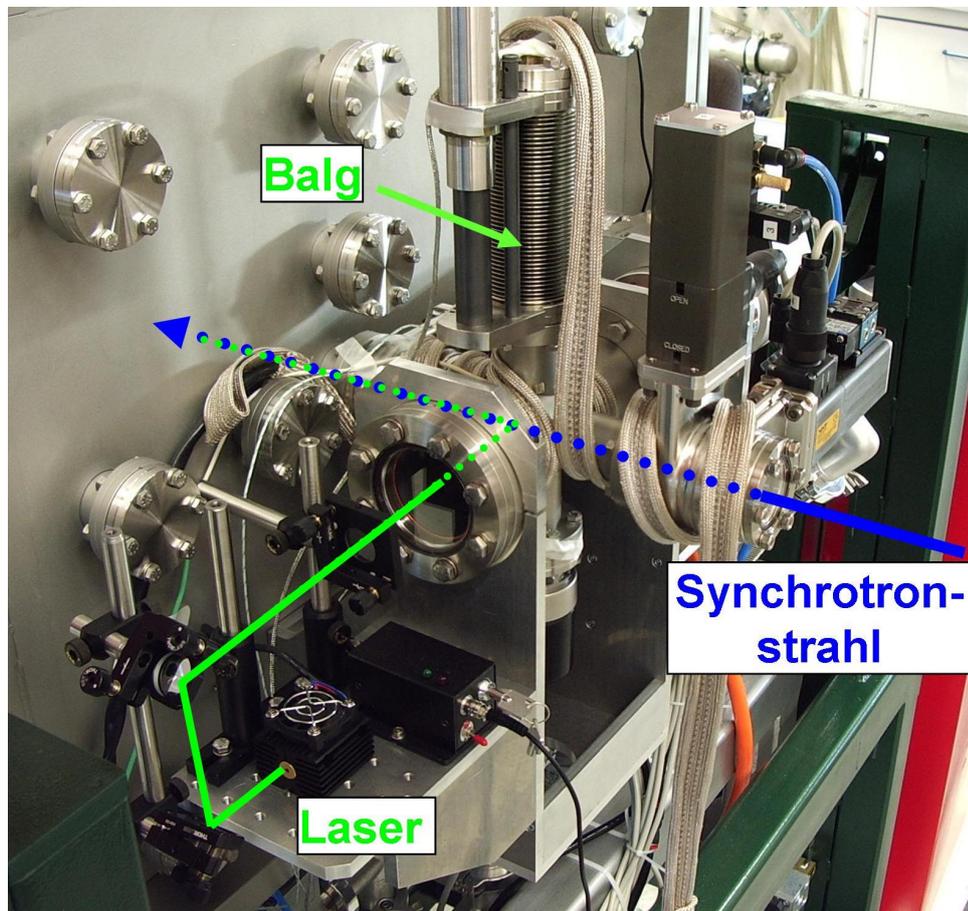


Abbildung 3.17: Foto des differentiellen Pumpstückes. Oben: Balg zum Bewegen von Spiegel und Phosphorschirm. Unten: optischer Tisch mit Laser und Spiegeln.

Das differentielle Pumpstück dient dazu, die Druckdifferenz zwischen Experimentierkammer und Strahlrohr auszugleichen. Da der Druck in der Experimentierkammer im Bereich von 10^{-6} mbar liegt, der Druck im Strahlrohr bei BESSY jedoch höchstens $5 \cdot 10^{-9}$ mbar betragen darf, aber dennoch eine direkte Vakuumverbindung notwendig ist, wurde das differentielle Pumpstück entwickelt. Die technischen Zeichnungen sind in Anhang A enthalten.

3.5.1 Kapillarverjüngung



Abbildung 3.18: Foto der Kapillarapertur zur Gasdurchflussverringering. Auf dem linken Foto sieht man die beiden Kapillarröhrchen des differentiel- len Pumpstückes, auf dem rechten Foto wurde das Ventil mit Lochblende (Apertur) vor dem Röhrchen geschlossen.

Die eigentliche Funktion der Druckverminderung wird durch einen an zwei Positionen stark verminderten Leitwert für den Gasfluss in Verbindung mit einer dazwischen liegenden Pumpe erreicht. Der Leitwert wird zum einen mittels beweglicher Aperturen, zum anderen durch sich daran anschließende Kapillarröhrchen verringert (Abbildung 3.18). Dabei müssen zwei widersprüchliche Anforderungen überein gebracht werden: eine kleinere Apertur verringert zwar den Gasstrom deutlich stärker, erschwert aber die Justage an der Beamline, da die gesamte Apparatur genauer positioniert werden muss. Als Kompromiss zwischen diesen Anforderungen wurde eine

Apertur mit einem Durchmesser d von 3 mm gewählt. Sie hat nach

$$L \approx \frac{\pi d^2}{16} \cdot c,$$

wobei c die Schallgeschwindigkeit ist, einen Leitwert von 0,61 l/s. Dies führt zu einem Druckabfall von ca. einer Größenordnung, was in unserem Fall nicht ausreicht. Erst in Kombination mit einem Kapillarrohr von 30 mm Länge und einem Innendurchmesser von nur 3,5 mm erreicht man nach

$$L \approx 12,1 \cdot \frac{d^3}{l}$$

(Vgl. Kapitel 2.1.1) einen Leitwert von 0,017 l/s, was zu einem Druckabfall von 1,5 bis 2 Größenordnungen pro Kapillarrohr führt. Mit den zwei eingebauten Kapillarrohren kann bei geschlossenen Aperturventilen also die Druckdifferenz von 3-4 Größenordnungen überwunden werden. Zum Abpumpen und Ausheizen des Verbindungsstückes zum Strahlrohr kann das Aperturventil geöffnet werden.

3.5.2 Spiegel und Phosphor - die Justage

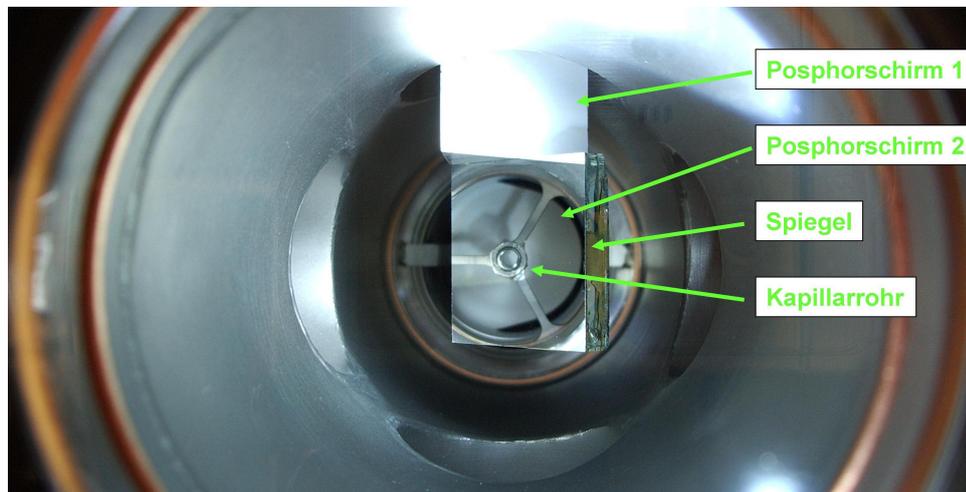


Abbildung 3.19: Foto in das Innere des differentiellen Pumpstückes. In der Mitte ist der Spiegel zu sehen, in dem das Kapillarrohr vor der Kammer zu erkennen ist. Darüber befindet sich um 90° verdreht der Phosphorschirm, mit welchem die Lage des Röntgenstrahles überprüft werden kann.

Die beiden Kapillarrohre erfordern natürlich eine recht genaue Positionierung der gesamten Kammer relativ zur Strahlachse. Diese erfolgt durch ein zweistufiges System am Gestell der Kammer (siehe Abbildung 3.20 auf Seite 57). Um die Position des Synchrotronstrahles zu beobachten sind an verschiedenen Stellen des Systems Phosphorschirme angebracht. Zwei davon befinden sich im differentiellen Pumpstück, um den Strahl durch die beiden Kapillarrohre zu fädeln. Außerdem wurde ein großes Fenster eingebaut, um diese Schirme zu beobachten. Der erste Schirm kann mit einem Balg von außen direkt in die Strahlachse gefahren werden. Wenn dabei das Aperturventil geöffnet bleibt kann die Strahlachse auch unter sehr ungünstigen Bedingungen gefunden werden, und die erste Apertur zentriert werden. Dann kann der Phosphorschirm aus dem Strahl gefahren werden und der am gleichen Arm befestigte Spiegel kommt zum Einsatz. Mit ihm kann der Strahl auf dem zweiten Phosphorschirm, der sich auf der kammerseitigen Aperturblende befindet, beobachtet werden. Ein dritter Phosphorschirm befindet sich auf der Rückseite der Experimentierkammer. Damit kann die Strahlachse nach dem Einfädeln durch die beiden Aperturen in der Kammer zentriert werden. Die technischen Zeichnungen des Spiegelhalters sind in Anhang A enthalten.

3.5.3 Laser

In Abbildung 3.17 ist unten links ein kleiner, am differentiellen Pumpstück angebrachter optischer Tisch zu erkennen. Auf ihm sind ein Laser und zwei Spiegel, sowie eine Linse montiert. Dieser Laser kann über die Spiegel außerhalb des differentiellen Pumpstückes justiert werden, und dann mit dem Spiegel im Inneren genau auf der Strahlachse in die Kammer eingekoppelt werden. Mit seiner Hilfe können alle beweglichen Komponenten in der Experimentierkammer bereits vor einer Meßzeit justiert werden.

3.6 Gestell

Zum Halten von Experimentierkammer und differentiellem Pumpstück wurde ein Gestell entwickelt. Es ermöglicht den einfachen Transport und Aufbau der Apparatur an unterschiedlichen Beamlines. Es besteht aus einem inneren und einem äußeren Gestell, wobei das innere Gestell hydraulisch vertikal im Äußeren bewegt werden kann, während es durch vier Kugelumlaufwagen an zwei Schienen geführt wird. Damit kann die Kammer auf die zur jeweils verwendeten Beamline passenden Höhe gebracht, und einfach angeflanscht werden.

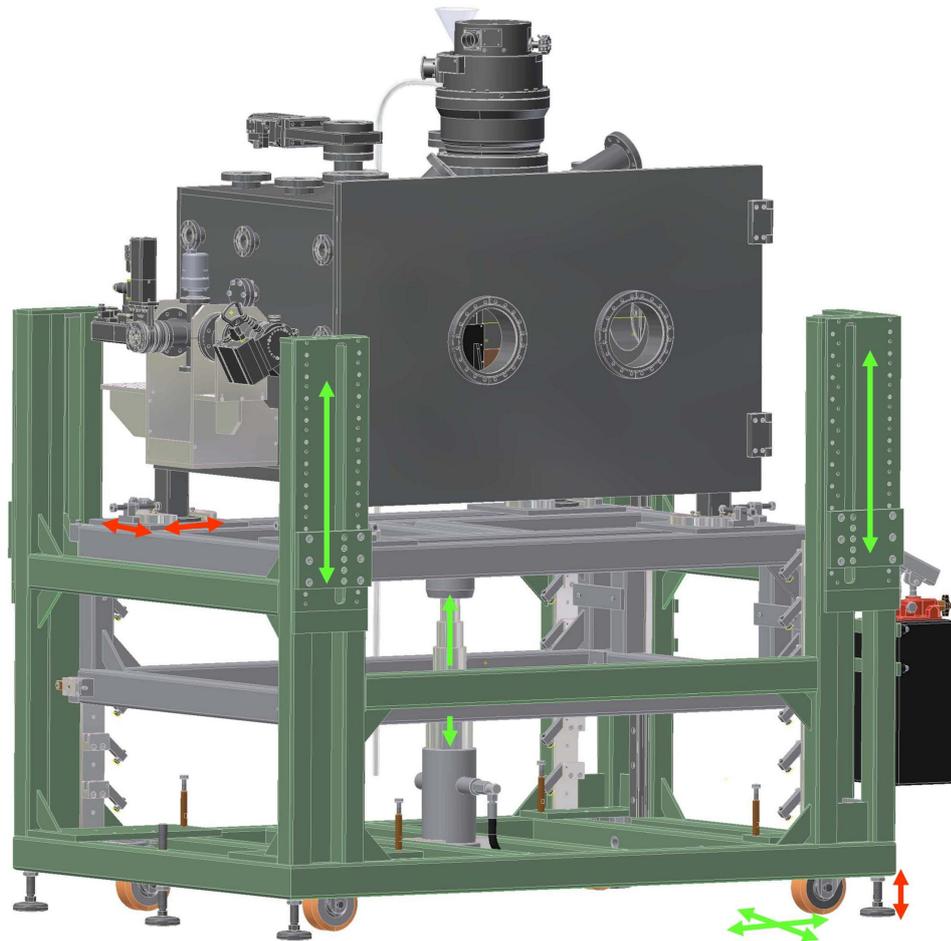


Abbildung 3.20: CAD Zeichnung des Gestelles. Zu erkennen sind inneres (grau) und äußeres Gestell (grün) sowie die Experimentierkammer mit davor montiertem differentiellen Pumpstück sowie Rädern und Gerätefüßen. Die Justage an der Beamline erfolgt in zwei Stufen: eine Grobjustage (grüne Pfeile) mittels Rädern und Hydraulikzylinder, sowie die Feinjustage (rote Pfeile) mittels Gewindetellern und Gerätefüßen.

3.6.1 Transport

Für den Transport verfügt das äußere Gestell über vier leichtgängige Schwerlastrollen, von denen zwei lenkbar sind, so dass die gesamte Apparatur trotz des Gewichtes von 1500 kg von zwei Personen bewegt werden kann. Außerdem verfügt die Kammer über vier Gurtösen, mit denen man sie mit einem Kran bewegen kann. Die gesamte Apparatur wird für den Transport auf eine

Maximalhöhe von 180 cm abgesenkt und dann mit Schrauben gesichert, so dass sie mit einem Gabelstapler oder einer Hebebühne in einen normalen 7,5t LKW verladen werden kann.

3.6.2 Justage an der Beamline

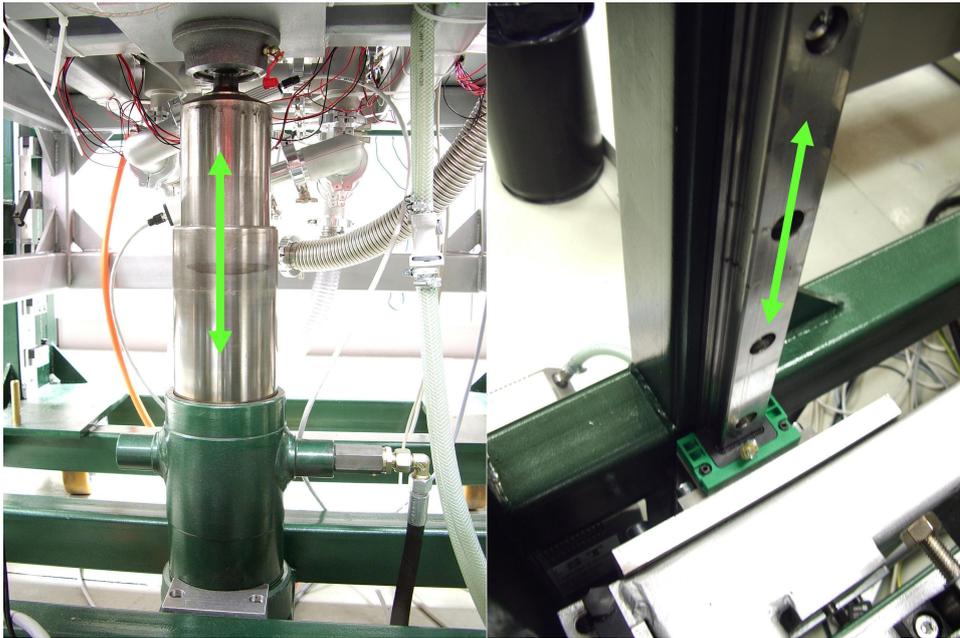


Abbildung 3.21: Foto der vertikalen Justageeinheiten. Links der Hydraulikzylinder zum Hochfahren und Absenken des gesamten Systems, rechts die vertikalen Führungsschienen, die die Position der Kammer stabilisieren.

Um die Kammer an unterschiedlichen Beamlines (BESSY, DESY, etc.) verwenden zu können ist eine möglichst flexible horizontale und vertikale Halterung nötig. So ist die Höhe des Strahles am letzten Flansch bei der Beamline PG2 bei FLASH (DESY) 154 cm über dem Boden, bei der Beamline UE52 (BESSY) jedoch auf einer Höhe von 141,7 cm. Die Apparatur muss also in einem weiten Bereich vertikal verfahrbar sein, im Betrieb jedoch trotzdem stabil bleiben um eine Bewegung des Pinholes relativ zum Strahl zu vermeiden. Dies wurde mit einem zweistufigen System zur Höhenjustage erreicht: in einer ersten Stufe kann der innere Teil des Gestelles mit der Experimentierkammer und dem differentiellen Pumpstück mit Hilfe eines großen Hydraulikzylinders (Abbildung 3.21), der im Schwerpunkt der Kammer angebracht ist, in der Höhe verstellt werden. Kurz unterhalb

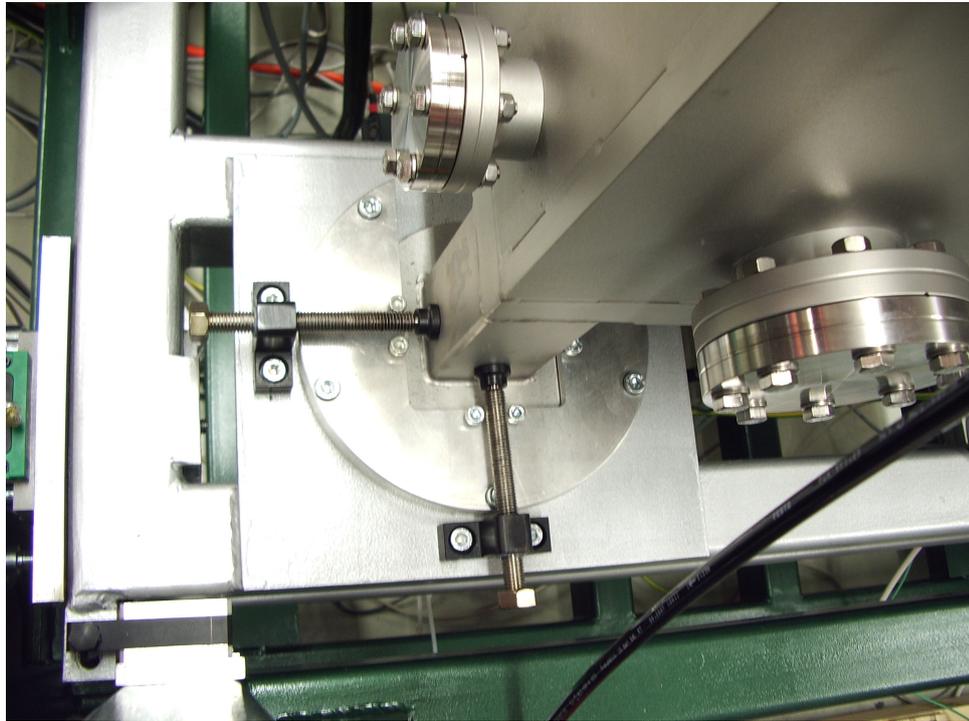


Abbildung 3.22: Foto der horizontalen Verstellung. Zu erkennen ist ein Fuß der Experimentierkammer mit den zwei Gewindespindeln zur horizontalen Feinjustage.

der zu erreichenden Endhöhe wird die Kammer fest mit dem Gestell verschraubt. Die Feinjustage erfolgt dann in einer zweiten Stufe mit Hilfe von herauserschraubbaren Maschinenfüßen, die aufgrund des großen Gewichtes der Anlage über Kugellager verfügen.

Die horizontale Justage erfolgt ebenfalls zweistufig. Zunächst wird die Kammer mit Hilfe der Räder grob über dem Fokuspunkt der Beamline aufgestellt. Dazu ist genau unterhalb des Pinholehalters außen an der Kammer ein Lot angebracht. Die horizontale Feinjustage erfolgt dann über die vier Füße der Experimentierkammer, die über verschiebbare Teller verfügen, welche mit jeweils zwei Gewindespindeln bewegt werden können (Abbildung 3.22). Abbildung 3.23 zeigt die einsatzbereit angeflanschte und justierte HORST Apparatur bei BESSY (HZB) sowie FLASH (DESY).

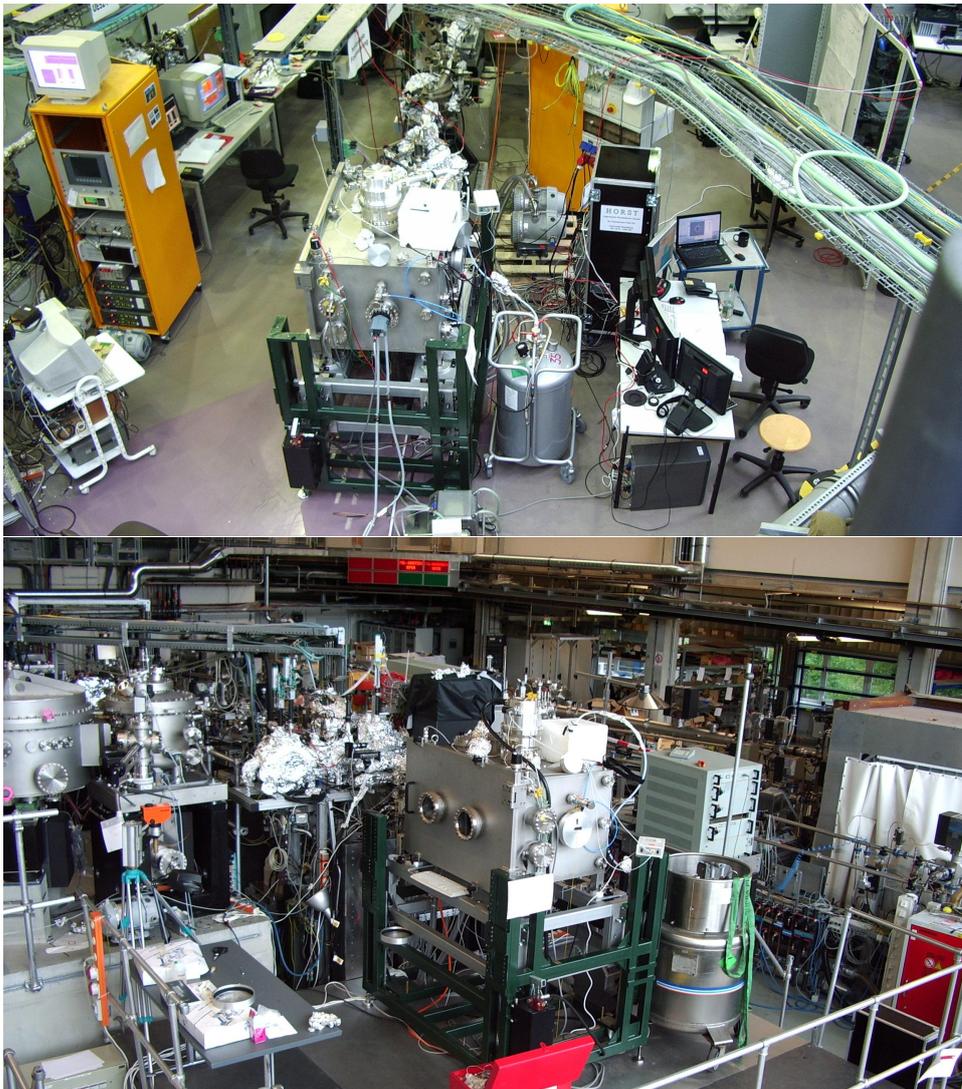


Abbildung 3.23: Foto der HORST Apparatur an der Beamline UE52-SGM bei BESSY (oben) und an der Beamline PG2 bei FLASH (unten).

Kapitel 4

Messungen

4.1 Experimente bei BESSY (HZB)

Der erste Praxistest der entwickelten Apparatur erfolgte im Dezember 2007 an der Beamline UE52-SGM (vgl. Kapitel 2.2.2) des Speicherringes BESSY der *Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie GmbH* (HZB). Aufgrund der dabei erzielten Ergebnisse wurden weitere Strahlzeiten bewilligt und im März und Juli 2008 durchgeführt.

4.1.1 Drift und deren Korrektur

Eine möglichst geringe Drift zwischen den einzelnen Komponenten des Experimentes, besonders zwischen Pinhole und Probe war ein sehr wichtiges Designkriterium der neuen Apparatur. Die Drift wurde nach der Fertigstellung durch wiederholtes Aufnehmen eines Bildes, ohne die Verfahrtische zu bewegen, gemessen. Aus dem zeitlichen Abstand zwischen verschiedenen Aufnahmen und der Verschiebung der Bilder kann dann die Bewegungsgeschwindigkeit der Probe relativ zum Pinhole berechnet werden. Abbildung 4.1 zeigt zwei auf diese Weise aufgenommene Bilder.

Es zeigte sich zunächst eine relativ große Drift, die auf Temperaturschwankungen in der Kammer durch das wiederholte Auftauen und Befüllen der Kühlfalle zurückzuführen war. Daraufhin wurden zusätzliche Kupferlitzen an den Verfahrtischen angebracht, die mit dem temperierten Boden der Kammer verbunden sind, und so einen schnelleren Temperatúrausgleich ermöglichen. Außerdem wurde eine automatische Nachfülleinrichtung für den Flüssigstickstoff installiert, die es ermöglicht die Kühlfalle während Strahlzeiten rund um die Uhr befüllt zu lassen. Abbildung 4.2 zeigt die Temperaturschwankungen in der Apparatur vor und nach dem Umbau. Die

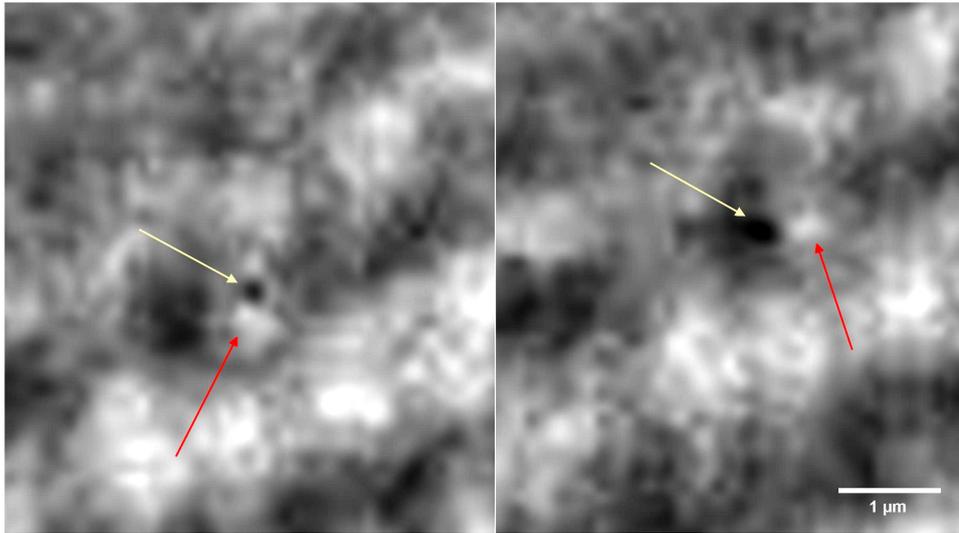


Abbildung 4.1: Driftmessung durch zwei im Abstand von 10 Minuten aufgenommene Bilder. Die Probe (heller Fleck, roter Pfeil) bewegt sich gegenüber dem dunklen Fleck (staub auf dem CCD-Chip, gelber Pfeil) im Bild um 500 nm.

Temperaturen wurden dabei mit dem in Kapitel 3.4.4 beschriebenen Überwachungssystem aufgezeichnet.

Auf diese Weise konnte die Drift zwischen Pinhole und Probe von ca. 200 nm pro Minute auf ca. 50 nm pro Minute, ein Wert deutlich unterhalb der momentan erreichbaren Auflösung, reduziert werden (Abbildung 4.1). Die Bewegung der Kamera spielt an dieser Stelle eine untergeordnete Rolle, da sie um Größenordnungen kleiner als die Pixelgröße von $13,5 \mu\text{m}$ ist, und deshalb nicht in Erscheinung tritt.

Die Bewegungen zwischen Pinhole und Probe können zusätzlich mit Hilfe von Software ausgeglichen werden. Dazu hat es sich als sinnvoll erwiesen nicht nur jeweils ein Bild mit sehr langer Belichtungszeit aufzunehmen, sondern Serien von 10 bis 20 Aufnahmen mit kürzerer Belichtungszeit. Diese Bildserien werden dann zum Beispiel mit dem ImageJ Plugin StackReg nach [Thévenaz] ausgerichtet und aufsummiert.

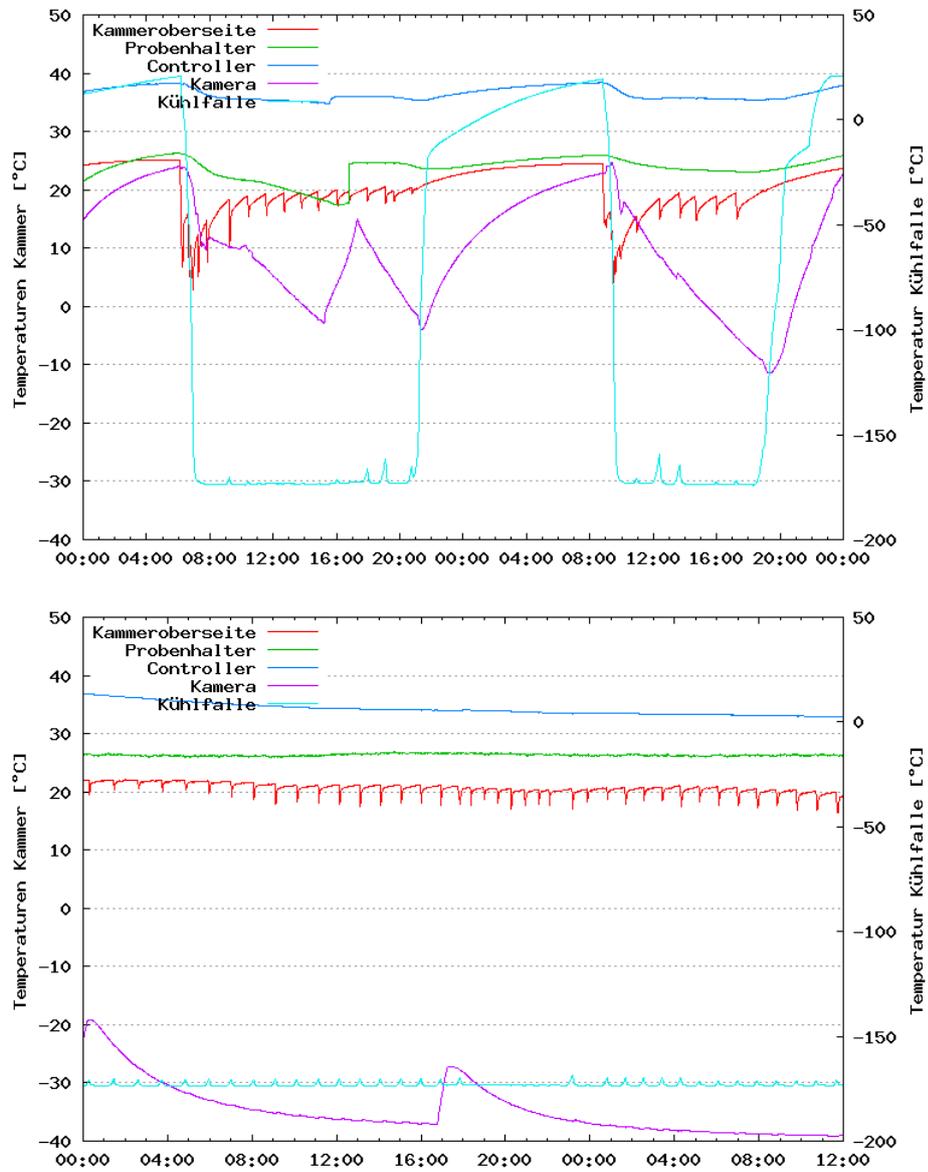


Abbildung 4.2: Diagramm der Temperaturen der Kammer über zwei bzw. eineinhalb Tage während der Messungen bei BESSY. Oben die stark schwankenden Temperaturen bei manueller Flüssigstickstoffnachfüllung, unten die Temperaturen nach Installation der automatischen Nachfülleinrichtung und der zusätzlichen Kupferlitzten.

4.1.2 Energiespektren

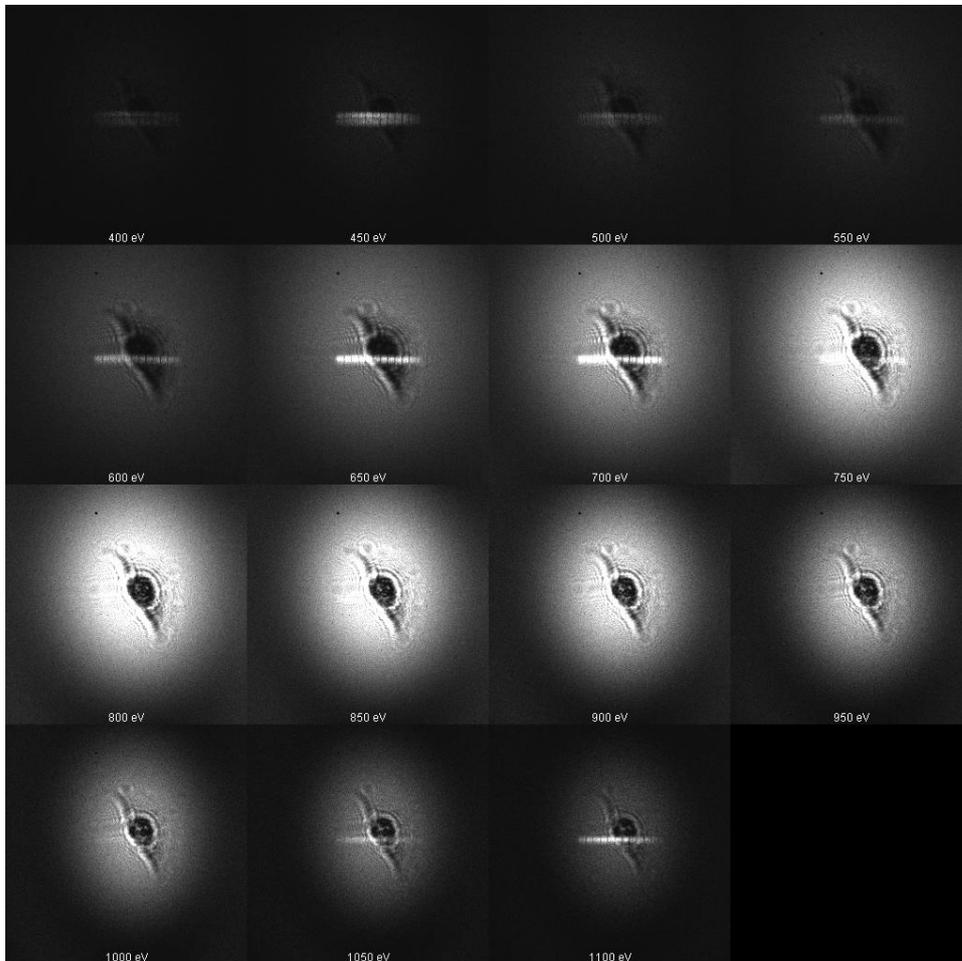


Abbildung 4.3: Hologramme einer Fibroblastenzelle aufgenommen mit Photonenenergien zwischen 400 eV und 1100 eV mit einem 300 nm Pinhole in einer 2 μm Goldfolie. Auf das Angleichen der Intensitäten wurde hier bewusst verzichtet, um die Unterschiede in der Intensität zu verdeutlichen. Der horizontale Streifen ist dabei der vom Pinhole transmittierte direkte Strahl der Beamline.

Da die Beamline UE52 einen Monochromator sowie einen Undulator mit einstellbarer Spaltbreite besitzt, ist es möglich die Photonenenergie in einem weiten Bereich frei zu wählen. Abbildung 4.3 zeigt eine Fibroblastenzelle, aufgenommen mit Photonenenergien zwischen 400 eV und 1100 eV mit einem Pinhole mit nominal 300 nm Durchmesser. Deutlich zu erkennen

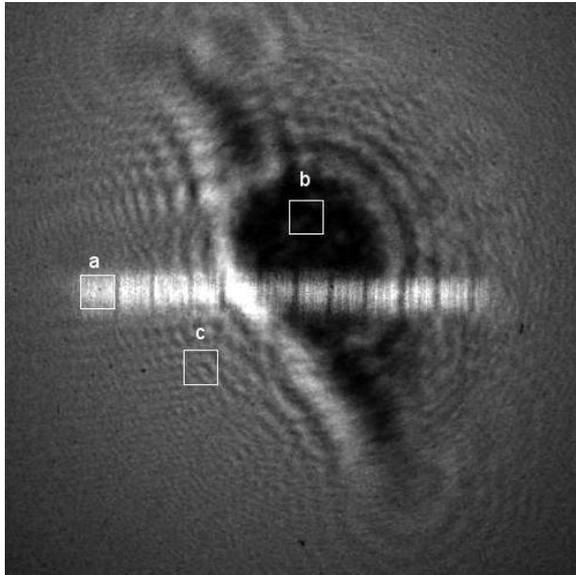


Abbildung 4.4: Bildausschnitte der Hologramme aus Abbildung 4.3 für die Intensitäts- und Transmissionsdiagramme in Abbildung 4.5: direkter Strahl (a), Zellkern (b) und Airy-Scheibe (c).

ist die unterschiedlich starke Absorption des Strahles durch die $2\ \mu\text{m}$ dicke Goldfolie der Pinholes bei unterschiedlichen Energien. Der horizontale Streifen ist dabei der von der Pinholefolie transmittierte direkte Strahl der Beamline, der sich durch die stärkere horizontale Fokussierung in der Ebene des CCD-Chips horizontal stärker aufweitet.

Abbildung 4.4 zeigt drei Ausschnitte der Hologramme aus Abbildung 4.3: den direkten, von der Goldfolie transmittierten Strahl, einen Ausschnitt der Airy-Scheibe sowie einen Ausschnitt aus dem Zellkern. Die Intensität in diesen Bereichen wurde gemittelt und in Abbildung 4.5 aufgetragen. Zusätzlich wurde das Verhältnis Zellkern / Airy-Scheibe für die Originaldaten, sowie die rekonstruierten Bilder mit und ohne Untergrundabzug aufgetragen. Für die rekonstruierten Daten mit Abzug ergibt sich annähernd eine Gerade, was auch zu erwarten war. Interessant ist hier, dass die Kurve der Originaldaten und die der Rekonstruktion ohne Untergrundabzug sich sehr ähneln. Die Rekonstruktion hat offensichtlich keinen Einfluss auf den Kontrast, was in Zukunft schnelle Spektroskopie mit einem großen Pinhole und einer Photodiode ermöglicht.

Aus Abbildung 4.5 ist außerdem zu erkennen, dass die relative Transmission im Bereich der größten Absorption des Zellkernes bei $750\ \text{eV}$ ein

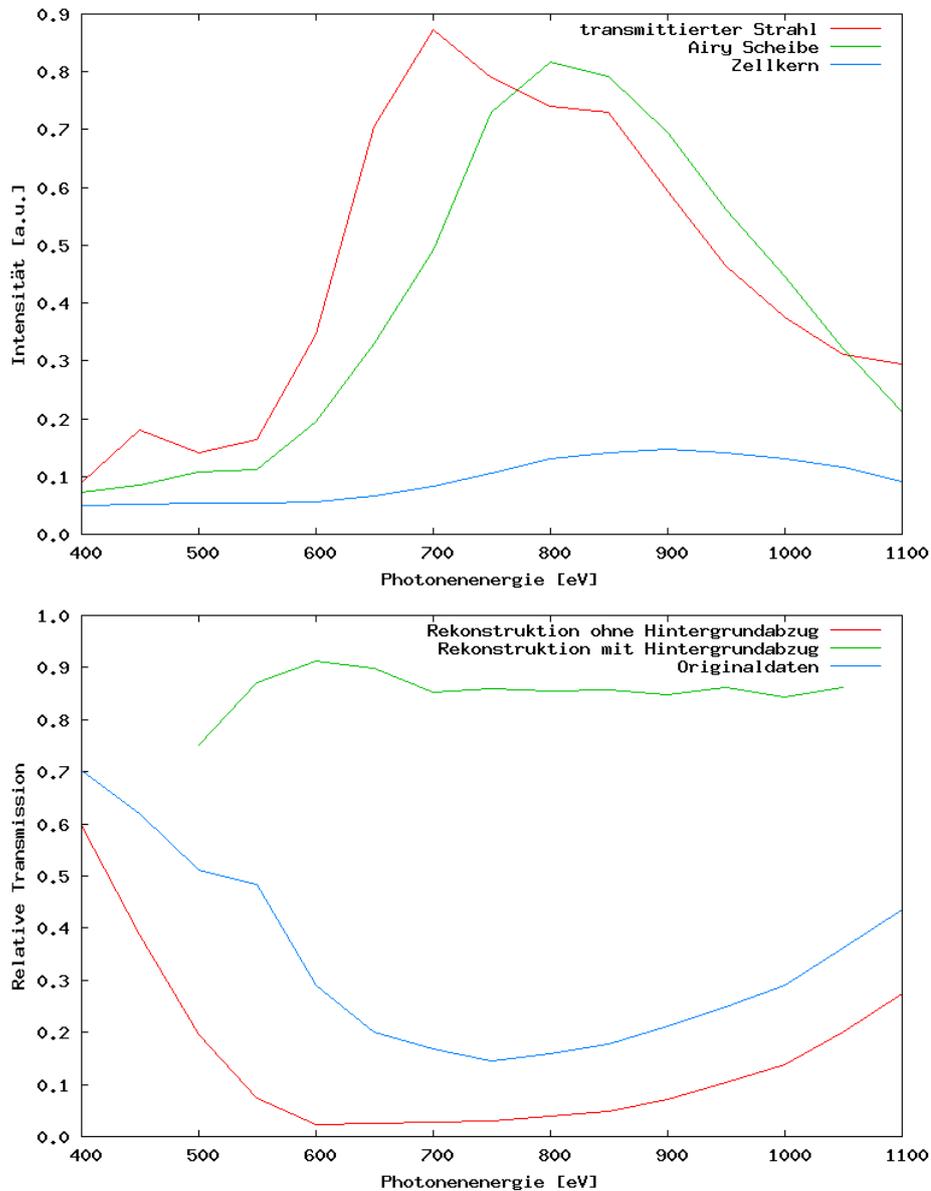


Abbildung 4.5: Diagramm der Intensitäten an drei Stellen der Fibroblastzelle (Abbildung 4.4) bei verschiedenen Energien (oben), sowie die Intensität im Zellkern geteilt durch die Intensität der Airy-Scheibe bei den Originaldaten und in der Rekonstruktion mit und ohne Untergrundabzug (unten).

Minimum hat. Hier ist der Kontrast des Zellkernes also am größten. Allerdings wird bei dieser Energie der direkte Strahl von der Goldfolie des

Pinholes nicht ausreichend absorbiert, so dass für die weiteren Aufnahmen eine Energie von 900 eV, bei der der direkte Strahl ausreichend absorbiert wird, gewählt wurde.

Aus den verschiedenen großen Airy-Scheiben bei verschiedenen Energien in Abbildung 4.3 lässt sich nach [Barth08] der Pinholedurchmesser A nach

$$A = 1,22 \cdot \frac{L \cdot \lambda}{q}$$

bestimmen. Dabei ist L der Abstand zwischen Pinhole und Kamera, in diesem Fall 1050 mm, λ die Wellenlänge der Photonen und q der Radius der Airy-Scheibe auf dem Detektor. Für das in Abbildung 4.3 verwendete, und mit einem FIB (Focused Ion Beam) gebohrte, Pinhole der dritten Generation wurde eine Größe von 252 ± 27 nm ermittelt.

4.1.3 Auflösungsbestimmung bei Diatomeen

Diatomeen bilden in der äußeren Plasmamembran eine Kieselsäureschicht, die sich zu einem harten Panzer mit sehr feiner Struktur entwickelt. Daher sind sie ein ideales Testobjekt für abbildende Techniken [Ross]. Die hier gezeigten fossilen Diatomeen wurden zunächst in Wasser suspendiert, dann auf Siliziumnitrid Membranen aufgetropft und schließlich getrocknet.

Abbildung 4.6 zeigt beispielhaft den Weg vom Originalbild der Probe bis zur fertigen Rekonstruktion. Zunächst wird eine Bilderserie (in diesem Fall 20 Bilder mit je 30 Sekunden Belichtungszeit) aufgenommen (Abbildung 4.6 a), und dann der Hintergrund (Airy-Scheibe) abgezogen. In dem so entstandenen Bildstapel kann man dann eine eventuell vorhandene Drift korrigieren und die einzelnen Bilder aufsummieren (Abbildung 4.6 b). Schließlich wird das so entstandene Bild numerisch rekonstruiert (Abbildung 4.6 d).

Abbildung 4.7 zeigt das Mikroskopiebild (a) und das Hologramm (b) eines weiteren fossilen Diatomes. Beide Hologramme (Abbildung 4.6 und Abbildung 4.7) wurden bei 900 eV (1,37 nm Wellenlänge) mit einem Pinhole mit 252 nm Durchmesser aufgenommen. Der Abstand L zwischen Pinhole und Detektor betrug 1050 mm, zwischen Pinhole und Probe lagen $l = 4,8$ mm. Die Größe des Detektors D war $13,8 \cdot 13,8$ mm². Daraus ergibt sich nach

$$NA \approx \frac{D/2}{L - l}$$

(vgl. Kapitel 2.4.3) eine numerische Apertur von

$$NA \approx 0,0066.$$

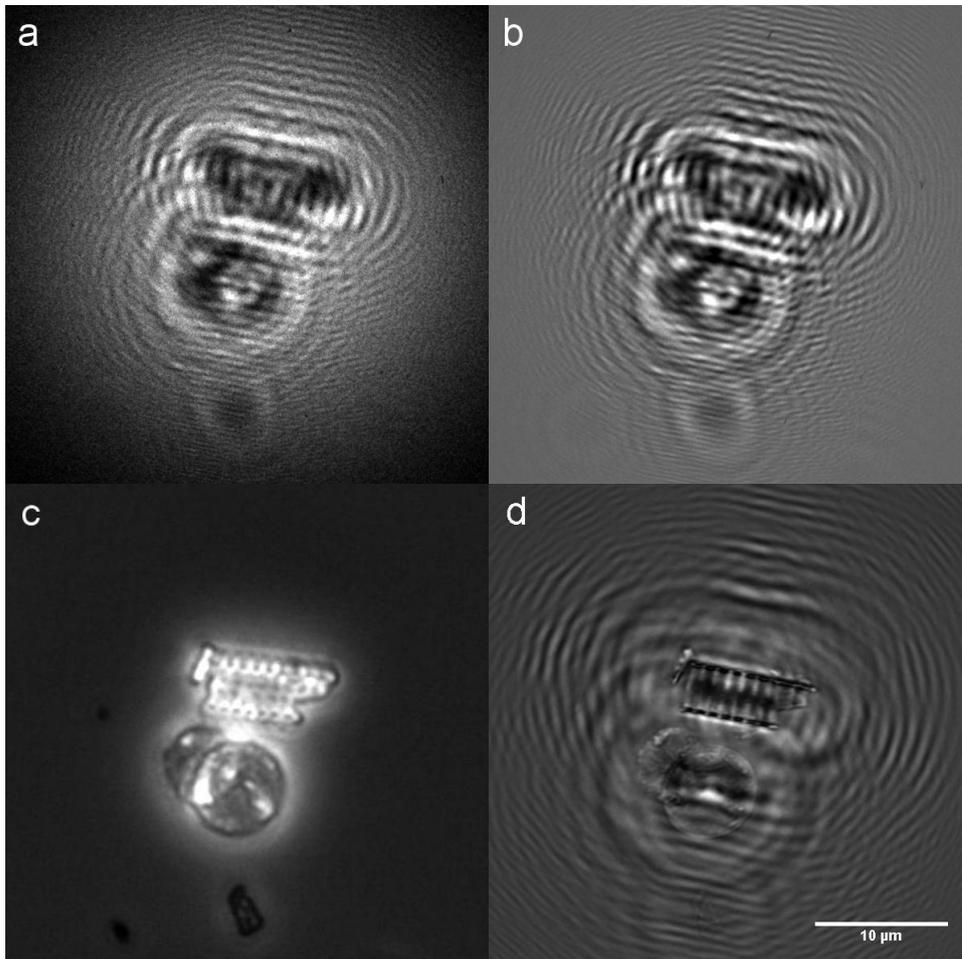


Abbildung 4.6: Einzelnes Hologramm (a), hintergrundkorrigierter und aufsummierter Hologrammstack (b), Mikroskopiebild (c) und Rekonstruktion (d) einer fossilen Diatomeen Probe bei 900 eV, aufgenommen mit einem 300 nm Pinhole. Das Mikroskopiebild wurde mit einem Nikon TE2000-U Mikroskop mit 40x Objektiv (NA 0,55) aufgenommen.

Die theoretische Auflösung der Rekonstruktion entspricht hier der halben Pinholegröße (vgl. Kapitel 2.4.3 und [Barth08]), also $\Delta x_{min} = 126nm$.

An zwei Stellen (in Abbildung 4.7 durch eine rote und eine grüne Linie angedeutet) wurden die Intensitätsprofile untersucht. Abbildung 4.8 zeigt den Verlauf der Intensitäten entlang der Linien. Da die Auflösung des Bildes in etwa der für den Anstieg von 10% auf 90% der Intensität erforderlichen Entfernung entspricht [Barth08], kann man aus diesen Kurven die mit der Holographie erzielte Auflösung bestimmen. Diese Entfernung wurde

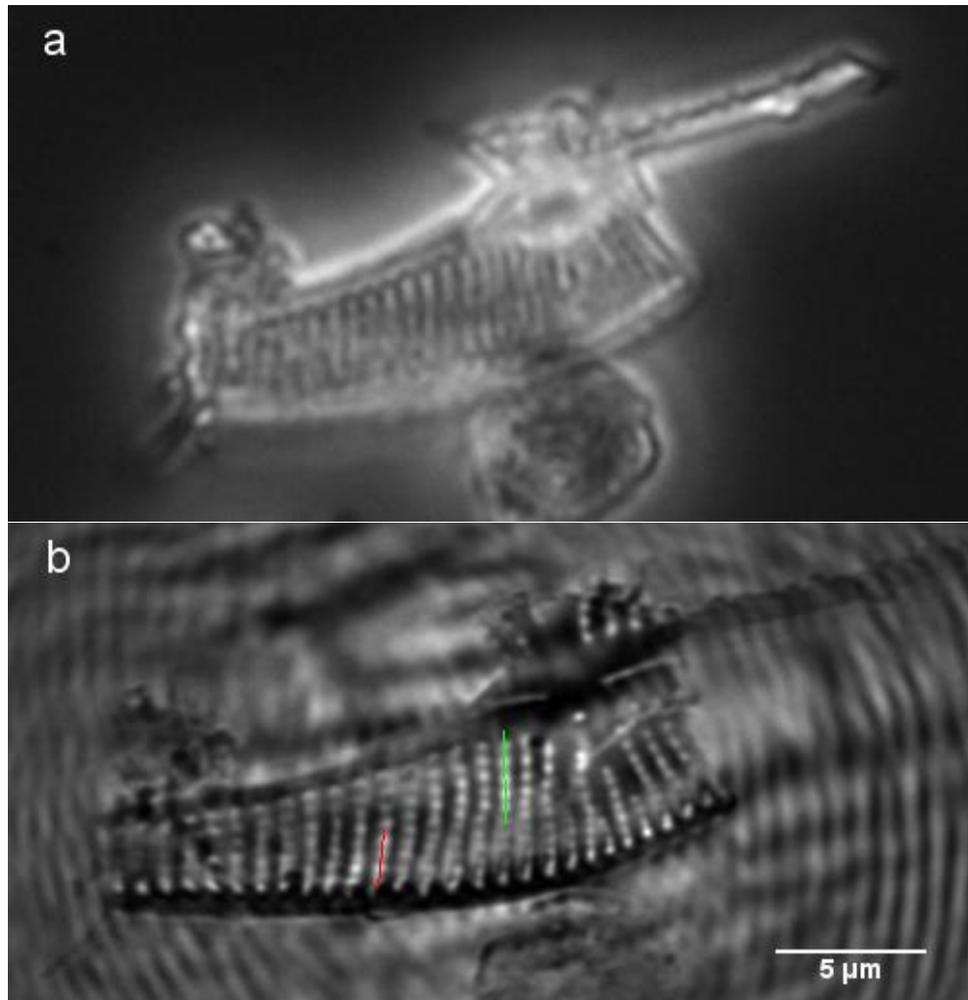


Abbildung 4.7: Mikroskopiebild (a) und Rekonstruktion (b) einer fossilen Diatomeen Probe. Das Mikroskopiebild wurde mit einem 40x Objektiv (NA 0,55) aufgenommen, das Hologramm (Abbildung 2.14 auf Seite 24) bei einer Photonenenergie von 900 eV (1,37 nm) mit einem 300 nm Pinhole. Die Intensität an der roten und grünen Linie wurde in Abbildung 4.8 aufgetragen.

an drei Stellen in Abbildung 4.8 bestimmt und eine gemessene Auflösung von $\Delta x_{min} = 164 \text{ nm} \pm 24 \text{ nm}$ ermittelt, welche dem theoretischen Wert nahe kommt. Die verbleibende Abweichung der Auflösung kann hier an den verwendeten Objekten, also den fossilen Diatomeen liegen, die natürlich keine scharfen Kanten haben. Auch eine nicht vollständige Kohärenz der Beamline, über die diesbezüglich keine Angaben vorhanden sind, kann die

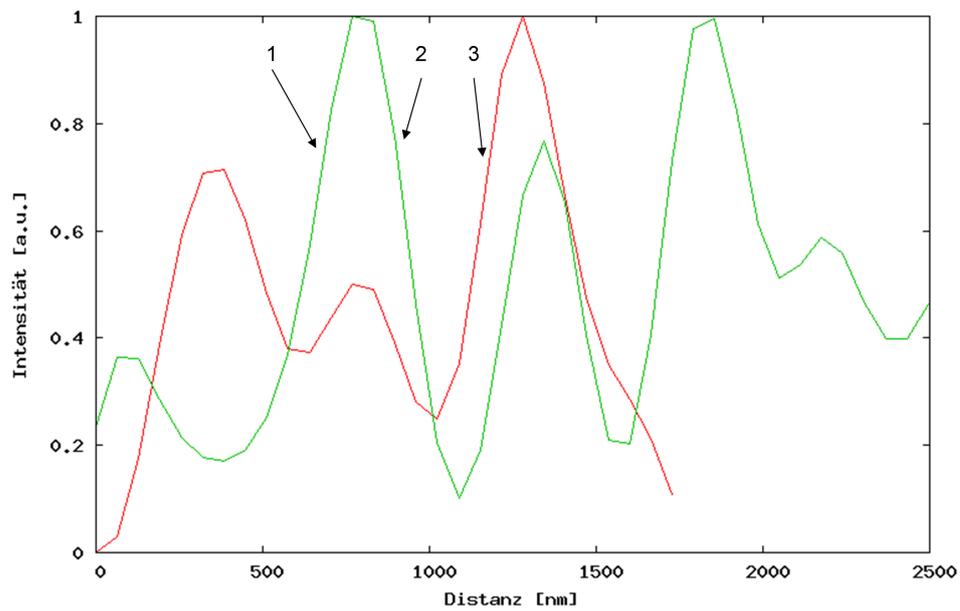


Abbildung 4.8: Intensitätsprofile des Diatoms aus Abbildung 4.7. Die Bereiche in denen der Anstieg von 10% auf 90% gemessen wurde, sind mit Pfeilen markiert.

Auflösung verringern. Trotzdem handelt es sich hier um die bislang beste mit digitaler In-Line Holographie erreichte Auflösung.

4.1.4 Materialkontrast bei Fibroblasten

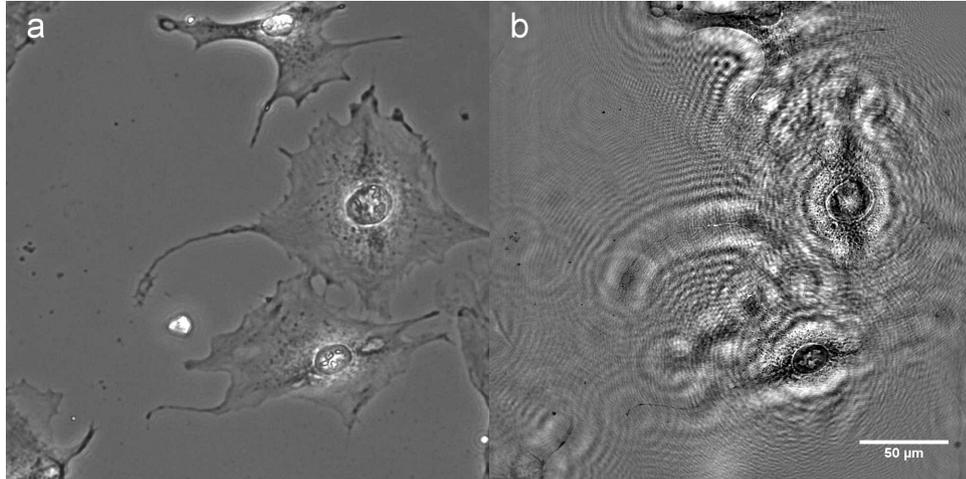


Abbildung 4.9: Mikroskopiebild (a) und Rekonstruktion des Hologramms (b) einer Fibroblastenprobe vom Stamm REF52WT bei 133 eV mit einem 400 nm Pinhole. Deutlich zu erkennen sind hier die Zellkerne sowie die zyttoplasmatischen Fortsätze. Das Mikroskopiebild wurde mit einem 40x Objektiv (NA 0,55) aufgenommen.

Als Beispiel für die Aufnahme kompletter Zellen und für Materialkontrast wurden zunächst Fibroblasten der Linie REF52WT verwendet und bei unterschiedlichen Photonenenergien aufgenommen. Nach dem Anwachsen auf der Siliziumnitrid Membran wurden sie mit Formaldehyd fixiert und in Ethanol getrocknet. Das Ethanol wurde dann in einem Kritisch-Punkt-Trockner (Baltec CPD 030) durch CO₂ ausgetauscht, welches am kritischen Punkt verdampft wurde. Die Zellen sind nach dieser aus der Elektronenmikroskopie bekannten Prozedur fixiert und vakuumtauglich [Ehlers].

Abbildung 4.9 zeigt eine solche Fibroblastenprobe, aufgenommen bei 133 eV mit einem 400 nm Pinhole. Der Abstand zwischen Pinhole und Probe betrug hier 6,9 mm, der Kamera-Detektorabstand war 691 mm, die Größe des Detektors war $27,6 \cdot 27,6 \text{ mm}^2$, was einer numerischen Apertur von 0,02 entspricht. Abbildung 4.10 zeigt den unteren Zellkern aus Abbildung 4.9 aufgenommen bei Photonenenergien von 133 eV, 137 eV, 220 eV und 260 eV. Zwischen 133 eV und 137 eV liegt die K Absorptionskante des Phosphors (135 eV), allerdings kann der Phosphorkontrast im Zellkern nicht beobachtet werden. Dies liegt vermutlich an der geringen Konzentration des Phosphors (nach [Fayard] nur 0,2% der Zellmasse) und der im Zellkern gleichmäßig verteilten, ihn enthaltenden DNS. Außerdem spielt hier

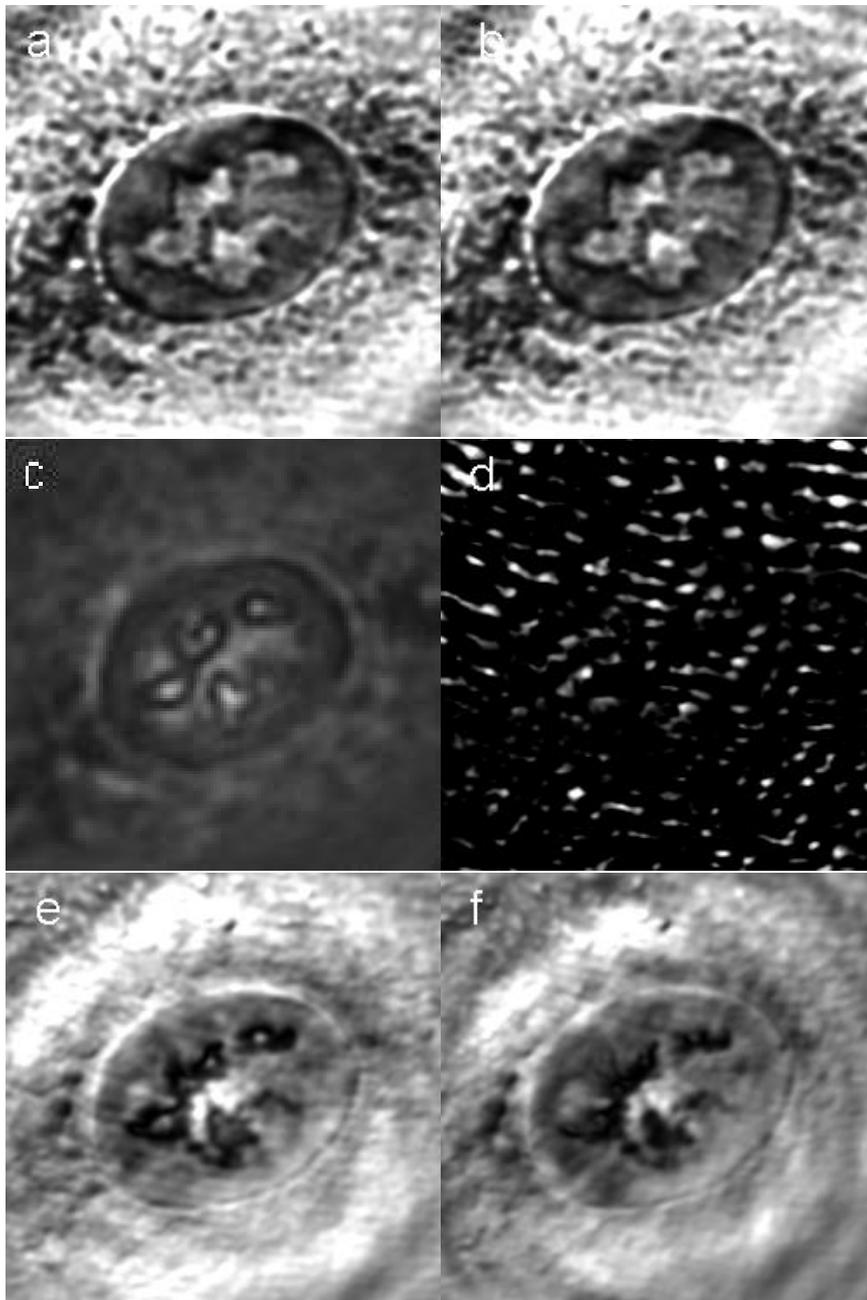


Abbildung 4.10: Rekonstruktionen des Hologramms bei einer Photonenenergie von 133 eV (a), 137 eV (b), 220 eV (d) und 260 eV (f) sowie Mikroskopiebild (c) und Differenzbild (a-b) (d) an der Phosphorkante des unteren Zellkernes der Fibroblastenprobe aus Abbildung 4.9.

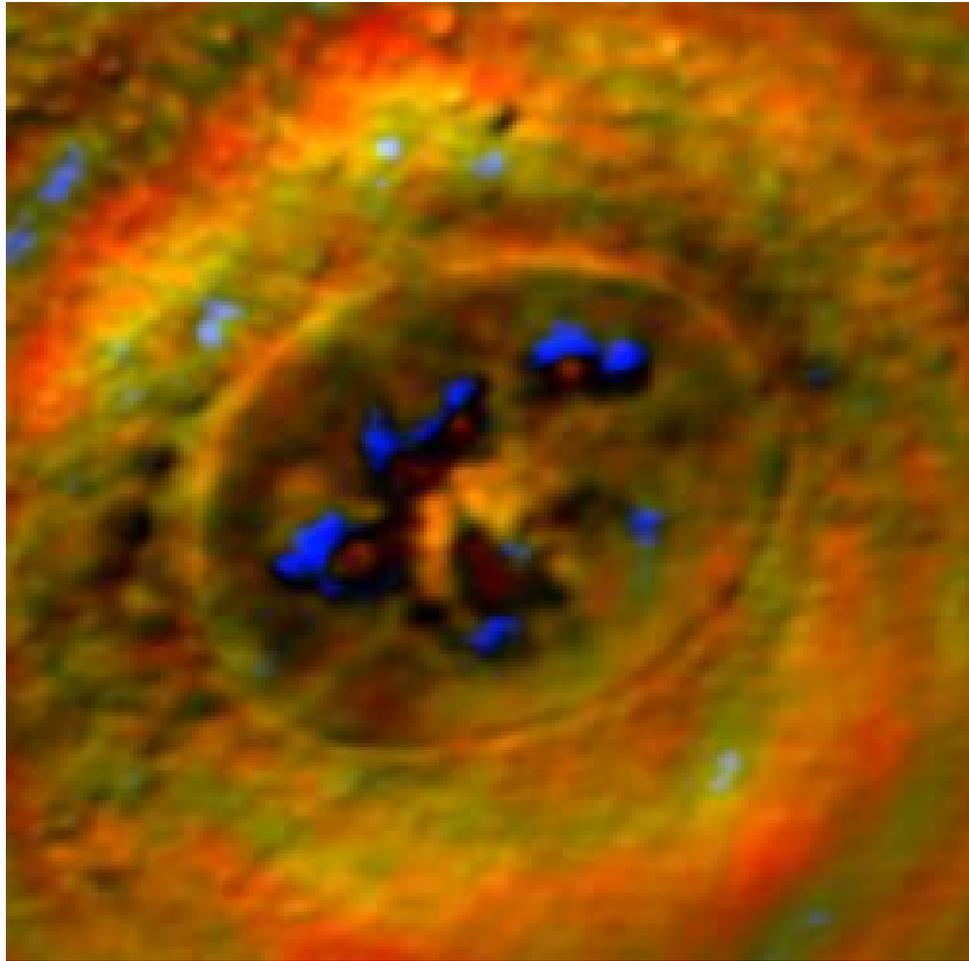


Abbildung 4.11: Farbige Wiedergabe der Rekonstruktionen des Hologramms bei einer Photonenenergie von 220 eV (rot) und 260 eV (grün) sowie Differenzbild (blau) der beiden Aufnahmen des unteren Zellkernes der Fibroblastenprobe aus Abbildung 4.9.

der geringe Kontrast des Phosphors an der K Absorptionskante einer Rolle. Die Transmission einer 200 nm dicken Phosphorschicht verringert sich bei 135 eV von 0,3 auf 0,1 im Vergleich zu Kohlenstoff, bei dem die Absorption einer gleich dicken Schicht an der K Kante bei 284 eV von 0,9 auf 0,1 fällt.

Abbildung 4.11 zeigt eine farbige Darstellung des Materialkontrastes zwischen den Aufnahmen bei 220 eV und 260 eV. Hier sind deutlich Strukturen im Bereich der Nucleoli zu erkennen. Dies zeigt nicht nur eindrucksvoll die hohe Empfindlichkeit des Verfahrens, sondern auch erstmals holographisch abgebildeten Materialkontrast in einem Zellkern. Der Ursprung

dieses Kontrastes ist bislang ungeklärt, da im Bereich von 220 eV bis 260 eV keine in Frage kommenden Absorptionskanten liegen.

4.1.5 Nucleoli in Lungenkrebs Zellen

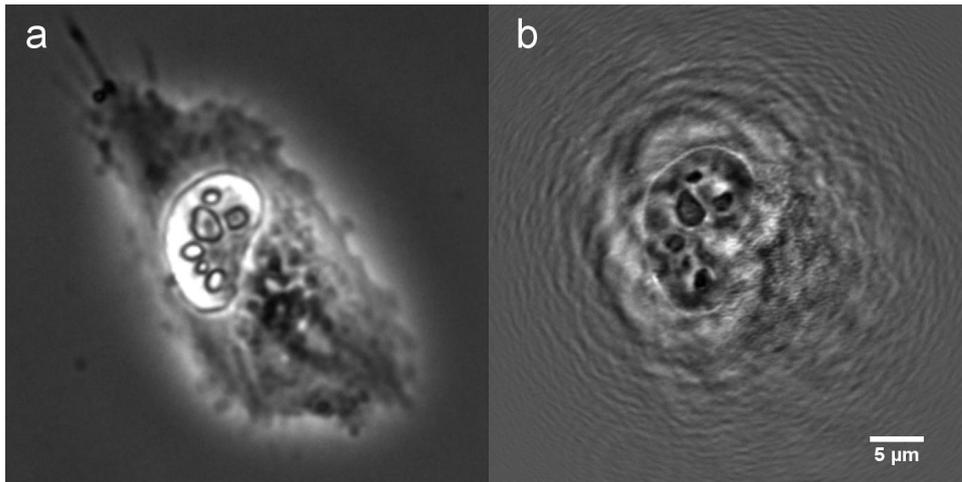


Abbildung 4.12: Mikroskopiebild (a) und Rekonstruktion des Hologramms (b) einer Lungenkrebszelle vom Stamm H1299 bei 900 eV (1,37 nm) mit einem 300 nm Pinhole aufgenommen. Deutlich zu erkennen sind hier der Zellkern sowie die Nucleoli. Das Mikroskopiebild wurde mit einem 40x Objektiv (NA 0,55) aufgenommen.

Hier wurden Lungenzellen des Stammes H1299 verwendet [Sigal], die genau wie die Fibroblasten fixiert und am kritischen Punkt getrocknet wurden. Abbildung 4.12 zeigt das Mikroskopiebild und die Rekonstruktion eines Hologramms bei 900 eV (1,37 nm). Die numerische Apertur des Hologramms betrug hier 0,066, die Probe wurde für die Aufnahme 20 mal 60 Sekunden, also 20 Minuten lang belichtet.

Abbildung 4.13 zeigt zwei weitere Beispiele dieser Lungenkrebszellen mit einer theoretischen Auflösung von etwa 150 nm. Hier sind in der Rekonstruktion sehr gut die Nucleoli zu erkennen.

Die Auflösung von Abbildung 4.12 wurde durch einen Linescan bestimmt und betrug nach dem 10%-90% Kriterium 263 nm. Der Unterschied zur theoretischen Auflösung liegt hier vermutlich wieder in einer „unschärfen Kante“, also an der nicht genau abgegrenzten Struktur der Nucleoli im Zellkern und in der nicht vollständigen Kohärenz der Beamline.

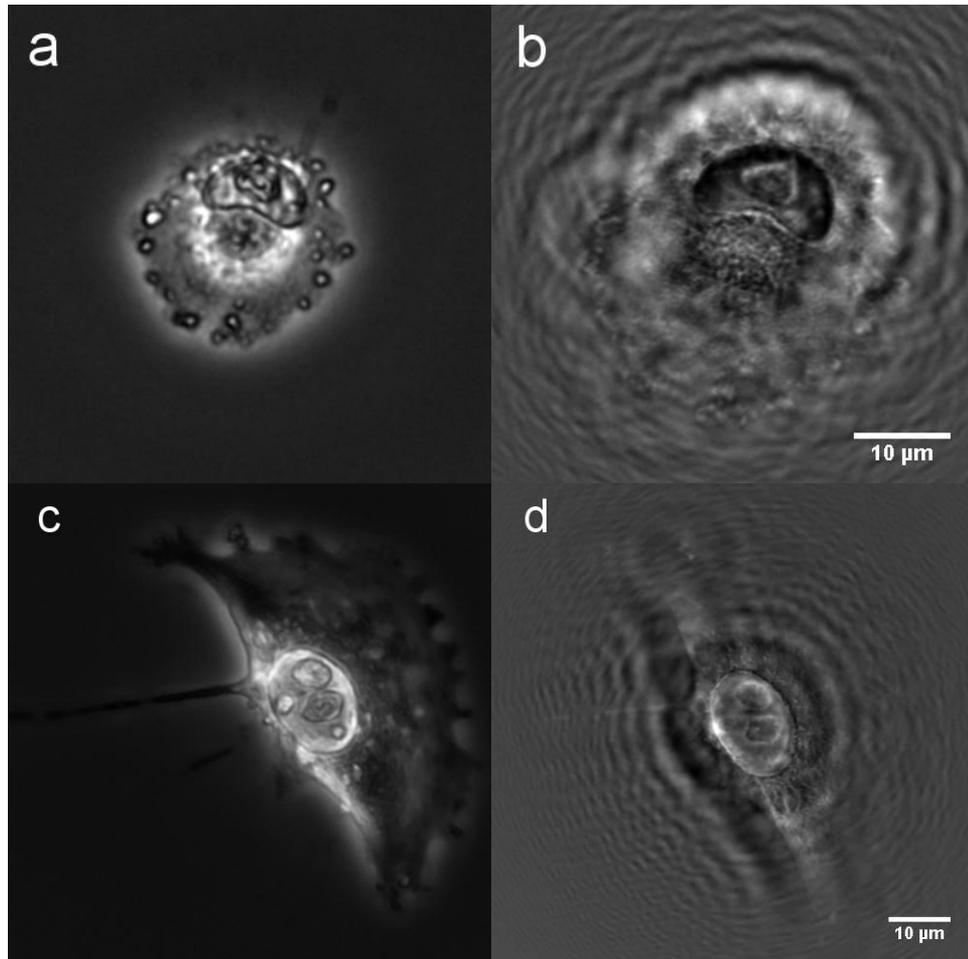


Abbildung 4.13: Mikroskopiebilder (a, c) und Rekonstruktionen des Hologramms (b, d) von zwei Lungenkrebszellen des Stammes H1299 bei 900 eV (1,37 nm) mit einem 300 nm Pinhole aufgenommen. Deutlich zu erkennen sind hier der Zellkern sowie Strukturen innerhalb des Zytoplasmas und des Zellkerns. Das Mikroskopiebild wurde mit einem 40x Objektiv (NA 0,55) aufgenommen.

4.1.6 Chromosomen

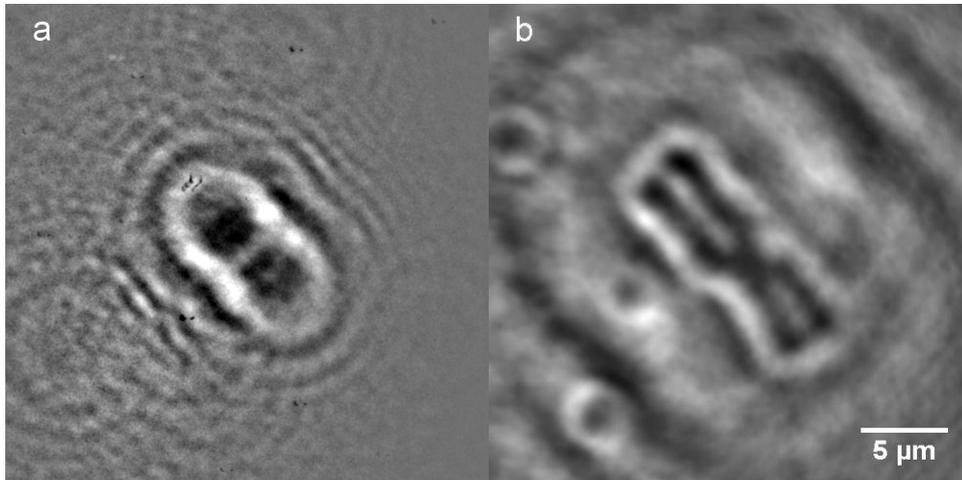


Abbildung 4.14: Hologramm (a) und Rekonstruktion des Hologramms (b) eines Chromosoms aufgenommen bei 137 eV (4,8 nm) mit einem 400 nm Pinhole.

Als weitere Probe kamen Chromosomen zum Einsatz. Dazu wurden He-La Zellen durch Colcemid in der Metaphase synchronisiert, und Chromosomenspreads auf der Siliziumnitrid Membran präpariert [Kaya]. Abbildung 4.14 zeigt das Hologramm und die Rekonstruktion eines so präparierten Chromosoms, aufgenommen mit einem 400 nm Pinhole bei 137 eV. Die Belichtungszeit betrug hier 10 mal 60 Sekunden. Abbildung 4.15 zeigt ein weiteres Chromosom aufgenommen bei 260 eV mit einem 200 nm Pinhole. Hier wurde die Auflösung erneut durch den Anstieg der Intensität von 10% auf 90% bestimmt und betrug 370 ± 40 nm bei einer theoretisch möglichen Auflösung von 100 nm. Diese Differenz kann an leichten mechanischen Schwingungen, die die feinen Interferenzringe höherer Ordnung verwischen, oder an einem nicht optimalen Abstand zwischen Pinhole und Detektor liegen [Barth09].

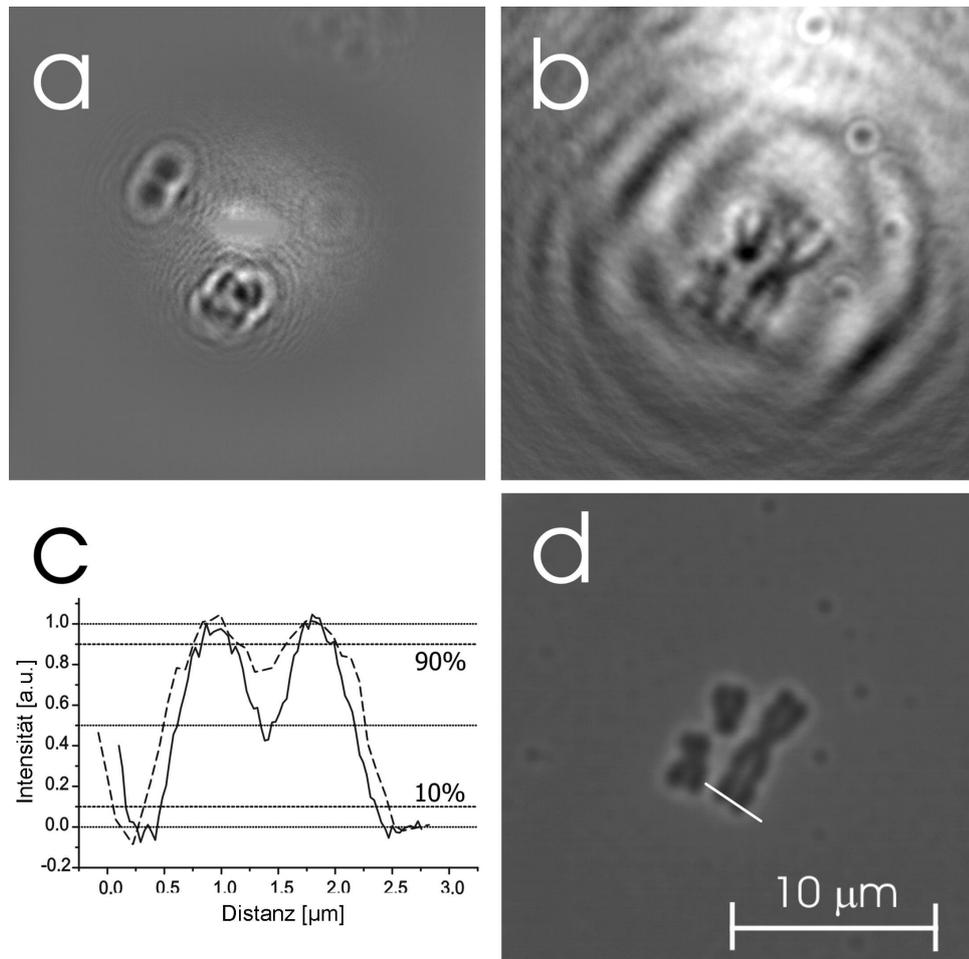


Abbildung 4.15: Hologramm (a) und Rekonstruktion des Hologramms (b) eines Chromosoms aufgenommen bei 260 eV mit einem 200 nm Pinhole. Im Mikroskopiebild (d) sind zwei Linien zur Auflösungsbestimmung markiert, die in (c) aufgetragen sind. Die Mikroskopiebilder wurden mit einem 40x Objektiv (NA 0,75) aufgenommen [Barth09].

4.1.7 Tomographie

Mit der neu entwickelten Apparatur ist es möglich die Probe im Röntgenstrahl zu drehen, es können also tomographische Bildserien aufgenommen werden. Dazu wird zunächst die aufzunehmende Stelle der Probe genau auf der Drehachse des Drehtisches justiert, so das sich das Sichtfeld beim Drehen nicht ändert. Dann kann die Probe um $100^\circ (\pm 50^\circ)$ gedreht werden. Die Abbildungen 4.16, 4.17 und 4.18 zeigen Beispiele solcher Bildserien von den Lungenkrebszellen, aufgenommen mit einem 300 nm Pinhole bei 900 eV (1,37 nm).

Die Probe wurde dabei in Schritten von jeweils 10° gedreht. Für eine Rekonstruktion wären allerdings deutlich mehr Drehschritte erforderlich, außerdem muss bei der Präparation auf ausreichend viele Referenzpunkte in der Umgebung der Zellen geachtet werden, um ein präzises finden der Drehachse für die Rekonstruktion zu ermöglichen. Bei den hier gezeigten Aufnahmen war dies leider nicht gegeben, weshalb eine tomographische Rekonstruktion scheiterte.

Die im Fall von tomographischen Aufnahmen vergleichsweise lange Belichtungszeit führt nicht zu direkt beobachtbaren Strahlenschäden (vgl. Kapitel 4.2).

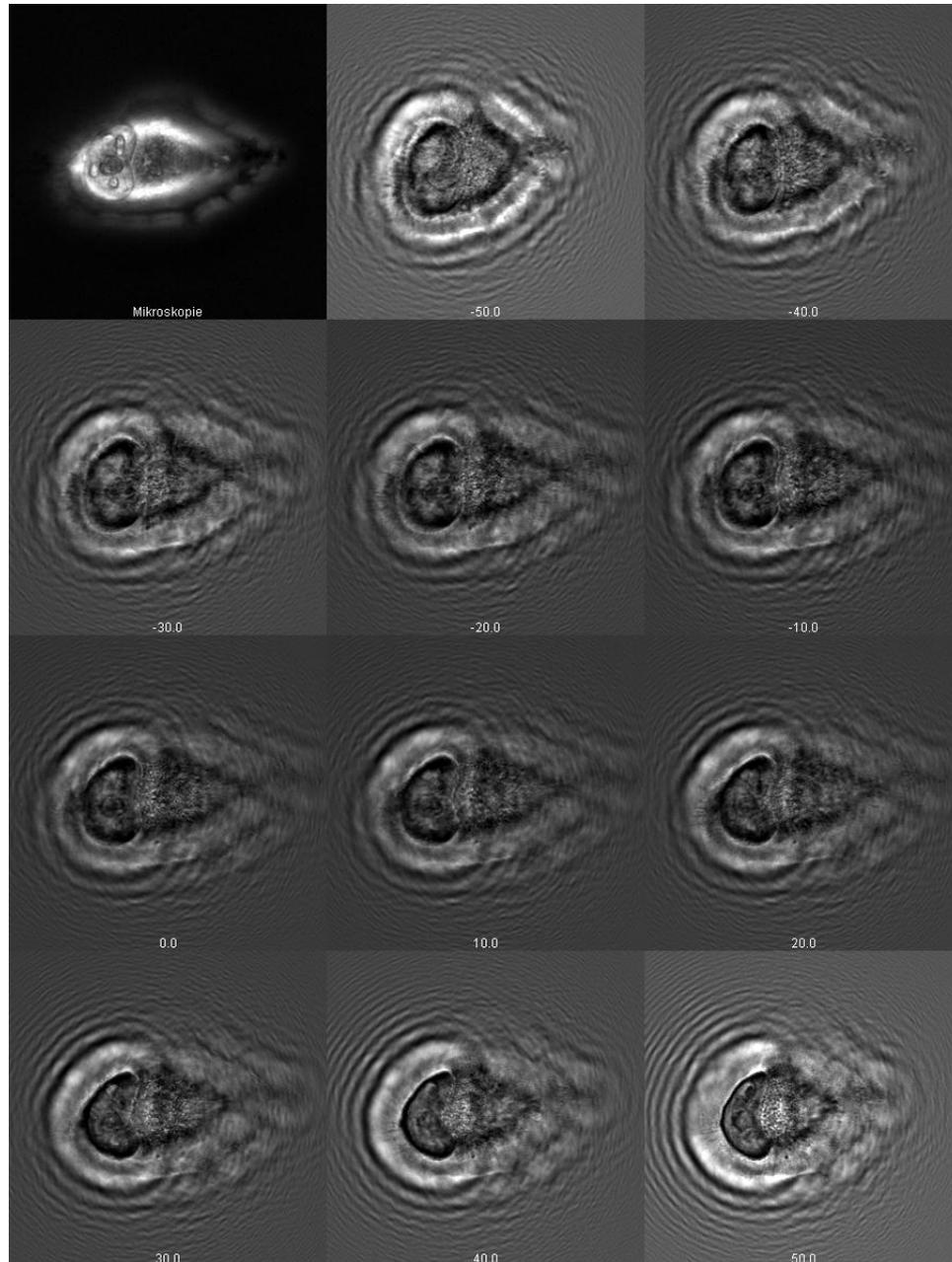


Abbildung 4.16: Mikroskopiebild aufgenommen mit einem 40x Objektiv (NA 0,55) (oben links) und tomographische Bildserie einer Lungenkrebszelle bei 900 eV.

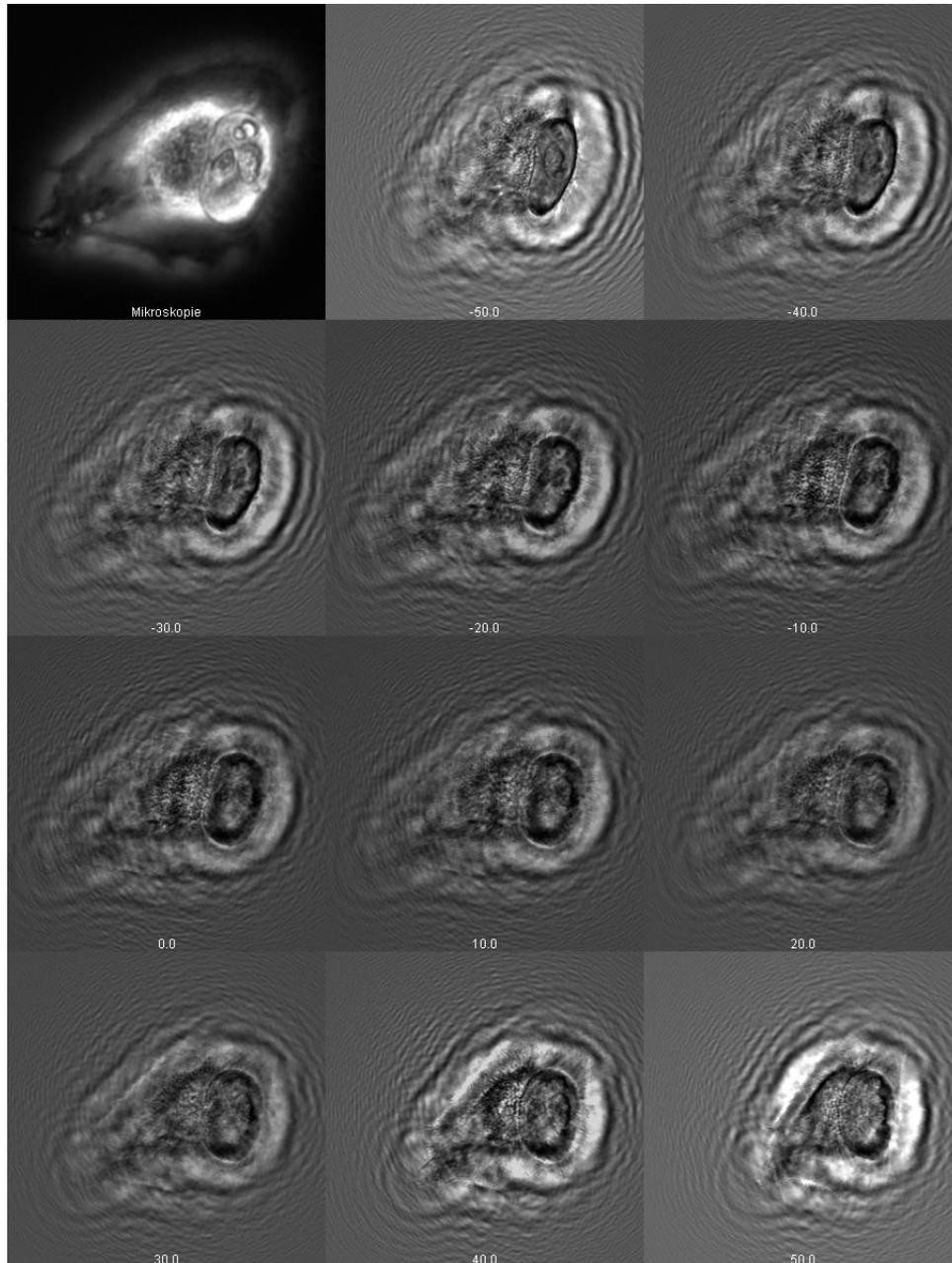


Abbildung 4.17: Mikroskopiebild aufgenommen mit einem 40x Objektiv (NA 0,55) (oben links) und tomographische Bildserie einer Lungenkrebszelle bei 900 eV.

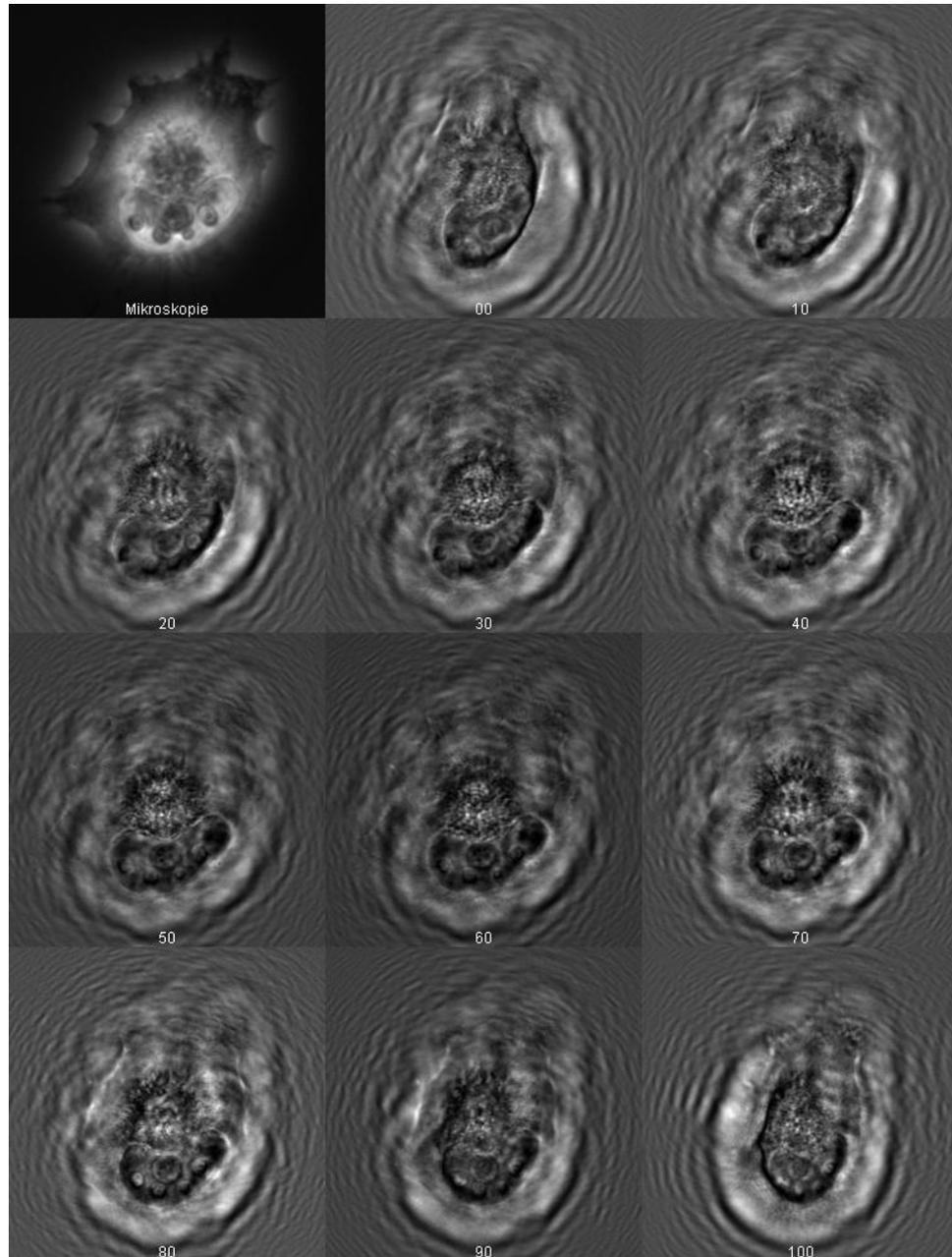


Abbildung 4.18: Mikroskopiebild aufgenommen mit einem 40x Objektiv (NA 0,55) (oben links) und tomographische Bildserie einer Lungenkrebszelle bei 900 eV.

4.2 Strahlenschäden

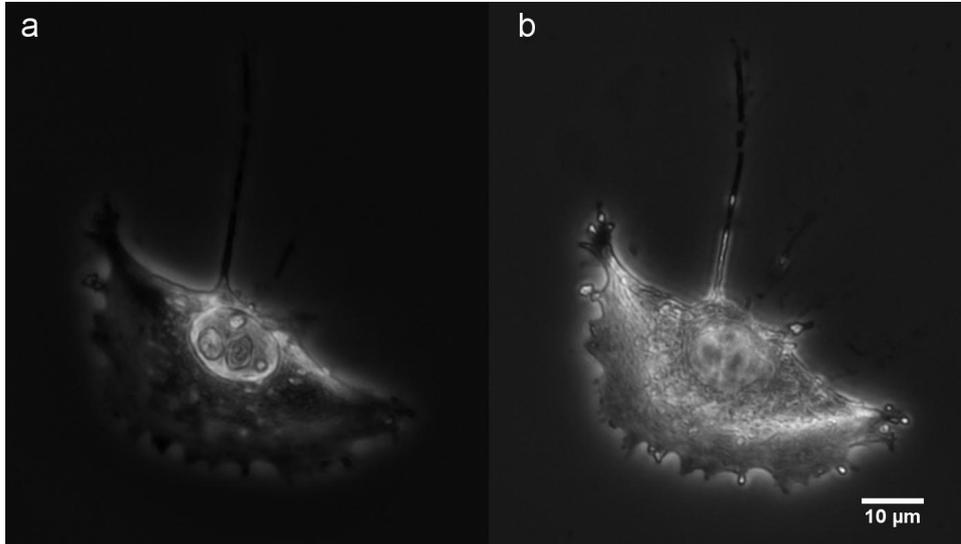


Abbildung 4.19: Strahlenschäden der Lungenkrebszelle aus Abbildung 4.13. Mikroskopiebild aufgenommen mit einem 40x Objektiv (NA 0,55) vor (a) und nach (b) der Bestrahlung mit Röntgenstrahlen.

Die Exposition von Zellen mit Röntgenstrahlen führt stets zu einer Schädigung dieser Zellen, was nicht nur durch eine beeinträchtigte Funktion, sondern im Falle einer hohen Dosis auch in einer Veränderung der Struktur sichtbar wird [Howells]. Diese Strukturveränderung ist zunächst auf die Zerstörung von chemischen Bindungen innerhalb der Proteine der Zelle zurückzuführen.

Abbildung 4.19 zeigt eine Lungenkrebszelle der Linie H1299 vor und nach der holographischen Aufnahme mit weicher Röntgenstrahlung von 900 eV. Die Belichtungszeit betrug dabei 20 mal 60 Sekunden, also 20 Minuten. Deutlich zu erkennen ist eine erheblich veränderte Struktur nach der Bestrahlung (rechts).

Die Dosis der von der Zelle absorbierten Strahlung berechnet sich dabei aus dem Photonenfluss der Beamline von $8 \cdot 10^{11}$ Photonen/Sekunde bei 900 eV, der durch das Pinhole um den Faktor $3 \cdot 10^{-4}$ abgeschwächt wird. Dies ergibt einen Photonenfluss von auf $2,4 \cdot 10^8$ Photonen/Sekunde auf der Probe, ein Wert der gut mit den vom CCD-Chip detektierten $4 \cdot 10^7$ Photonen/Sekunde übereinstimmt, wenn man die Transmission der 100 nm dicken Siliziumnitrid Membran von 90% bei dieser Energie, sowie die Absorption der Probe berücksichtigt.

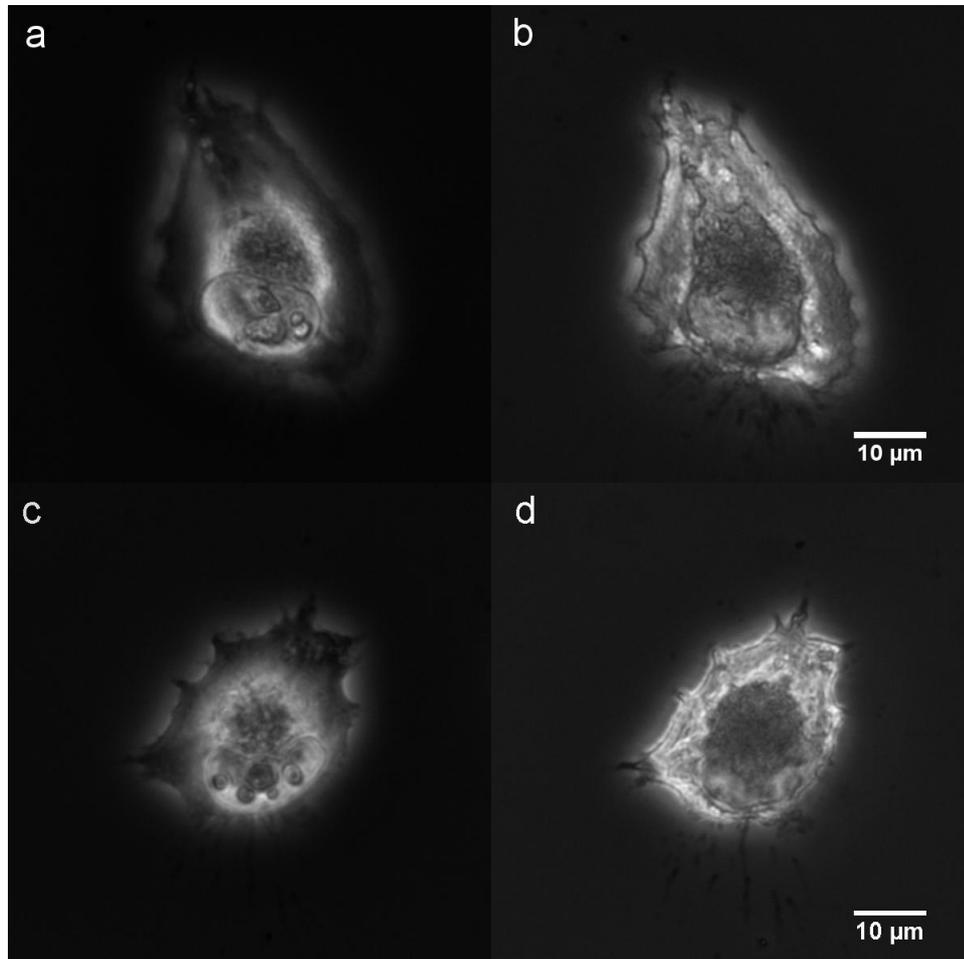


Abbildung 4.20: Strahlenschäden der Lungenkrebszellen aus Abbildung 4.16 und Abbildung 4.18. Mikroskopiebilder aufgenommen mit einem 40x Objektiv (NA 0,55) vor (a, c) und nach (b, d) der Bestrahlung mit Röntgenstrahlen.

Unter der Annahme, dass der Zellkern eine Dichte von eins hat und, und 82% der ihn treffenden Photonen absorbiert werden (Mittelwert der Absorption im Bild gemessen) ergibt sich eine Strahlenbelastung des Zellkernes von $6 \cdot 10^7$ Gy bei einer Belichtungszeit von 20 Minuten. Nach [Howells] ist der Zusammenhang zwischen Dosis und Größe der zerstörten Struktur (Vgl. Kapitel 2.2.5)

$$\text{Dosis [Gy]} = 1 \cdot 10^8 \cdot \text{Auflösung [nm]}.$$

Bei einer Auflösung von 300 nm wird eine Struktur in dieser Größenord-

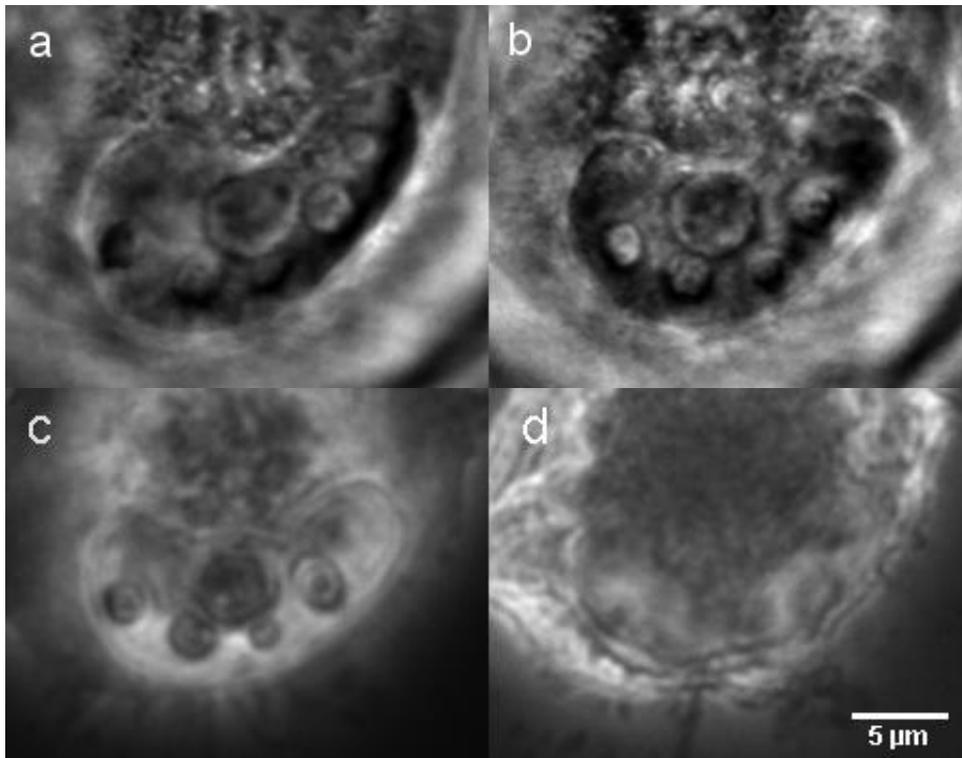


Abbildung 4.21: Vergrößerung des Zellkernes aus Abbildung 4.20 c und d. Die Hologramme aus der Tomographieserie (Abbildung 4.18) wurden nach 60 (a) bzw. 180 (b) Minuten im Röntgenstrahl bei 20° bzw. 80° Drehwinkel aufgenommen. Die Mikroskopiebilder wurden mit einem 40x Objektiv (NA 0,55) vor (c) und nach (d) der Bestrahlung mit Röntgenstrahlen aufgenommen.

nung also erst bei einer Dosis von $3 \cdot 10^{10}$ Gy beeinträchtigt. Umgedreht kann davon ausgegangen werden, dass bei der für die holographische Bildaufnahme bislang eingesetzten Strahlendosis Schädigungen der Zelle in der Größenordnung von 0,6 nm entstehen, also deutlich unter der momentan erreichbaren Auflösung. Tabelle 4.2 zeigt die für das aufgenommene Hologramm bestimmte Strahlendosis im Vergleich zu mit Röntgenmikroskopie und Röntgenstreuung bestimmten strukturzerstörenden Dosen.

Sichtbare Strahlenschäden sollten also erst bei erheblich längeren Belichtungszeiten auftreten. Diese Berechnung wird von den aufgenommenen Tomographieserien bestätigt. Abbildung 4.20 zeigt zwei Zellen, die tomographisch aufgenommen wurden, und damit für die zehn Drehwinkel 200 Minuten bestrahlt wurden. Auch hier ist eine deutliche Veränderung

Dosis [Gy]	Auflösung [nm]	Verfahren
$1 \cdot 10^{10}$	30	Röntgenmikroskopie bei 520 eV
$5 \cdot 10^{11}$	60	Röntgenmikroskopie bei 520 eV
$3 \cdot 10^9$	25	Röntgenstreuung bei 520 eV
$6 \cdot 10^7$	300	Röntgenholographie bei 900 eV

Tabelle 4.1: Strukturzerstörende Dosis bei Röntgenmikroskopie und Röntgenstreuung für verschiedene Strukturgrößen aus [Howells]. Im Vergleich dazu Dosis und erreichte Auflösung bei der Röntgenholographie.

der Struktur nach der Bestrahlung nur im Mikroskopiebild sichtbar.

Diese Veränderung ist in den Tomographischen Bildserien (Abbildungen 4.16 und 4.18) nicht zu erkennen. Abbildung 4.21 zeigt Ausschnitte der Mikroskopiebilder der Zellen in Abbildung 4.20 und zum Vergleich zwei Drehwinkel des gleichen Zellkernes aus Abbildung 4.18 nach 60 sowie 180 Minuten Bestrahlung. Die Struktur des Zellkerns hat sich dabei nicht sichtbar verändert.

Offensichtlich entstehen die beobachteten Veränderungen der Struktur erst nach dem Ausbau der Probe aus der Vakuumkammer. Hier liegt die Vermutung nahe, dass die Veränderungen durch Oxidation der Zellschäden am Sauerstoff der Luft nach dem Belüften der Vakuumkammer entstehen. Während der Aufnahme bleiben die Strukturen jedoch erhalten.

4.3 Experimente bei FLASH (DESY)

Erste Experimente an einem Freie Elektronen Laser (FEL) wurden im Dezember 2007 und im Juli 2008 an der Monochromator Beamline PG2 sowie der Beamline PG0 bei FLASH (Free Electron Laser Hamburg) (DESY) durchgeführt. Auch hier sind weitere Strahlzeiten bewilligt worden und geplant. Im Unterschied zu BESSY stellt FLASH als Strahlungsquelle der vierten Generation ganz besondere Anforderungen an die Apparatur. Da stets nur einige Stunden Strahlzeit bewilligt wurden, musste die Justage des gesamten Aufbaus bereits im Vorfeld durch einen in das Strahlrohr eingekoppelten Laser erfolgen. Außerdem muss die Montage der Pinholes sehr präzise erfolgen, da die Zeit um diese später mit dem Röntgenstrahl zu suchen, sehr begrenzt ist. Aus diesem Grund wurden die hier gezeigten holographischen Aufnahmen auch mit einem kommerziellen, 13 μm dicken Edelstahlpinhole mit einem Durchmesser von 1 μm aufgenommen. Dieses ist aufgrund seiner deutlich größeren Transmission sehr viel schneller und einfacher zu finden.

4.3.1 Strahl und Kohärenzstabilität bei FLASH

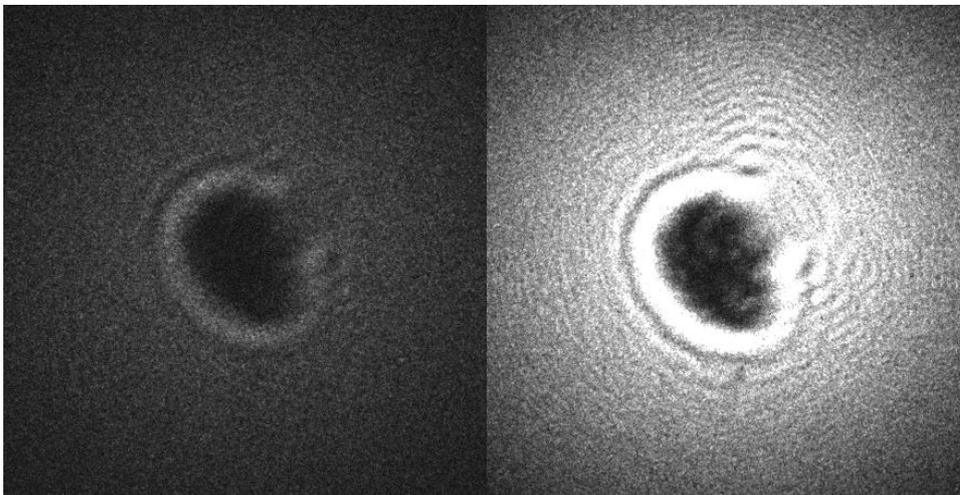


Abbildung 4.22: Zwei aufeinanderfolgende Pulszüge bei FLASH. Deutlich zu erkennen ist die sehr unterschiedliche Intensität sowie die höhere Kohärenz im rechten Bild. Das Bild wurde bei einer Photonenenergie von 460 eV mit einer Lungenkrebszelle als Streuobjekt und einem 1 μm Pinhole aufgenommen.

Bei ersten Messungen fiel auf, dass die Lage des Strahles, wie auch die Kohärenz und Intensität zwischen den einzelnen Pulszügen stark variiert. Abbildung 4.22 zeigt Bilder von zwei aufeinanderfolgenden Pulszügen aus einer Holographieserie mit $1\ \mu\text{m}$ Pinhole und einer Lungenkrebszelle als Probe. Dies ist auf die Erzeugung der Pulse zurückzuführen: für jeden einzelnen Puls wird ein Elektronenpaket erzeugt, beschleunigt und emittiert schließlich im Undulator Photonen. Kleinste Abweichungen bei diesem Prozess führen dann zu leicht unterschiedlichen Pulsen.

4.3.2 Holographie Experimente

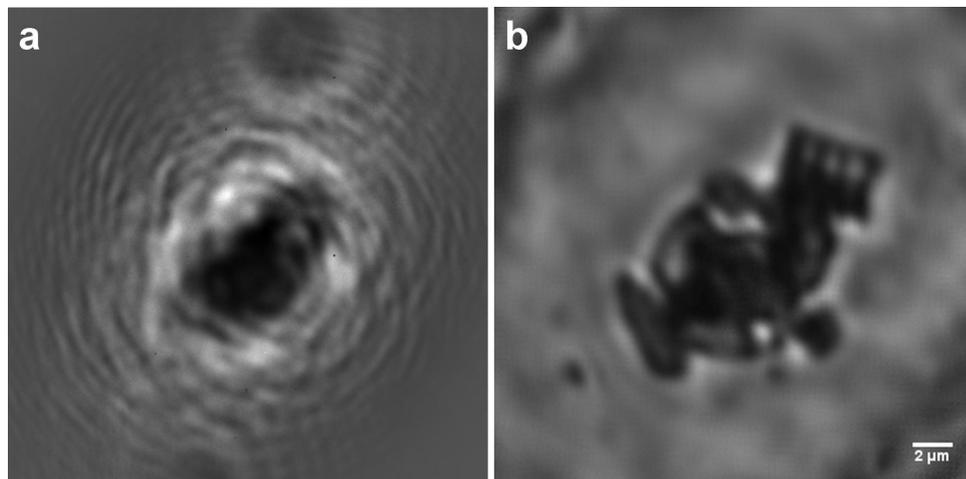


Abbildung 4.23: Hologramm (a) und Rekonstruktion (b) einer Diatomeenprobe, aufgenommen bei FLASH mit einem $1\ \mu\text{m}$ Pinhole bei $155\ \text{eV}$ [Rosenhahn09].

Abbildung 4.23 zeigt Mikroskopiebild und Rekonstruktion eines fossilen Diatomees, aufgenommen mit einem $1\ \mu\text{m}$ Pinhole ohne Monochromator bei einer fundamentalen Wellenlänge von $155\ \text{eV}$. Hier wurden wie auch schon bei BESSY fünf Bilder mit einer Belichtungszeit von jeweils 60 Sekunden aufgenommen, die Drift korrigiert, aufsummiert und dann numerisch rekonstruiert. Die Auflösung wurde anhand von Linienprofilen bestimmt und betrug $620\ \text{nm}$. Abbildung 4.24 zeigt eine mit den gleichen Parametern aufgenommene Fibroblastenzelle, die Rekonstruktion, sowie zwei Mikroskopiebilder dieser Zelle, aufgenommen mit Durchlicht und mit Phasenkontrast. Die numerische Apertur betrug hier nur $0,008$. Trotzdem können Strukturen im Zellkern, die vergleichbar mit den Mikroskopiebildern

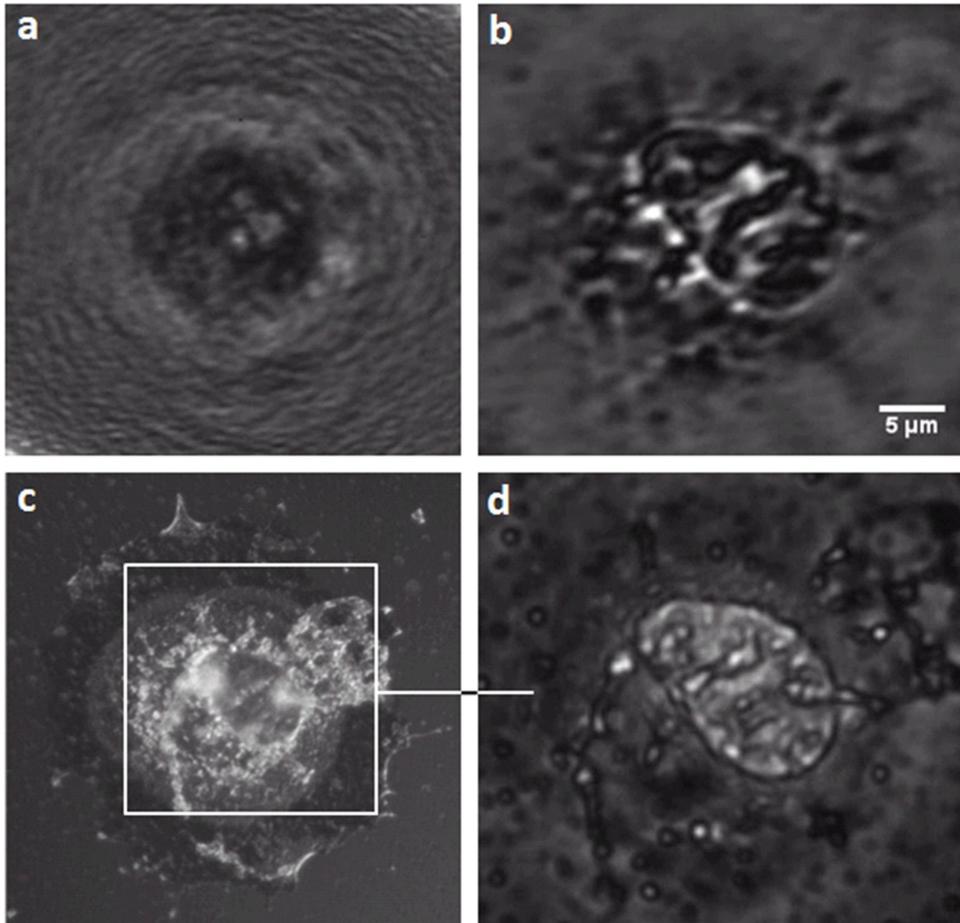


Abbildung 4.24: Hologramm (a) und Rekonstruktion des Hologrammes (b) einer Fibroblastenzelle mit einem 1 µm Pinhole bei 155 eV. Mikroskopiebilder der selben Zelle aufgenommen mittels DIC (100x, NA 0,9) (c) und Phasenkontrast (20x NA 0,45) (d) [Rosenhahn09].

sind, aufgelöst werden. Aufgrund der räumlichen Filterung durch das Pinhole konnte hier nur ein Anteil von ungefähr 10^{-5} der in einem Puls vorhandenen Photonen verwendet werden, weshalb die Aufnahmen ungefähr 6300 Einzelpulse enthalten. Eine genauere Fokussierung des Strahles durch Zonenplatten, so das 10% der in einem Puls enthaltenen Photonen genutzt werden, könnte hier jedoch Einzelpulsmessungen ermöglichen [Rosenhahn09].

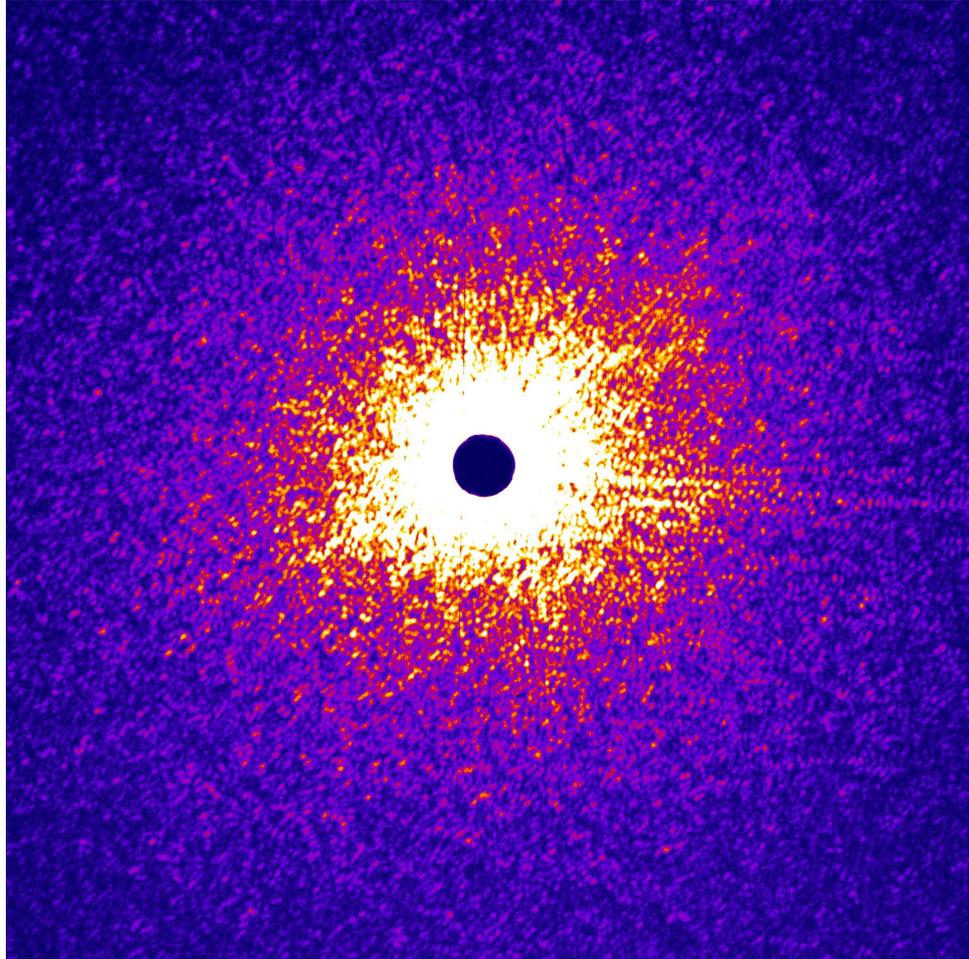


Abbildung 4.25: CXDI Streumuster einer Fibroblastenzelle, aufgenommen bei 155 eV. Deutlich zu erkennen ist die zentrale Strahlblende als Kreis in der Mitte.

4.3.3 CXDI und Fourier Holographie Experimente

Auch CXDI (Coherent X-ray Diffraction Imaging) Experimente sind mit der neuen Apparatur möglich. Dazu wurde direkt vor der Kamera ein motorisierter Halter für Mittenstops (Beamstops) unterschiedlicher Größe montiert. Mit ihm konnten verschieden große Epoxidharzkügelchen in den direkten Strahl bewegt werden, um ihn vor der Kamera zu blockieren und damit diese vor Schäden zu bewahren. Abbildung 4.26 zeigt schematisch ein solches Experiment im Vergleich zur Holographie. Der Halter für die Pinholes wird in diesem Fall vollständig aus dem Strahlengang gefahren.

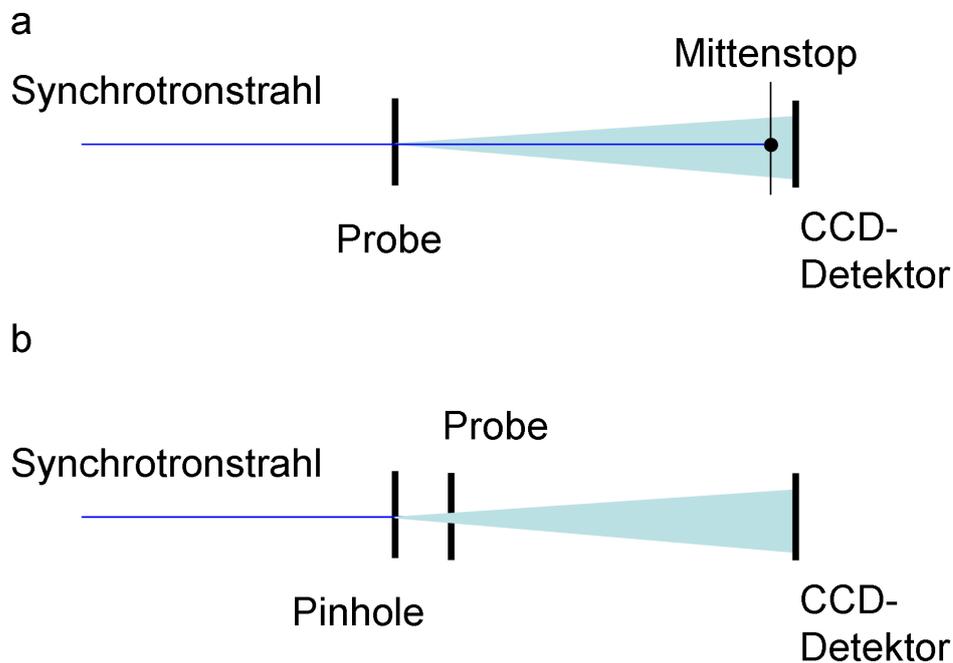


Abbildung 4.26: Struktur eines CXDI Experimentes: der Synchrotron Strahl trifft zunächst auf die Probe, die zur Streuung der Photonen führt. Der direkte Strahl wird vor der Kamera durch einen Mittenstop absorbiert, das ihn umgebende Streumuster wird aufgenommen (a). Bei der Fourier Holographie befindet sich hier zusätzlich ein Referenzpunkt auf der Probe. Bei der In-Line Holographie (b) ist vor der Probe ein Pinhole im Strahlengang, auf den Mittenstop vor der Kamera kann deshalb verzichtet werden.

Die Probe wird nun ohne Pinhole mit dem direkten Strahl belichtet und das Streumuster um die Strahlblende herum aufgenommen. Abbildung 4.25 zeigt ein so aufgenommenes Streumuster einer Fibroblastzelle.

Bei der Fourier Holographie entsteht eine zusätzliche Referenzwelle aus einem Referenzloch in der Probe. In dem Fall der Navicula Probe konnte jedoch gezeigt werden, dass dieses Verfahren auch mit einem punktförmigen Referenzobjekt auf der Probe funktioniert. Dies führt dazu, dass das CXDI Bild durch einfache Fourier Transformation in ein Realraumbild überführt werden kann. Abbildung 4.27 zeigt die durch CXDI, Holographie und Fourier Holographie entstandenen Bilder einer Navicula Probe aufgenommen bei einer Photonenenergie von 460 eV. Deutlich sichtbar ist hier allerdings, dass wie zu erwarten die Auflösung der Holographie mit einem 1 μm Pinhole sowie der Fourier Holographie schlechter als die des lichtmikroskopisch

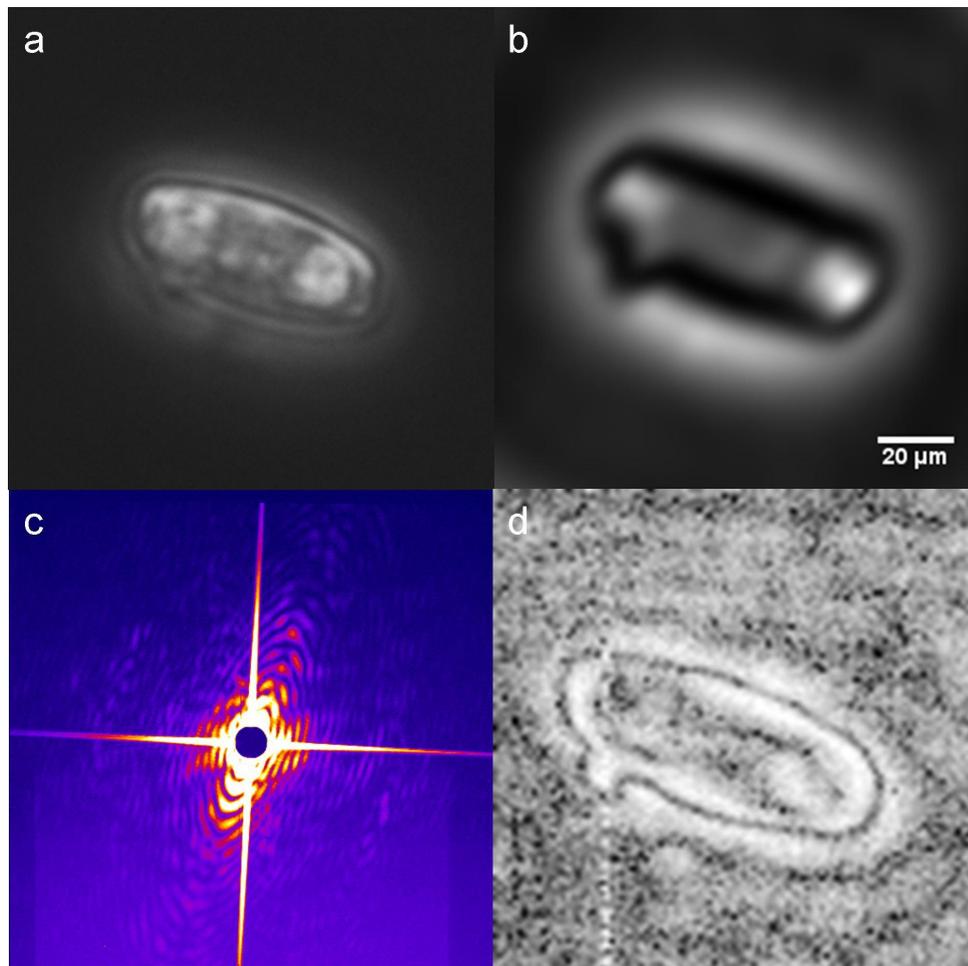


Abbildung 4.27: Mikroskopiebild (a), Rekonstruktion des Hologramms (b), CXDI Bild (c) und Rekonstruktion der Fourier Holographie (d) einer Navicula Probe bei 155 eV. Das Mikroskopiebild wurde mit einem 40x Objektiv (NA 0,55) aufgenommen, das Hologramm mit einem 1 μm Pinhole.

aufgenommenen Bildes sind.

4.4 Zonenplatten

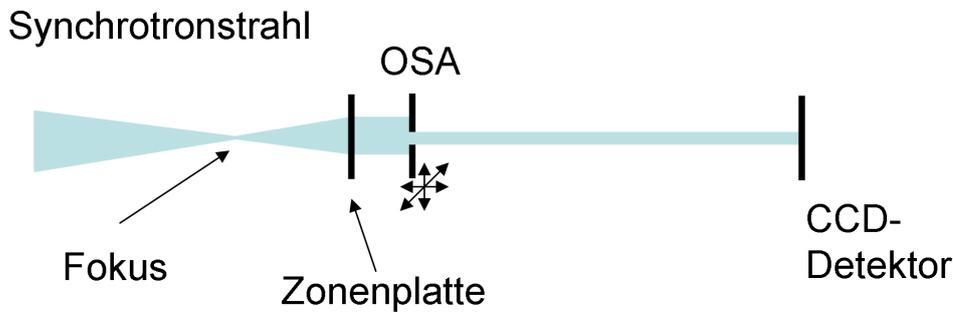


Abbildung 4.28: Skizze der Zonenplattenexperimente. Die Zonenplatte war dabei an den Pinholehalter montiert und befand sich leicht hinter dem Fokuspunkt der Beamline. Am Probenhalter war die Order sorting Aperture (OSA) montiert. Sie wurde für die folgenden Experimente in allen drei Raumachsen verfahren. Eine Probe befand sich nicht im Strahlengang.

Der Einsatz von Zonenplatten um den Strahl auf das Pinhole zu fokussieren und so einen deutlich höheren Photonenfluss zu erhalten stellt einen nächsten Entwicklungsschritt der Röntgenholographie dar. Auf diese Weise können die Belichtungszeiten deutlich verkürzt werden, und so auch in Energiebereichen mit sonst viel zu niedrigem Photonenfluss Hologramme aufgenommen werden. Außerdem erlaubt eine gute Fokussierung des Röntgenstrahles die Verwendung noch kleinerer Pinholes, mit denen dann eine entsprechend höhere Auflösung der Hologramme zu erzielen wäre. Bei FLASH könnten mit einer präzisen Strahlfokussierung durch eine Zonenplatte Einzelpulsaufnahmen möglich werden.

Sowohl bei BESSY wie auch bei FLASH wurden erste Experimente mit Zonenplatten durchgeführt. Die bei BESSY verwendeten Zonenplatten wurden uns von S. Rehbein zur Verfügung gestellt. Sie bestehen aus einer 50 nm dicken Siliziumnitrid Membran. Sie haben 280 Zonen aus 180 nm Nickel, der Radius beträgt 45 μm , die äußerste Zone hat eine Breite von 80 nm. Daraus ergibt sich eine Brennweite von 3 mm bei 2,4 nm Wellenlänge.

Bei dem ersten Experiment wurde auf dem Pinholehalter eine Zonenplatte und auf dem Probenhalter ein großes Pinhole als Order Sorting Aperture (OSA) montiert, eine Probe befand sich nicht im Strahlengang. Die OSA wurde dann im Strahl um den Fokus der Zonenplatte bewegt, um diesen zu finden (Abbildung 4.28). Abbildungen 4.29, 4.30 und 4.31 zeigen die dabei entstandenen Aufnahmen und das die Zonenplatte die lange Bestrah-

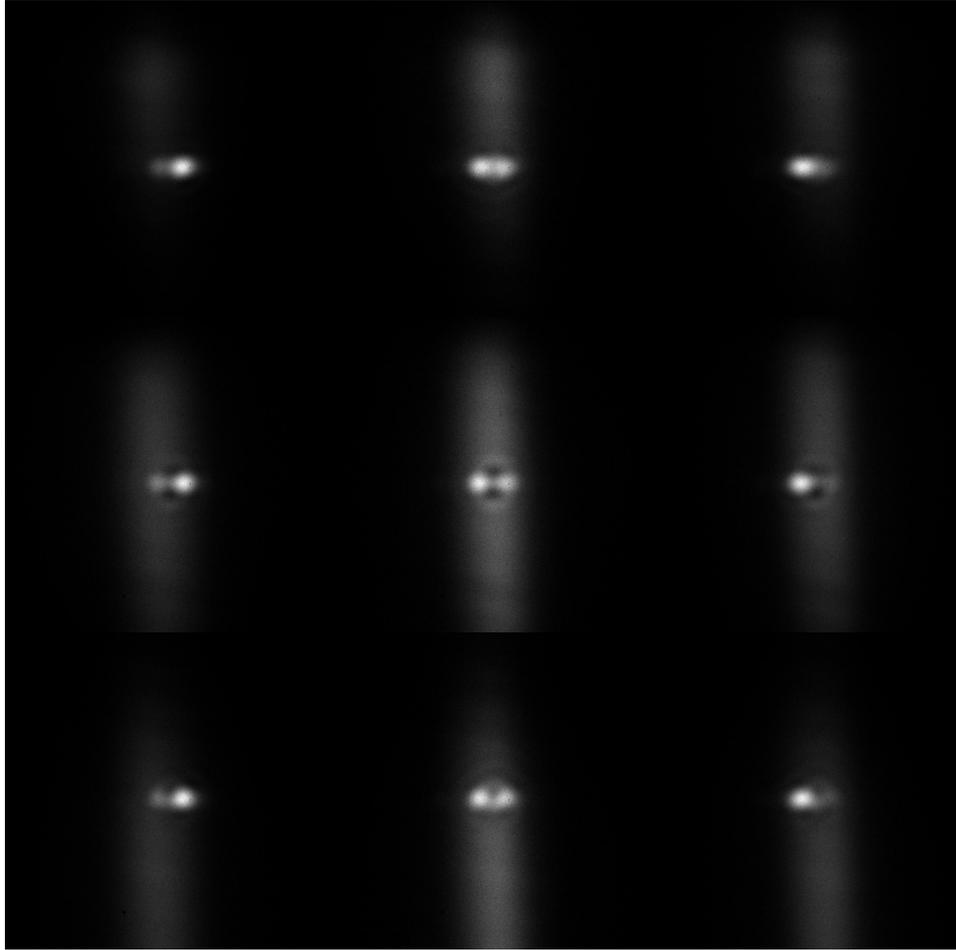


Abbildung 4.29: Abbildung des Strahls bei BESSY durch eine Zonenplatte. Die Order Sorting Aperture (OSA) befand sich dabei $500\ \mu\text{m}$ hinter dem Brennpunkt der Zonenplatte. Im mittleren Bild ist die OSA vor der Zonenplatte zentriert, bei den äußeren Bildern um jeweils $1\ \mu\text{m}$ nach oben/unten/rechts/links/diagonal verschoben.

lung bei BESSY problemlos überstanden hat.

Allerdings zeigen die Bilder auch, dass die Zonenplatte in etwa um ihre Brennweite hinter dem Fokus der Beamline montiert war. Dadurch wurde der Strahl annähernd parallelisiert und auf dem CCD-Chip abgebildet. Durch die unterschiedlichen horizontalen und vertikalen Fokusslängen der Beamline entstehen die unterschiedlichen Muster der Abbildungen. Hier zeigt sich, dass eine Verfahrmöglichkeit entlang der Strahlachse, die für die Pinholes nicht nötig war, für Zonenplatten unerlässlich ist.

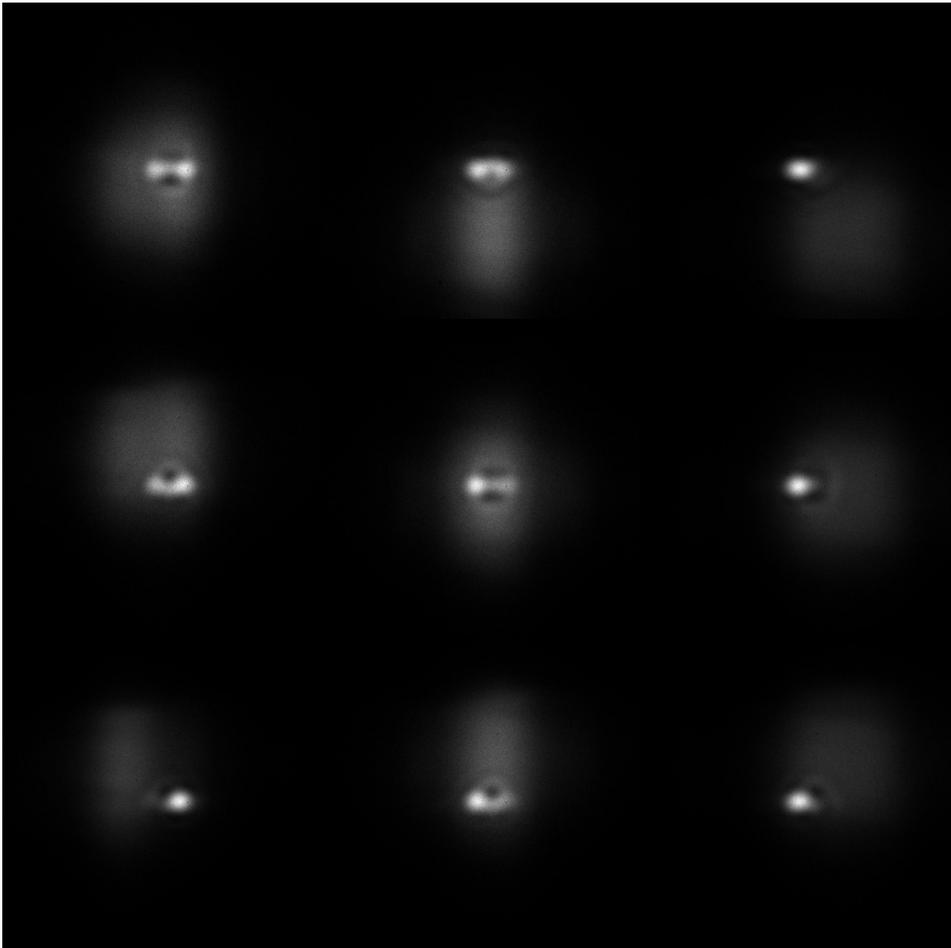


Abbildung 4.30: Abbildung des Strahls bei BESSY durch eine Zonenplatte. Die Order Sorting Aperture (OSA) befand sich hier im Brennpunkt der Zonenplatte. Im mittleren Bild ist die OSA vor der Zonenplatte zentriert, bei den äußeren Bildern um jeweils $1\ \mu\text{m}$ nach oben/unten/rechts/links/diagonal verschoben.

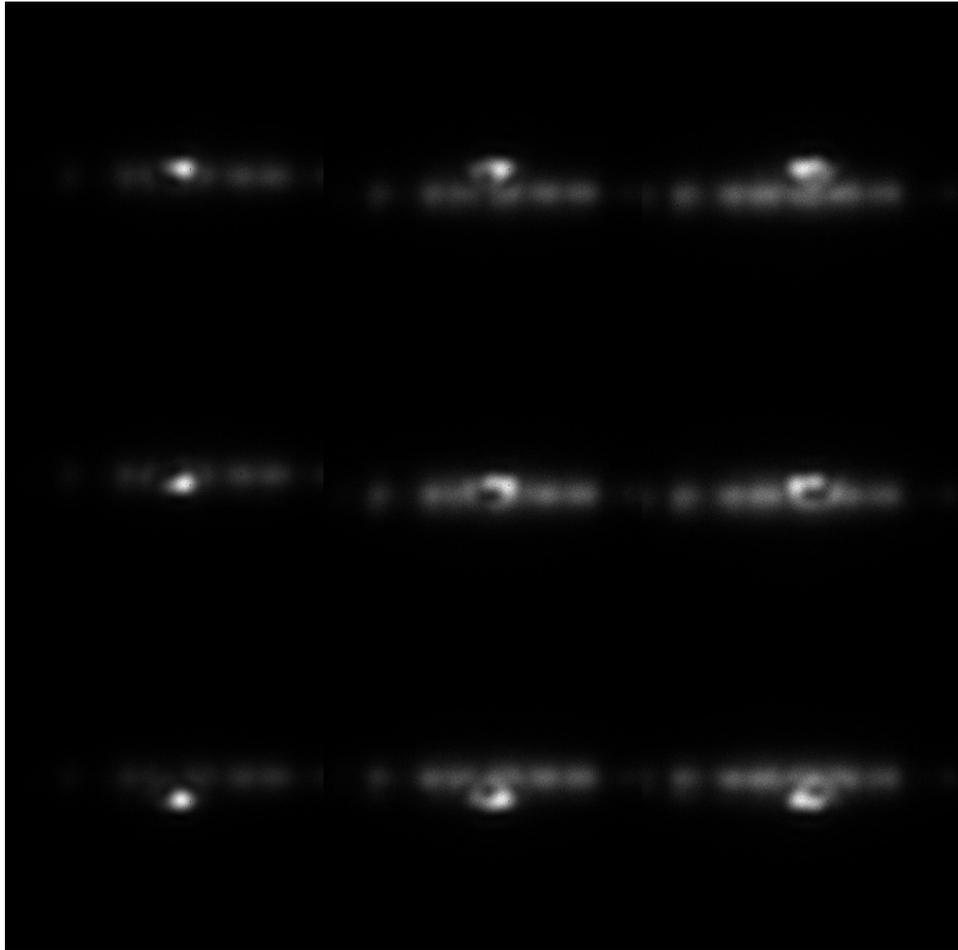


Abbildung 4.31: Abbildung des Strahls bei BESSY durch eine Zonenplatte. Die Order Sorting Aperture (OSA) befand sich dabei $500\ \mu\text{m}$ vor dem Brennpunkt der Zonenplatte. Im mittleren Bild ist die OSA vor der Zonenplatte zentriert, bei den äußeren Bildern um jeweils $1\ \mu\text{m}$ nach oben/unten/rechts/links/diagonal verschoben.

Kapitel 5

Zusammenfassung und Ausblick

In dieser Arbeit wurde eine neue Apparatur, primär für die Holographie mit Synchrotronstrahlung, entwickelt. Dies ist besonders interessant, da es auf diese Weise möglich ist Proben linsenlos, also auch ohne Abbildungsfehler durch Linsen aufzunehmen. Synchrotronstrahlung bietet sich an, da zum einen durch die kurzen Wellenlängen eine hohe Auflösung erzielt werden kann, zum anderen kann bei Wellenlängen im Wasserfenster (2,3 nm bis 4,4 nm) der materialspezifischer Kontrast der Probe ausgenutzt werden, eine aufwendige Färbung ist bei der Präparation also nicht nötig.

Zunächst wurden erste Testmessungen bei BESSY mit einer anderen Vakuumkammer durchgeführt, um die praktische Umsetzbarkeit dieser Idee zu demonstrieren und ein Anforderungsprofil für die eigene Apparatur zu erstellen. Dabei konnten nicht nur erste erfolgreich aufgenommene Hologramme [Rosenhahn07] sondern auch materialspezifischer Kontrast am Beispiel von Eisenoxid- und Polystyrolpartikeln gezeigt werden [Rosenhahn08].

Nach den sich auf diese Weise herauskristallisierten Anforderungen wurde dann mit der Planung der neuen Apparatur begonnen. Dabei wurde von Beginn an auf ein möglichst flexibles Konzept, basierend auf einem optischen Tisch in einer großen Vakuumkammer, gesetzt um spätere Erweiterungen der Apparatur einfach umsetzen zu können. Von Anfang an wurde die Apparatur in einer 3D-CAD Software geplant und gezeichnet, um jederzeit einen genauen Überblick über alle Komponenten und deren Anordnung gegeneinander zu haben, und Unstimmigkeiten so bereits vor dem Bau der einzelnen Komponenten erkennen zu können.

Noch während der Planung wurden erste Komponenten beschafft und deren Verwendbarkeit im Vakuum getestet. Nach Abschluß der Planung wurden die für die Apparatur benötigten Teile in der Werkstatt des Institutes gefertigt, bzw. kommerziell erhältliche Komponenten bestellt und der Aufbau montiert.

Nach ausgiebigen Funktionstests im Labor wurden erste Messungen bei BESSY und FLASH durchgeführt um die Funktionsfähigkeit des Systems zu demonstrieren. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse führten zur weiteren Verbesserungen der Apparatur, wie zum Beispiel das automatische Stickstoffnachfüllsystem, oder die zusätzlichen Kühllitzen, um die thermische Stabilität zu erhöhen und dadurch die mechanische Drift zu verringern.

Bei diesen Strahlzeiten wurde am Beispiel von fossilen Diatomeen eine Auflösung der Rekonstruktion des Hologrammes von 164 nm gezeigt, und damit die bisher mit digitaler In-Line Holographie erreichte Auflösung um den Faktor zwei verbessert. Außerdem konnten erstmals holographisch aufgenommene Materialkontraste im Zellkern am Beispiel von Fibroblasten gezeigt werden. Anhand von Lungenkrebszellen wurde die hervorragende Abbildbarkeit von Nucleoli gezeigt, die Entstehung von Strahlenschäden während der Aufnahme konnte ausgeschlossen werden. Auch wurden zum ersten mal Chromosomen mit weicher Röntgenstrahlung hochaufgelöst holographisch abgebildet [Barth09]. Der Funktionsnachweis der Tomographie am Beispiel von Lungenkrebszellen vervollständigt diesen Überblick.

Bei ersten Strahlzeiten bei DESY konnten erstmals Hologramme mit einem Freie Elektronen Laser aufgenommen und rekonstruiert werden. Die Flexibilität der Apparatur für unterschiedliche Experimente wurde durch CXDI Messungen in Kollaboration mit verschiedenen anderen Arbeitsgruppen erfolgreich unter Beweis gestellt [Mancuso].

Hier wurden auch die Unterschiede zwischen digitaler In-Line Holographie und anderen bildgebenden Verfahren deutlich. Im Vergleich zu Fourier Holographie wird kein Referenzloch oder Referenzobjekt in der Probe benötigt, was die Probenpräparation deutlich vereinfacht. Im Unterschied zu Kohärenter Röntgenstreuung wird keine zentrale Strahlblende eingesetzt, so dass auch die niederfrequenten Informationen aus der Probe aufgezeichnet und für die Rekonstruktion verwendet werden können. Die Auflösung digitaler In-Line Holographie ist momentan mit beiden Verfahren noch nicht vergleichbar, liegt aber bereits im Bereich der klassischen Lichtmikroskopie, wobei hier, wie bereits eingangs erwähnt, auf ein Färben der Probe verzichtet, und materialspezifischer Kontrast abgebildet werden kann. Dies verhindert besonders bei biologischen Proben wie Zellen mögliche Strukturveränderungen und in Zukunft, bei höheren Auflösungen, sterische Abberation.

Eine zukünftige Weiterentwicklung wird die Verwendung von noch kleineren Pinholes sein, um die Auflösung der Rekonstruktion weiter zu verbessern. Dazu notwendig ist der Einsatz von Zonenplatten, um den Synchrotronstrahl auf das Pinhole zu fokussieren, und so bei noch kleineren Pinholes einen hohen Photonenfluss und damit eine kurze Belichtungszeit zu gewähr-

leisten. Erste Experimente dazu wurden sowohl bei BESSY als auch bei FLASH durchgeführt und zeigen die Möglichkeiten dieser Idee. Momentan wird ein zusätzlicher, motorisierter Haltearm in der Vakuumkammer für solche Experimente mit Zonenplatten entwickelt. Damit werden dann auch Einzelpulsexperimente bei FLASH möglich, für die momentan der Photonenfluss aufgrund der räumlichen Filterung des Strahles durch das Pinhole noch nicht ausreicht.

Der Materialkontrast in Zellen stellt nach wie vor ein interessantes Forschungsgebiet dar. Hier wären weitere Experimente zum Beispiel an der Phosphorkante bei 135 eV interessant, um DNS Dichteverteilungen ohne Färbung abbilden zu können. Dazu würden sich zunächst in der Metaphase synchronisierte Zellen anbieten, da hier die Dichte der DNS deutlich größer ist, als bei den in dieser Arbeit verwendeten, nicht synchronisierten, Zellen. Auch die Tomographie ließe sich hier zur Steigerung der Auflösung sinnvoll einsetzen.

Schließlich ist der Bau des bereits geplanten Kryotransfersystems anzumerken. Damit können in Zukunft Proben ohne aufwendige Trocknung am kritischen Punkt und damit deutlich schonender für deren Struktur in die Vakuumkammer eingebracht und abgebildet werden.

Anhang A

Technische Zeichnungen

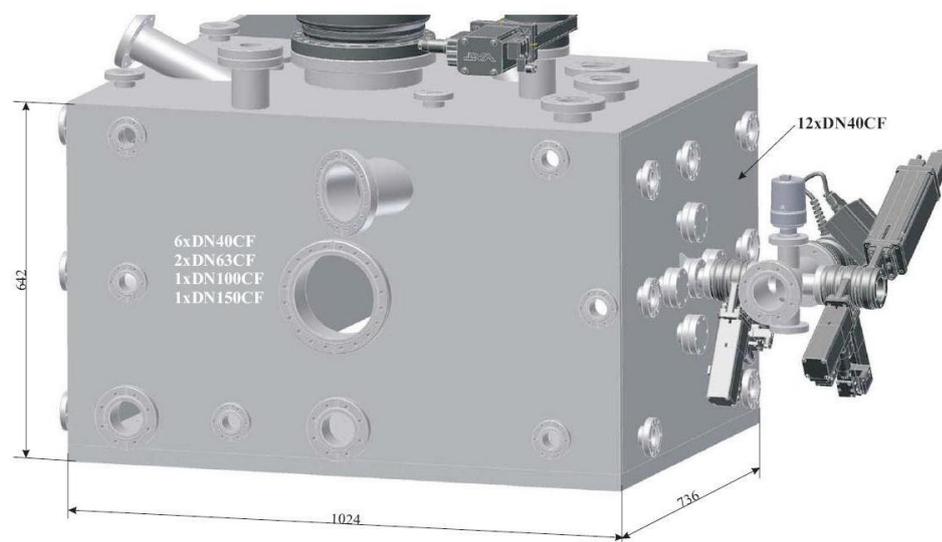


Abbildung A.1: CAD Zeichnung der Rückseite der Experimentierkammer mit rechts angebrachtem differentiellen Pumpstück.

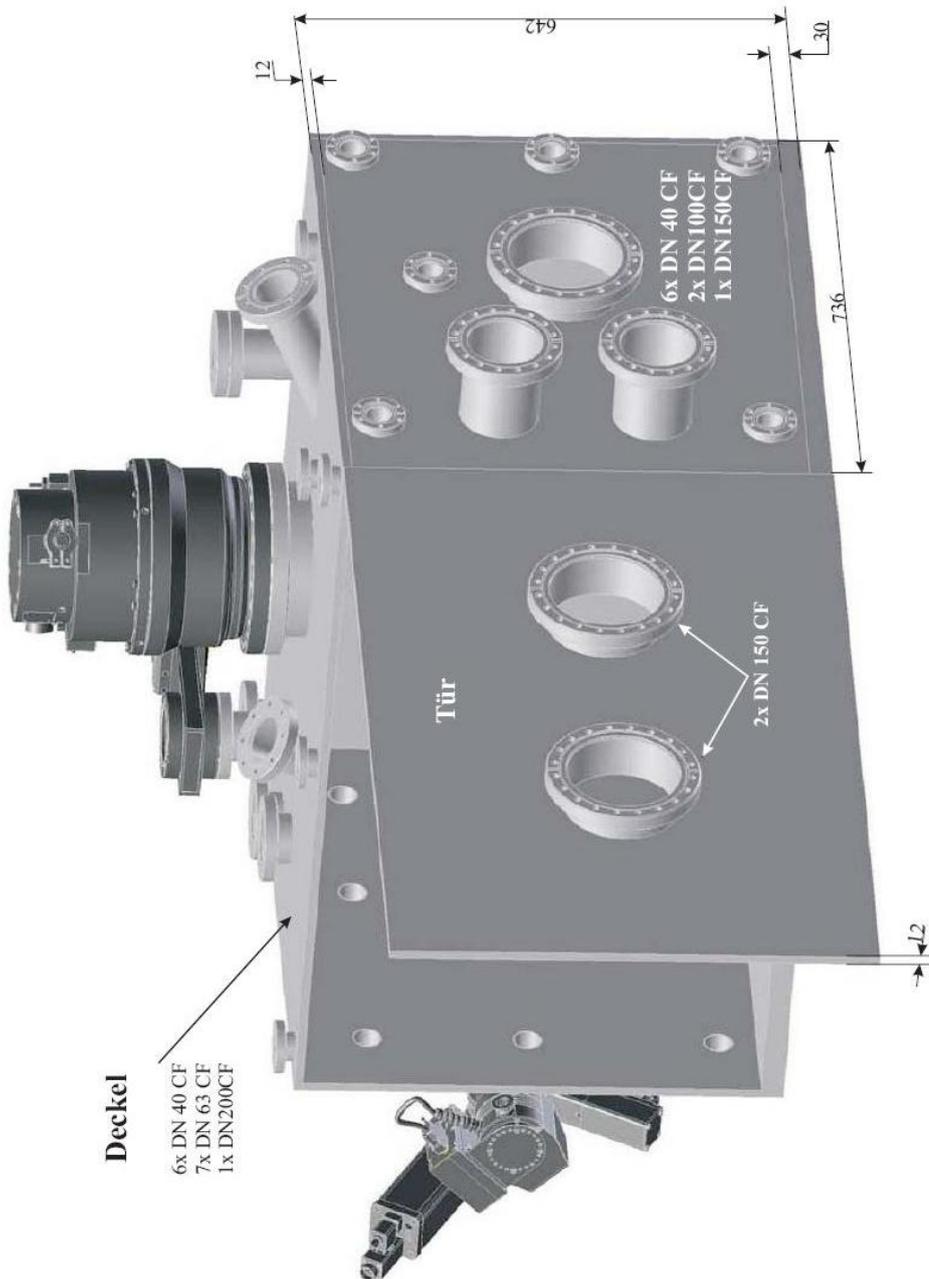


Abbildung A.2: CAD Zeichnung der Türseite der Experimentierkammer. Oben ist die Turbomolekularpumpe und das Ventil zur Transferkammer zu erkennen.

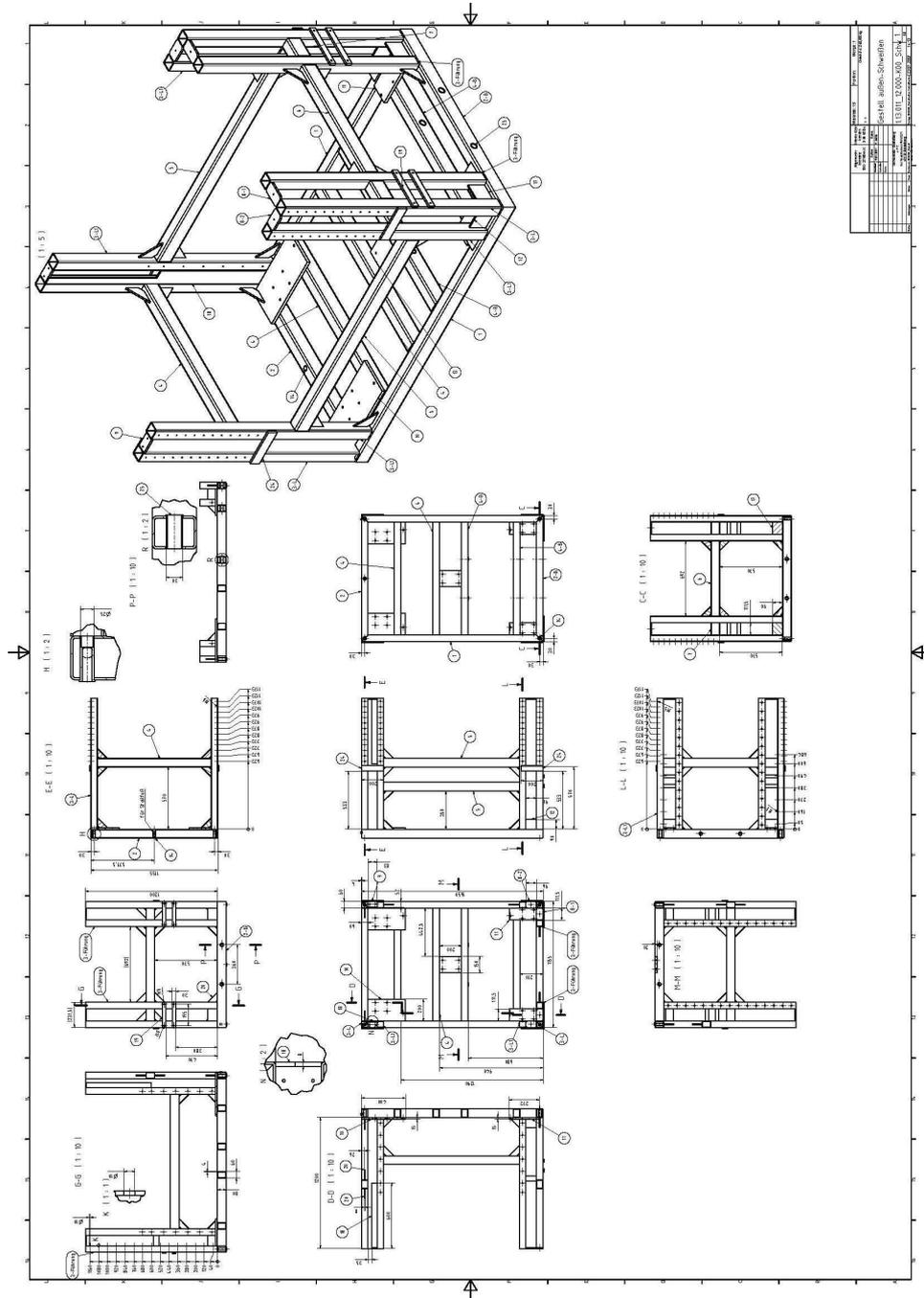


Abbildung A.6: CAD Zeichnung des äußeren Transportgestelles.

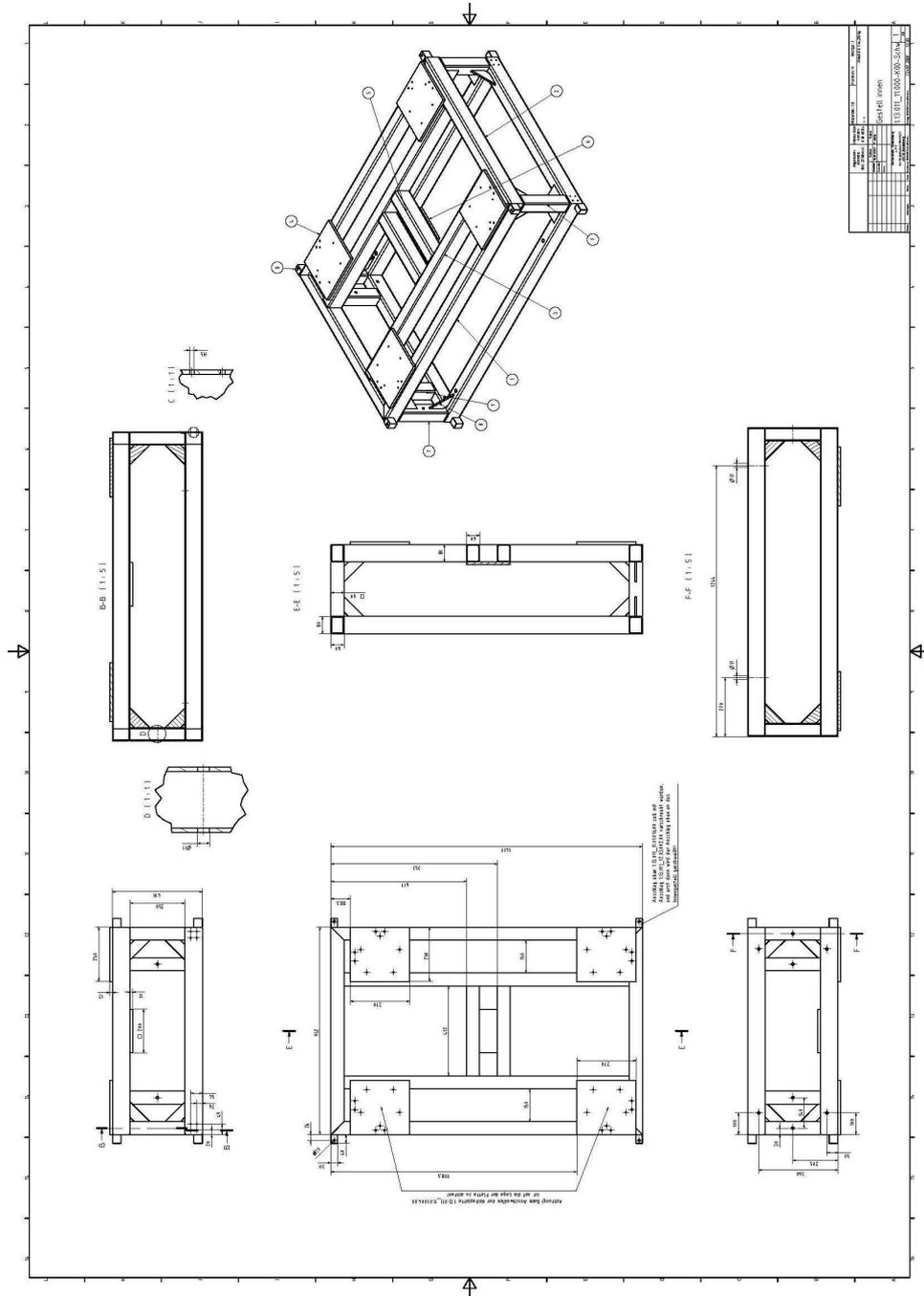


Abbildung A.7: CAD Zeichnung des inneren Transportgestelles.

Anhang B

Software

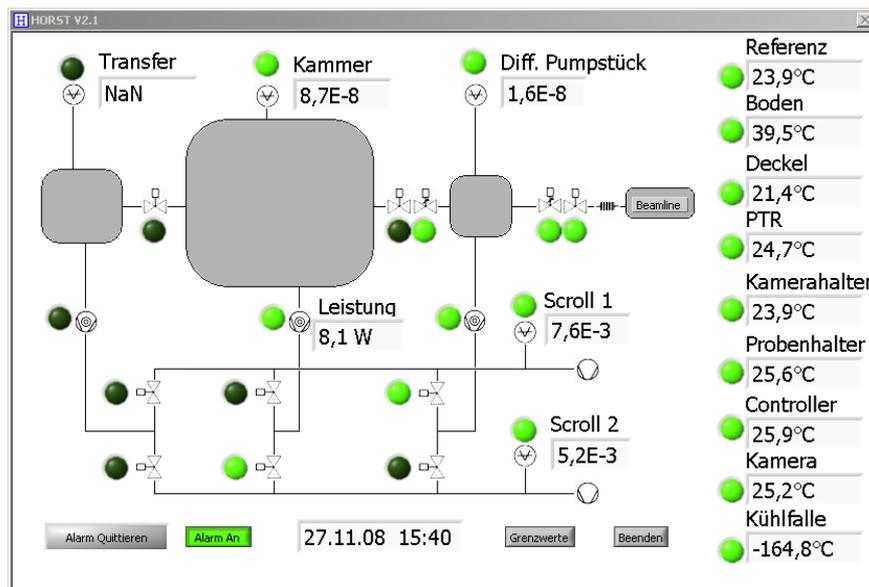


Abbildung B.1: Hauptfenster der Überwachungssoftware mit Anzeigen für Drücke und Temperaturen. Unten sind die Schaltflächen für den Alarm und dessen Grenzwerte zu erkennen.

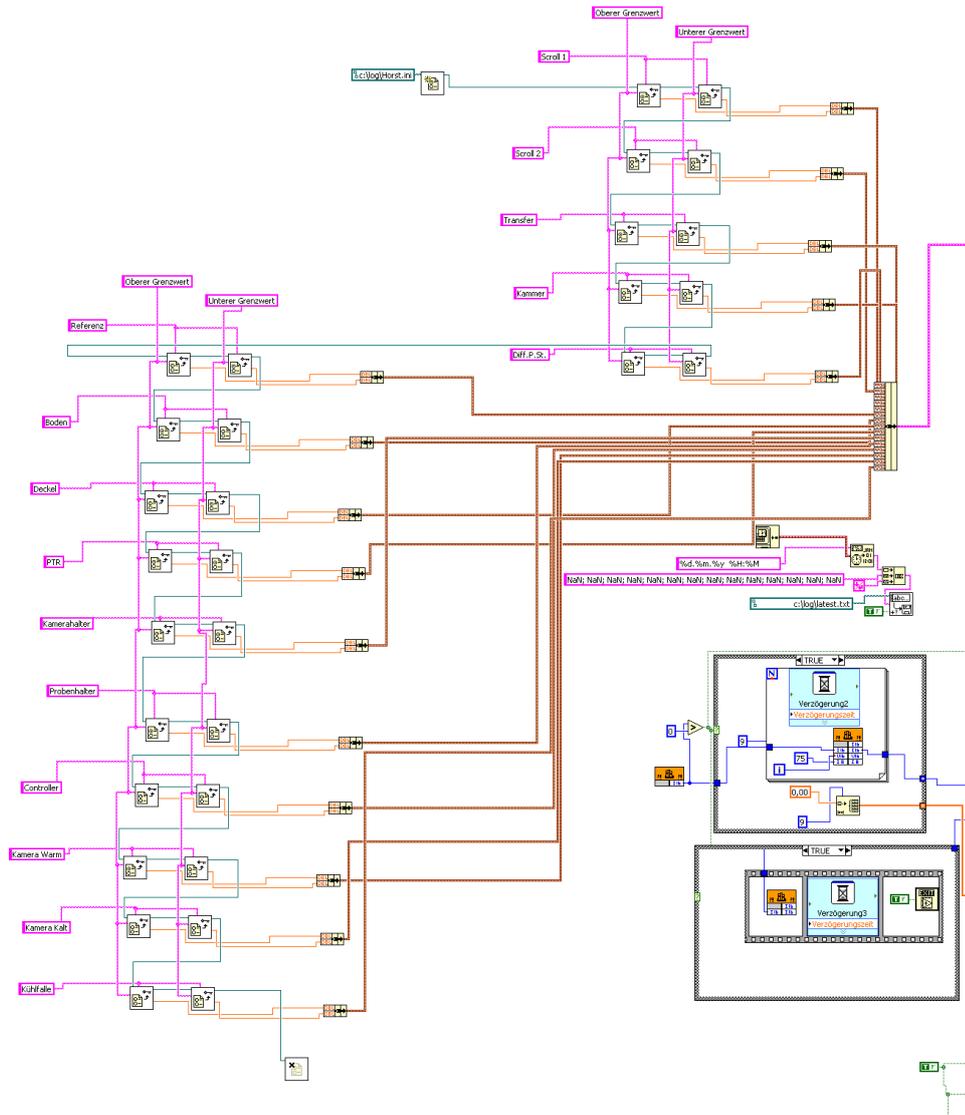


Abbildung B.2: Initialisierungsroutinen für die Druck- und Temperaturmessung.

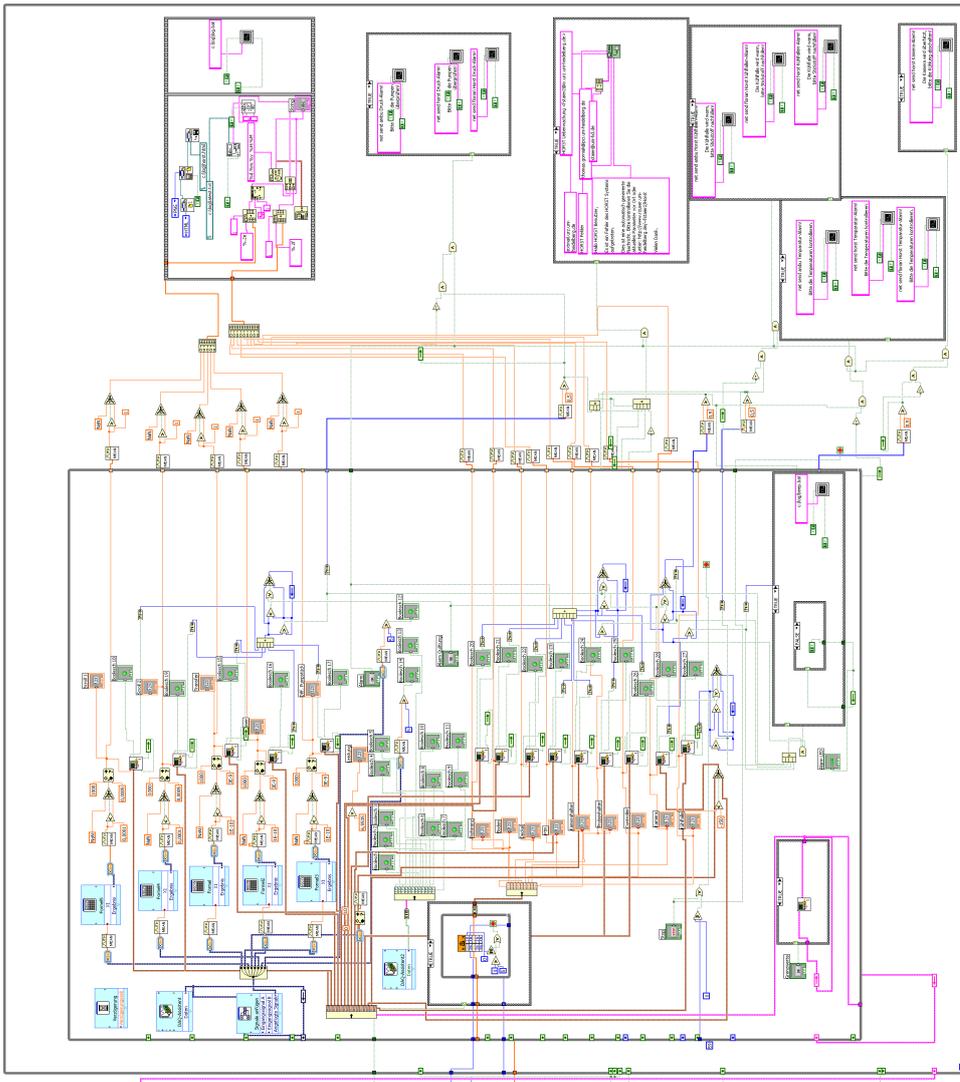


Abbildung B.3: Hauptschleife der Überwachungssoftware mit Druck- und Temperaturanzeige, Soll- und Istwertvergleich sowie Alarmfunktionen.

	Oberer Genzwert	Unterer Genzwert		Oberer Genzwert	Unterer Genzwert
Referenz	30	15	Scroll 1	5,0E+1	5,0E-2
Boden	85	15	Scroll 2	5,0E+1	5,0E-2
Deckel	40	10	Transfer	5,0E+1	1,0E-4
PTR	60	15	Kammer	5,0E+1	5,0E-5
Kamerahalter	60	5,0	Diff. P. St	5,0E+1	5,0E-7
Probenhalter	60	10			
Controller	50	0,0			
Kamera Warm	70	-50			
Kamera Kalt	70	-50			
Kühlfalle	0,00	-140			

Abbrechen

Anwenden

Anwenden + Speichern

Abbildung B.4: Bedienfeld der Drucküberwachung. Hier können die Alarmgrenzwerte für Drücke und Temperaturen eingestellt werden.

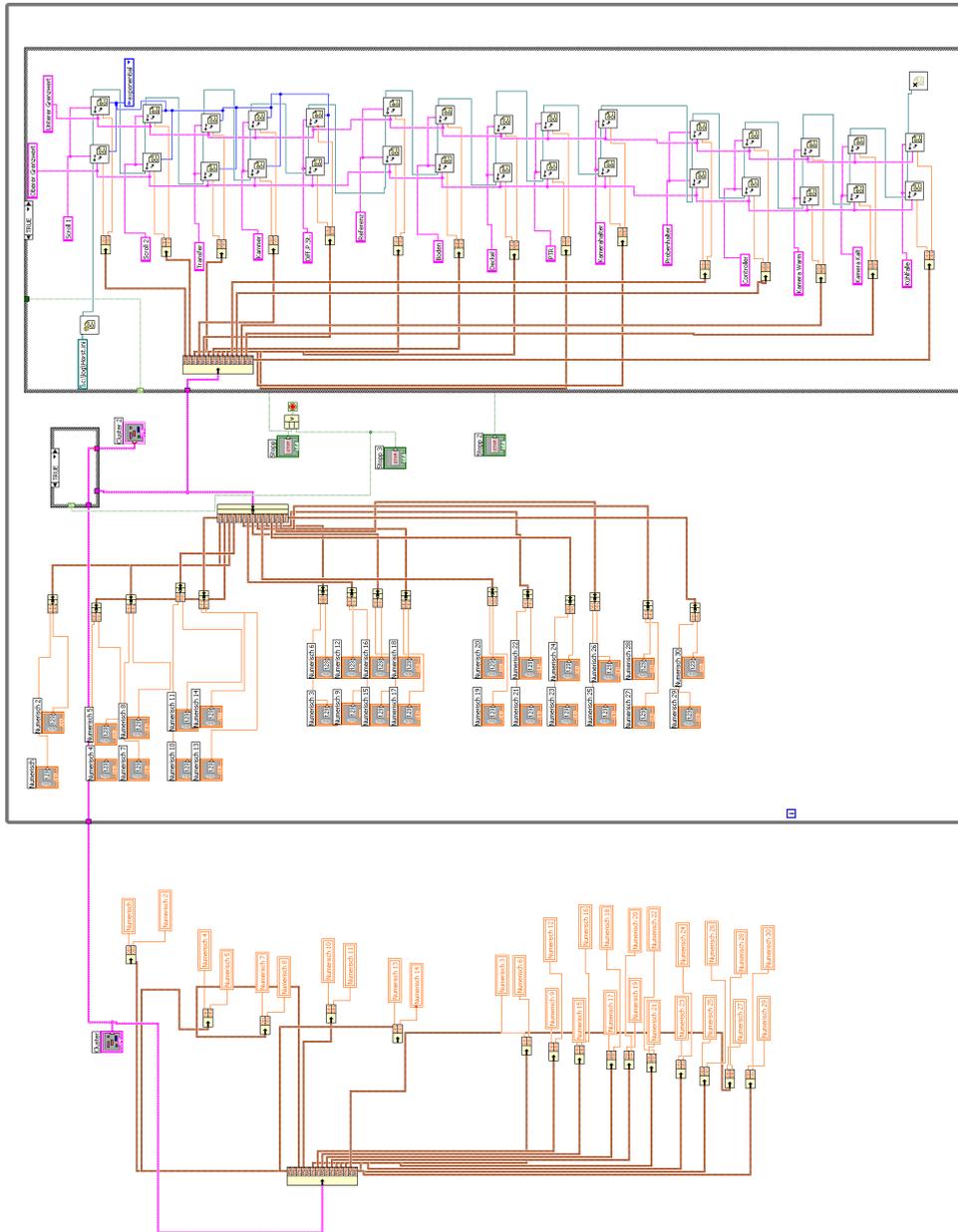


Abbildung B.5: Schaltplan des Bedienfeldes zum Einstellen der Grenzwerte der Druck- und Temperaturüberwachung.

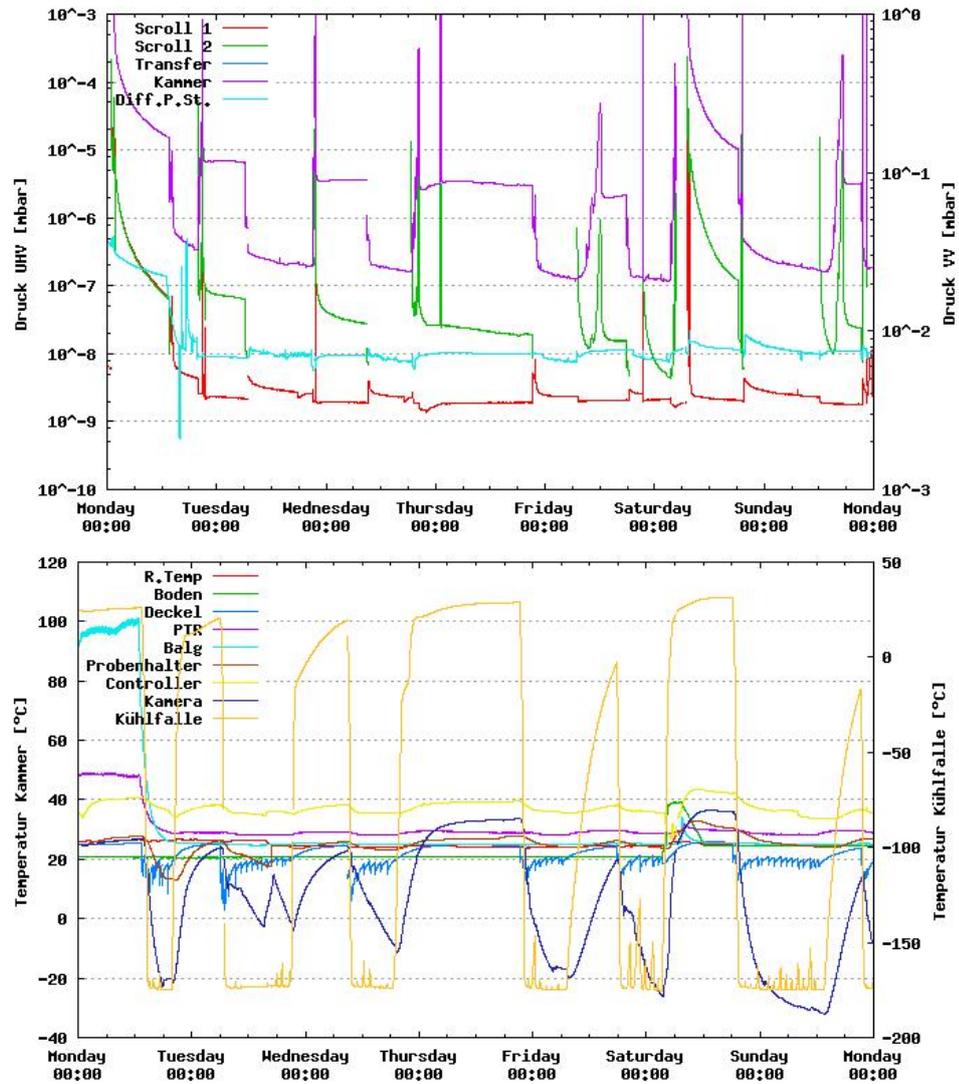


Abbildung B.6: Plot der Druck und Temperaturentwicklung während der Strahlzeit im Dezember 2007 bei BESSY. Deutlich zu erkennen sind Druck und Temperaturabfall bei aktiver Kühlfalle während der Messugen.

Anhang C

Schaltpläne

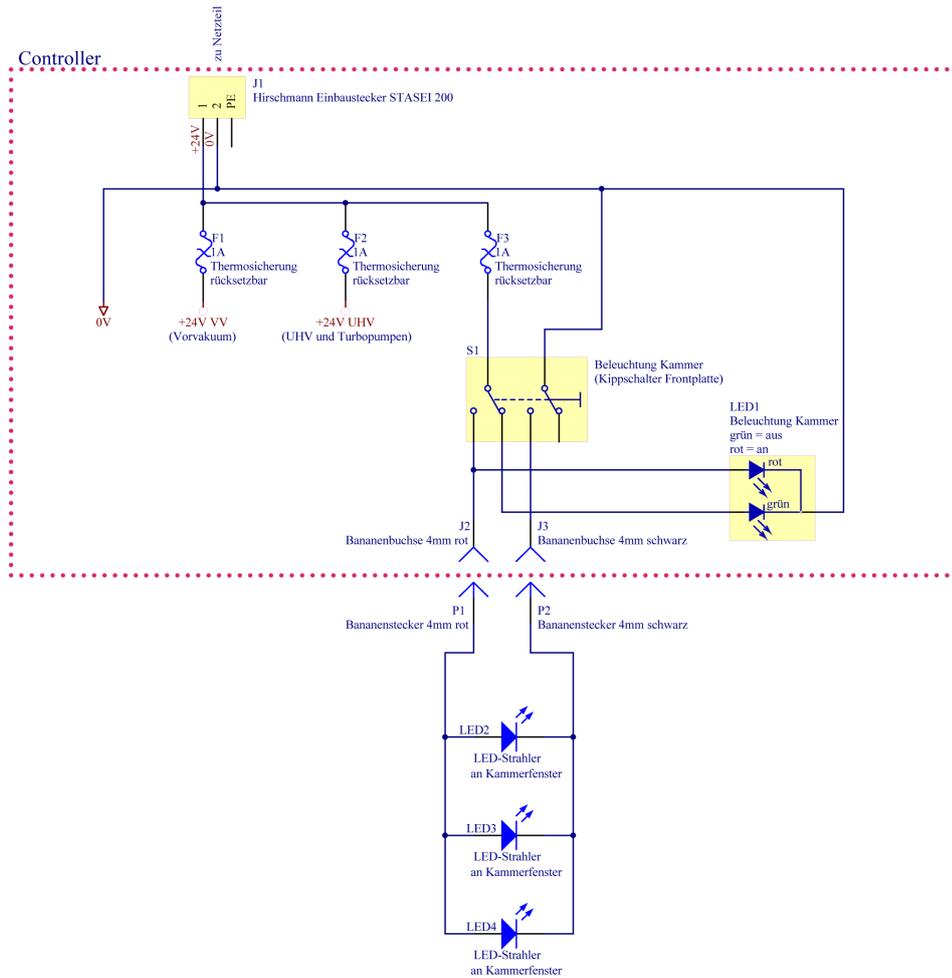


Abbildung C.1: Schaltplan der Stromversorgung des Controllers

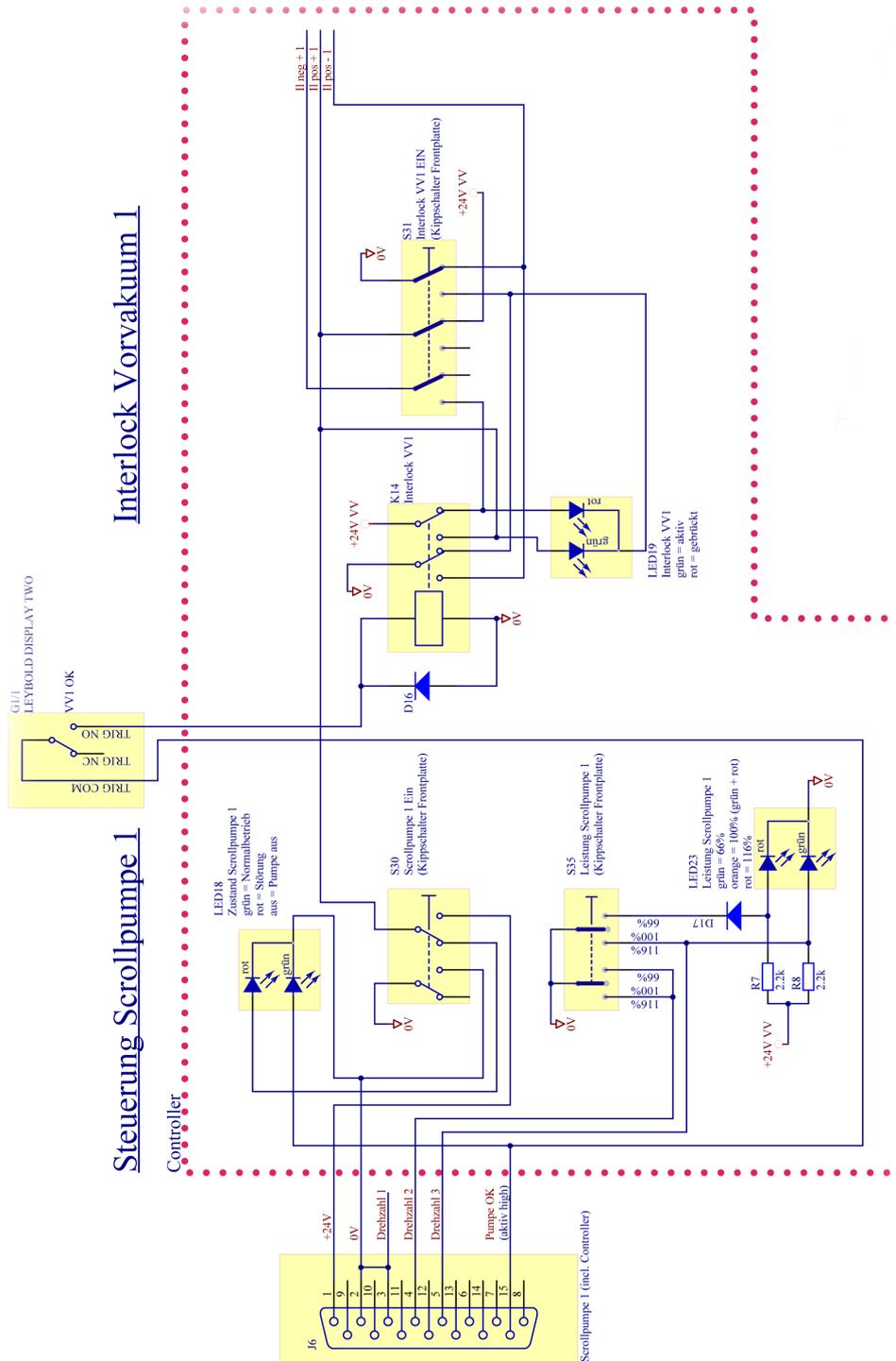


Abbildung C.2: Schaltplan der Steuerung einer Scroll-Pumpe. Die Steuerung der zweiten Pumpe ist identisch.

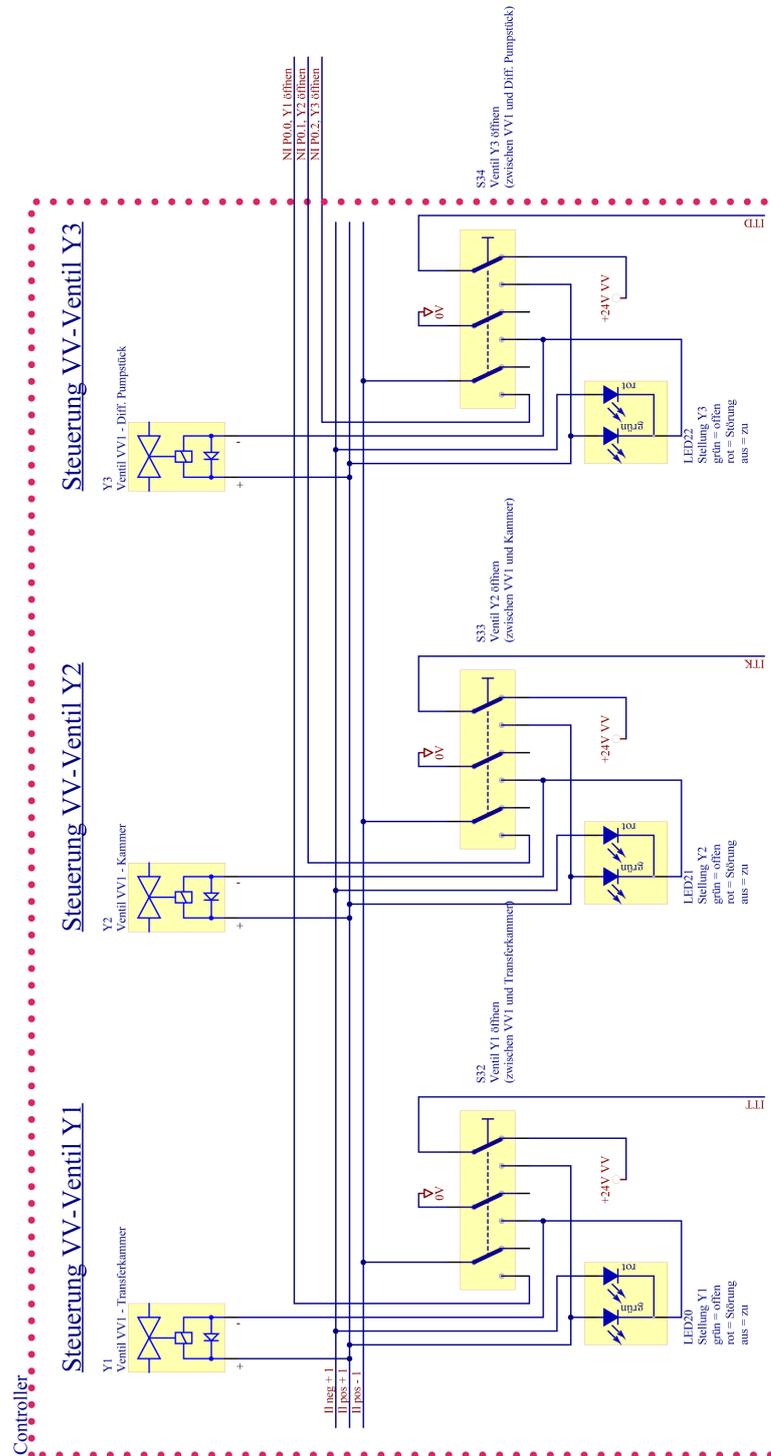


Abbildung C.3: Schaltplan der Steuerung der Vorvakuumventile eins bis drei.

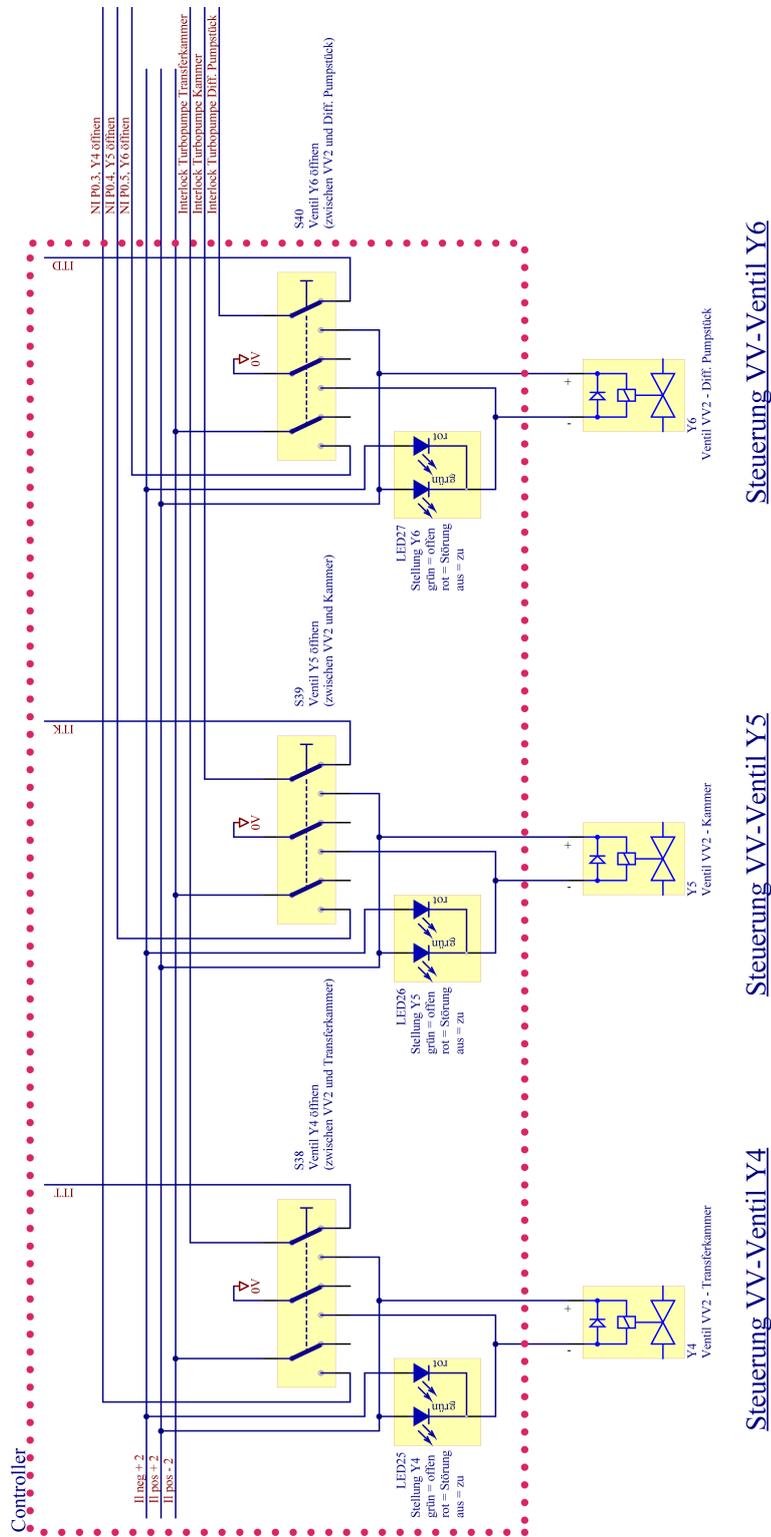


Abbildung C.4: Schaltplan der Steuerung der Vorvakuumventile vier bis sechs.

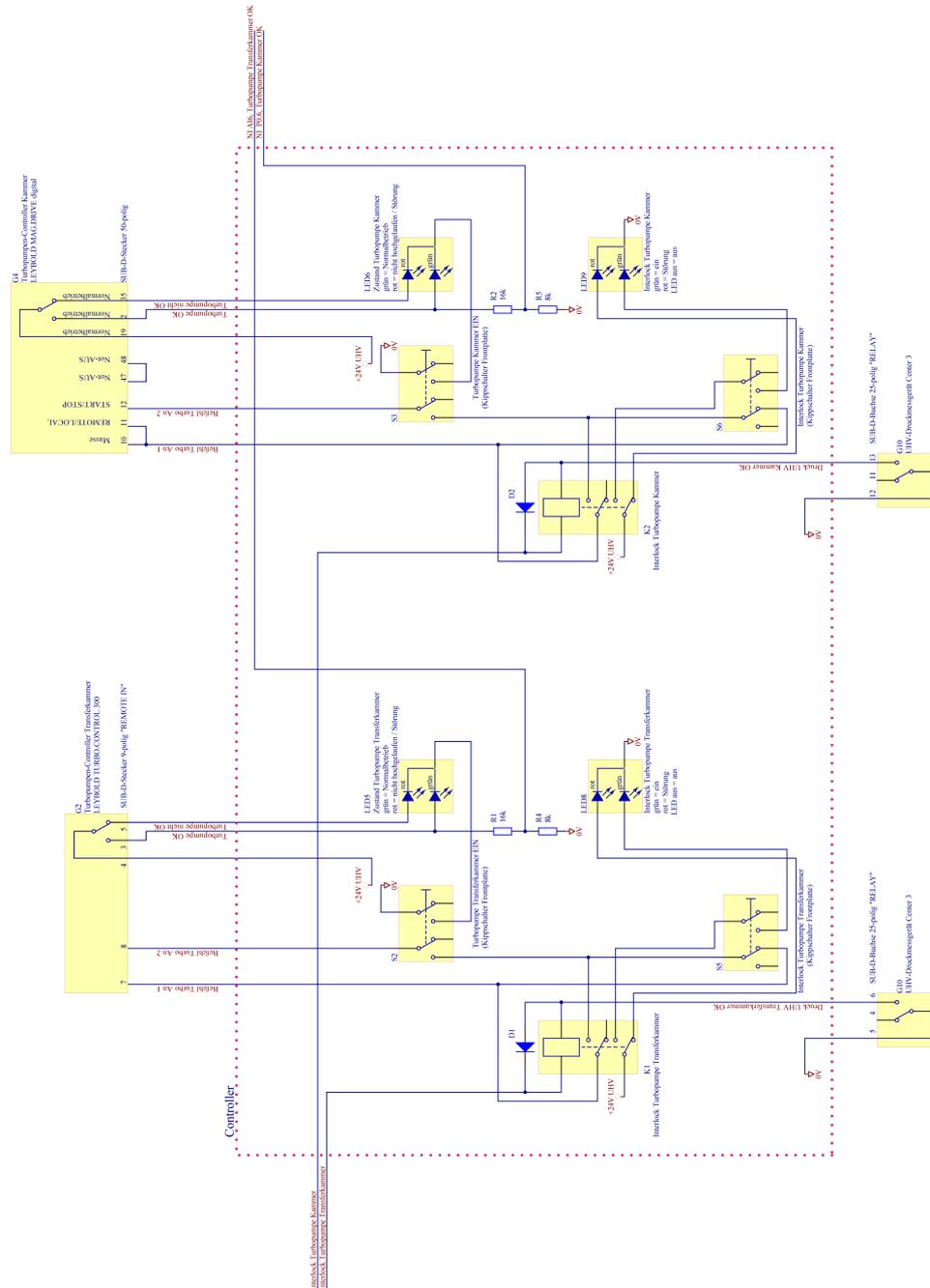


Abbildung C.5: Schaltplan der Steuerung der Turbomolekularpumpen an der Transfer- und Experimentierkammer.

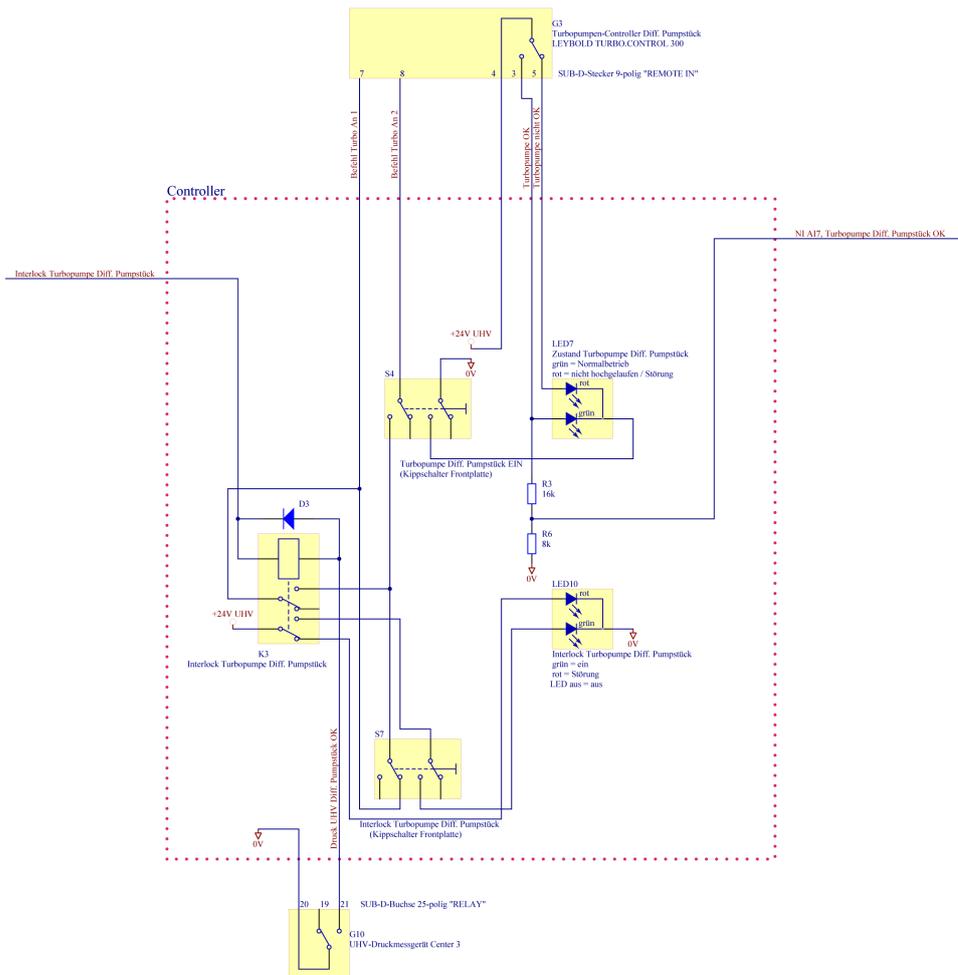


Abbildung C.6: Schaltplan der Steuerung der Turbomolekularpumpe am differentiellen Pumpstück.

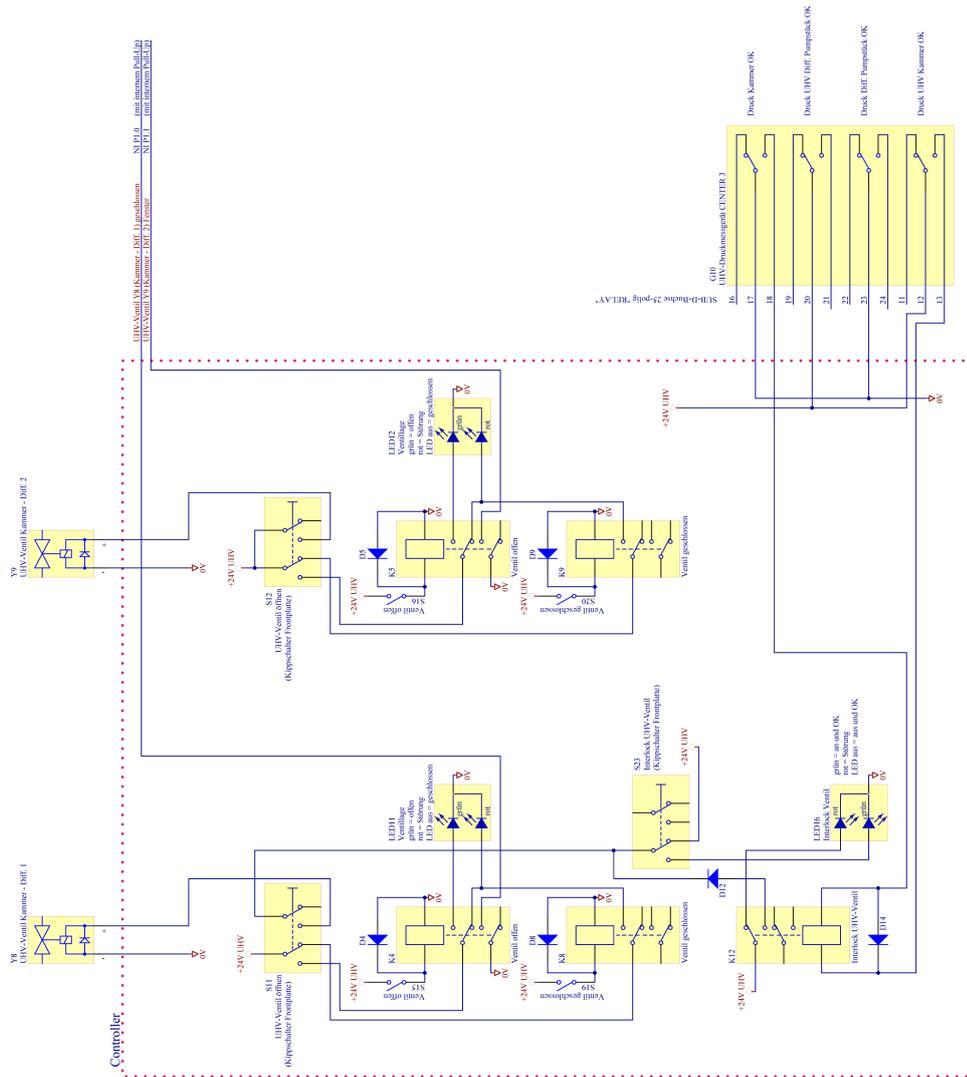


Abbildung C.7: Schaltplan der Steuerung der Ultrahochvakuumventile zwischen Experimentierkammer und differentiellem Pumpstück.

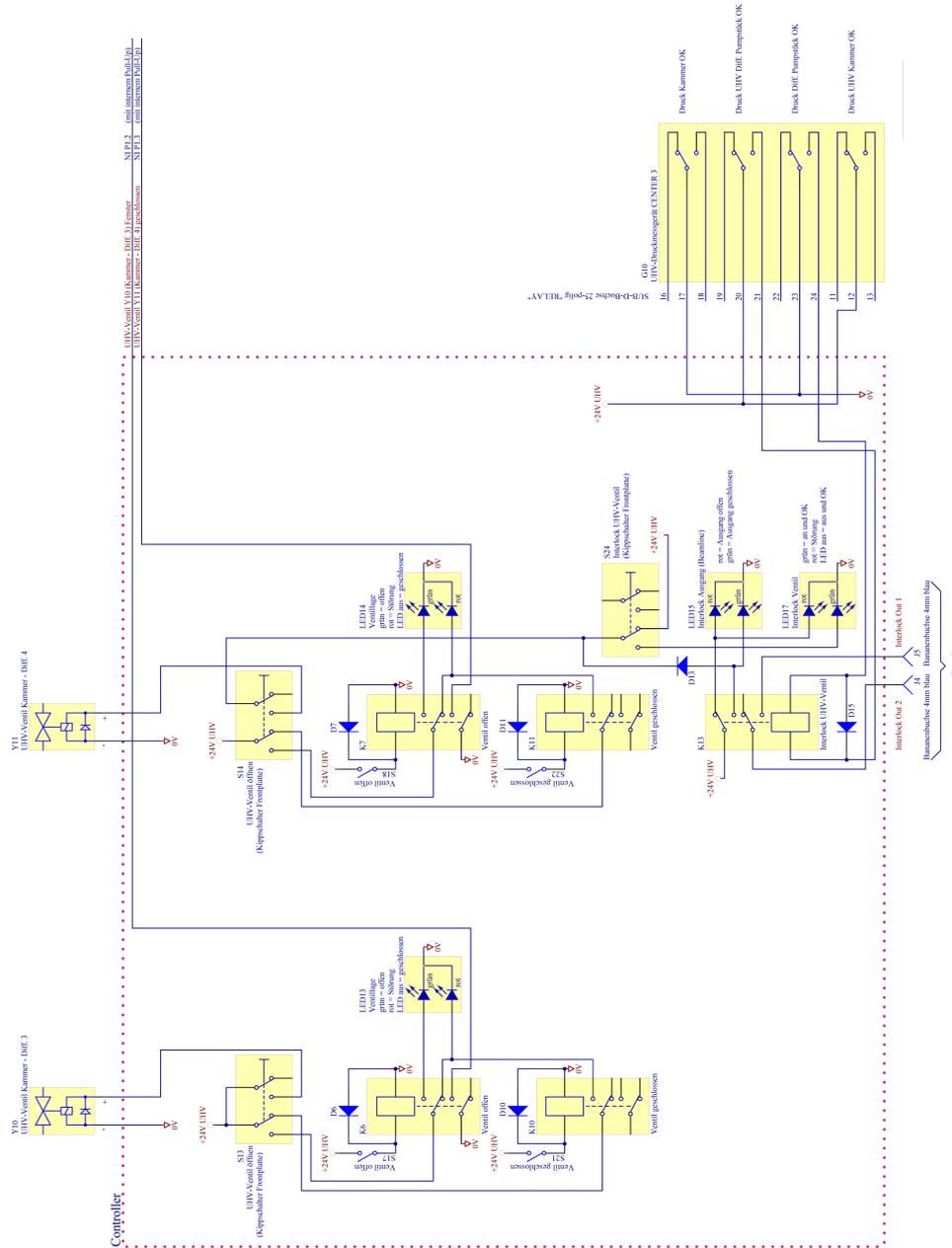


Abbildung C.8: Schaltplan der Steuerung der Ultrahochvakuumventile zwischen differentiellem Pumpstück und Beamline, sowie des Interlockausgangs für die Beamline.

Literaturverzeichnis

- [Albrecht] Albrecht B, Schweitzer A, Failla A V, Edelmann P, Cremer C (2002) Spatially modulated illumination (SMI) microscopy allows axial distance resolution in the nanometer range *Appl. Opt.* 41, 80-87
- [Barth08] Barth R (2008) Digital In-Line X-Ray Holographic Microscopy with Synchrotron Radiation *Uni Heidelberg Dissertation*
- [Bates] Bates R H T (1982) Fourier phase problems are uniquely solvable in more than one dimension. I: underlying theory. *Optik* 61, 247-262
- [Beetz] Beetz T, Howells M R, Jacobsen C, Kao C C, Kirz J, Lima E, Menten T O, Miao H, Sanchez-Hanke C, Sayre D, Shapiro D (2005) Apparatus for X-ray diffraction microscopy and tomography of cryo specimens *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A* 545, 459-468
- [Bosted] Bosted C, Chapman H N, Costello J T, Lopez-Urrutia J R C, Düsterer S, Epp S W, Feldhaus J, Fröhlisch A, Meyer M, Möller T, Moshhammer R, Richter M, Sokolowski-Tinten K, Sorokin A, Tiedtke K, Ullrich J, Wurth W (2009) Experiments at FLASH *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A* im Druck
- [Chao] Chao W, Harteneck B D, Liddle J A, Anderson E H, Attwood D T (2005) Soft X-ray microscopy at a spatial resolution better than 15 nm *Nature* 435, 30, 1210-1213
- [Cremer78] Cremer C, Cremer T (1978) Considerations on a laser-scanning-microscope with high resolution and depth of field. *Microscopic Acta (Stuttgart)* 81, 31-44

- [Cremer01] Cremer T, Cremer C (2001) Chromosome territories, nuclear architecture and gene regulation in mammalian cells. *Nature Reviews Genetics* 2, 292-301.
- [CXRO] Center for X-Ray Optics (2009) <http://www-cxro.lbl.gov/>
- [Demtröder] Demtröder W (2002) Experimentalphysik *Springer Verlag Berlin* 2. Auflage
- [Ehlers] Ehlers U, Herken R, Herrmann B, Mayer F, Schürmann F W, Robinson D G (1985) Präparationsmethodik in der Elektronenmikroskopie - Eine Einführung für Biologen und Mediziner *Springer Verlag Berlin* 1. Auflage, ISBN: 3-540-15880-4
- [Eisebitt] Eisebitt S, Lüning J, Schlotter W F, Lörger M, Hellwig O, Eberhardt W, Stöhr J (2004) Lensless imaging of magnetic nanostructures by X-ray spectro-holography *Nature* 432, 885-888
- [Elder] Elder F R, Gurewitsch A M, Langmuir R V, Pollock H C (1947) Radiation from Electrons in a Synchrotron *Phys. Rev.* 71, 829-830
- [Fayard] Fayard B, Salomé M, Takemoto K, Kihara H, Susini J (2009) Some practical considerations about the effects of radiation damage on hydrated cells imaged by X-ray fluorescence microscopy *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena* 170, 19-24
- [Fineup] Fineup J R (1987) Reconstruction of a complex-valued object from the modulus of its Fourier transform using a support constraint *J. Opt. Soc. Am. A* 4, 118-123
- [Gabor] Gabor H (1948) A new Microscopic Principle *Nature* 161, 777-778
- [Giemsa] Giemsa G (1904) Eine Vereinfachung und Vervollkommnung meiner Methylenazur-Methylenblaeosin-Färbemethode zur Erzielung der Romanowsky-Nochtschen Chromatinfärbung *Zbl. Bakt. I* 37, 308
- [Godehusen] Godehusen K, Zeschke T, Senf F (2005) UE52-SGM *BESSY Homepage*

- [Grabis] Grabis J, Nefedov A, Zabel H (2003) Diffractometer for soft x-ray resonant magnetic scattering *Review of Scientific Instruments* 74, 9, 4048-4051
- [Grimm] Grimm R, Singh H, Rachel R, Typke D, Zillig W, Baumeister W (1998) Electron Tomography of Ice-Embedded Prokaryotic Cells *Biophysical Journal* 74, 1031-1042
- [Guttman] Guttman P, Niemann B, Thieme J, Hambach D, Schneider G, Wiesemann U, Rudolph D, Schmahl G (2001) Instrumentation advances with the new X-ray microscopes at BESSY II *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A* 849-852
- [Hell] Hell S W, Lindek S, Cremer C, Stelzer E H K (1994) Measurement of the 4pi-confocal point spread function proves 75 nm axial resolution *Appl. Phys. Lett.* 64, 1335-1337
- [Hertz] Hertz H (1887) Ueber sehr schnelle elektrische Schwingungen *Annalen der Physik* 267, 7, 421-448
- [Heydt] Heydt M, Rosenhahn A, Grunze M, Pettitt M, Callow M E, Callow J A (2007) Digital In-Line Holography as a Three-Dimensional Tool to Study Motile Marine Organisms During Their Exploration of Surfaces *Journal of Adhesion* 83, 5, 417-430
- [Howells] Howells M R, Beetz T, Chapman H N, Cui C, Holton J M, Jacobsen C J, Kirz J, Lima E, Marcesini S, Miao H, Sayre D, Shapiro D A, Spence J C H, Starodub D (2009) An assessment of the resolution limitation due to radiation-damage in X-ray diffraction microscopy *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena* 170, 4-12
- [Ivanenko] Ivanenko D, Pomeranchuk I (1944) On the Maximal Energy Attainable in a Betatron *Phys. Rev.* 65, 343
- [Jacobsen90] Jacobsen C, Howells M, Kirz J, Rothman S (1990) X-ray holographic microscopy using photoresist *J. Opt. Soc. Am. A* 7, 1847-1861
- [Jacobsen92] Jacobsen C, Kirz J, Williams S (1992) Resolution in soft X-ray microscopes *Ultramicroscopy* 47, 55-79

- [Kaya] Kaya Z (2008) Synthese fluoreszierender Aminoanthracinon-Farbstoffe und deren Anwendung für das zelluläre Imaging *Uni Heidelberg* Dissertation
- [Kilcoyne] Kilcoyne A L D, Tyliszczak T, Steele W F, Fakra S, Hitchcock P, Franck K, Anderson E, Harteneck B, Rightor E G, Mitchell G E, Hitchcock A P, Yang L, Warwick T, Ade H (2003) Interferometer-controlled scanning transmission X-ray microscopes at the Advanced Light Source *J. Synchrotron Rad.* 10, 125-136
- [Kim] Kim K J (1995) Optical and power characteristics of synchrotron radiation sources *Optical Engineering* 34, 342-352
- [Kirz] Kirz J, Jacobsen C, Howells M (1995) Soft X-ray microscopes and their biological applications *Quarterly Reviews of Biophysics* 28, 1, 33-130
- [Klar] Klar T A, Jacobs S, Dyba M, Egner A, Hell S W (2000) Fluorescence microscopy with diffraction resolution barrier broken by stimulated emission *PNAS* 97, 15, 8206-8210
- [Kreuzer01] Kreuzer H J, Jericho M H, Xu W (2001) Digital in-line holography with numerical reconstruction: three dimensional particle tracking *Proceedings of SPIE* 4401, 234-244
- [Kreuzer02] Kreuzer H J (2002) Holographic Microscope and method of hologram reconstruction *United States Patent* US 6,411,406 B1
- [Leith] Leith E N, Upatnieks J (1962) Reconstructed Wavefronts and Communication Theory *J. Opt. Soc. Am.* 53, 81, 1377
- [Lindaas] Lindaas S, Howells M, Jacobsen C, Kalinowski A (1996) X-ray holographic microscopy by means of photoresist recording and atomic-force microscope readout *J. Opt. Soc. Am. A* 13, 1788-1800
- [McNulty] McNulty I, Kirz J, Jacobsen C, Anderson E H, Howells M R, Kern D P (1992) High-Resolution Imaging by Fourier Transform X-ray Holography *Science* 256, 1009-1012
- [Marchesini03a] Marchesini S, He H, Chapman H N, Hau-Riege S P, Noy A, Howells M R, Weierstall U, Spence J C H (2003) X-ray

- image reconstruction from a diffraction pattern alone *Physical Review B* 68, 140101
- [Marchesini03b] Marchesini S, Chapman H N, Hau-Riege S P, London R A, Szoke A, He H, Howells M R, Padmore H, Rosen R, Spence J C H, Weierstall U (2003) Coherent X-ray diffractive imaging: applications and limitations *Optics Express* 11, 19, 2344
- [Marchesini07] Marchesini S (2007) A unified evaluation of iterative projection algorithms for phase retrieval *Review of Scientific Instr.* 78, 011301
- [Meyer-Ilse] Meyer-Ilse W, Hamamoto D, Nair A, Leièvre S A, Denbeaux G, Johnson L, Pearson A L, Yager D, Legros M A, Larabell C A (2001) High resolution protein localization using soft X-ray microscopy *Journal of Microscopy* 201, 3, 395-403
- [Miao] Miao J, Charalambous P, Kirz J, Sayre D, (1999) Extending the methodology of x-ray crystallography to allow imaging of micromere-sized non-crystalline specimens *Nature* 400, 342-344
- [Pollock] Pollock H C (1982) The discovery of Synchrotron radiation *Am. J. Phys.* 51, 3, 278-280
- [Rose] Rose A (1946) A unified approach to the performance of photographic film, television pickup tubes, and the human eye *J. Soc. Mot. Picture Eng.* 47, 273-294
- [Ross] Ross F E, Crawford R M, Mann D G (1990) The Diatom. Biology and Morphology of the genera *Cambridge Univ. Press.*
- [Rosenhahn07] Rosenhahn A, Barth R, Cao X, Schürmann M, Grunze M, Eisebitt S (2007) Vacuum-ultraviolet Gabor holographie with synchrotron radiation *Ultramicroscopy* 207, 1171-1177
- [Saldin] Saldin E L, Schneidmiller E A, Yurkov M V (2000) The Physics of Free Electron Lasers *Springer Verlag Berlin*
- [Sartori] Sartori A, Gatz R, Beck F, Rigort A, Baumeister W, Plitzko J M (2007) Correlative microscopy: Bridging the gap between fluorescence light microscopy and cryo-electron tomography *Journal of Structural Biology* 160, 2, 135-145

- [Schmahl] Schmahl G, Rudolph D, Lengeler B, Schroer C (2001) Röntgenlinsen *Physikalische Blätter* 57, 1, 43
- [Schürmann] Schürmann M (2007) Digital In-Line Holographic Microscopy with Various Wavelengths and Point Sources Applied to Static and Fluidic Specimens *Uni Heidelberg Dissertation*
- [Shapiro] Shapiro D, Thibault P, Beetz T, Elser V, Howells M, Jacobsen C, Kirz J, Lima E, Miao H, Neiman A M, Sayre D (2005) Biological imaging by soft x-ray diffraction microscopy *PNAS* 102, 43, 15343-15346
- [Sigal] Sigal A, Milo R, Cohen A, Geva-Zatorsky N, Klein Y, Alaluf I, Swerdlin N, Perzov N, Danon T, Liron Y, Reveh T, Carpenter A E, Lahav G, Alon U (2006) Dynamic proteomics in individual human cells uncovers widespread cell-cycle dependence of nuclear proteins *Nature Methods* 3, 7, 525-531
- [Thévenaz] Thévenaz P, Ruttimann U E, Unser M (1998) A Pyramid Approach to Subpixel Registration Based on Intensity *IEEE Transactions on Image Processing* 7, 1, 27-41
- [Trebes] Trebes J E, Brown S B, Campbell E M, Matthews D L, Nilsson D G, Stone G F, Whelan D A (1987) Demonstration of X-ray holography with an X-ray Laser *Science* 238, 517-519
- [Umrath] Umrath W (1997) Grundlagen der Vakuumtechnik *Leybold, Köln*
- [Watanabe] Watanabe N, Sadao Aoki (1998) Three-dimensional tomography using a soft X-ray holographic microscope and CCD camera *J. Synchrotron Radiation* 5, 1088-1089
- [Wellhöfer] Wellhöfer M, Martins M, Wurth W, Sorokin A A, Richter M (2007) Performance of the monochromator beamline at FLASH *J. Opt. A* 9, 749-756
- [Wiesemann] Wiesemann U (2003) The Scanning Transmission X-Ray Microscope at BESSY II *Uni Göttingen Dissertation*
- [Wolter] Wolter H (1952) Spiegelsysteme streifenden Einfalls als abbildende Optiken für Röntgenstrahlen *Annalen der Physik* 10, 6, 94-114

- [Zernike] Zernike F (1934) Diffraction theory of the knife-edge test and its improved form, the phase-contrast method *Royal Astronomy Society Monthly Notices* 94, 377-384
- [Zuo] Zuo J M, Vartanyants I, Gao M, Zhang R, Nagahara L A (2003) Atomic Resolution Imaging of a Carbon Nanotube from Diffraction Intensities *Science* 300, 1419

Publizierte Teile dieser Arbeit

- [Barth09] Barth R, Staier F, Simpson T, Mittler, S, Eisebitt S, Grunze M, Rosenhahn A (2009) High resolution in-line x-ray holography of chromosomes *Optics Express* Eingereicht
- [Gutt] Gutt C, Stadler L M, Streit-Nierobisch S, Mancuso A P, Schropp A, Pfau B, Günther C M, Könnecke R, Gulden J, Reime B, Feldhaus J, Weckert E, Vartanyants I A, Hellwig O, Staier F, Barth R, Grunze M, Rosenhahn A, Stickler D, Stillrich H, Frömter R, Oepen H P, Martins M, Nisius T, Wilhein T, Faatz B, Guerassimova N, Honkavaara K, Kocharyan V, Treusch R, Saldin E, Schreiber S, Schneidmiller E A, Yurkov M V, Eisebitt S, and Grübel G (2009) Resonant magnetic scattering with femtosecond soft X-ray pulses from a free electron laser operating at 1.59 nm *New J. Phys.* Eingereicht
- [Mancuso] Mancuso A P, Schropp A, Reime B, Stadler L M, Singer A, Gulden J, Streit-Nierobisch S, Gutt C, Grübel G, Feldhaus J, Staier F, Barth R, Rosenhahn A, Grunze M, Nisius T, Wilhein T, Stickler D, Stillrich H, Frömter R, Oepen H P, Martins M, Pfau B, Günther C M, Könnecke R, Eisebitt S, Faatz B, Guerassimova N, Honkavaara K, Kocharyan V, Treusch R, Saldin E, Schreiber S, Schneidmiller E A, Yurkov M V, Weckert E, and Vartanyants I A (2009) Coherent-Pulse 2D Crystallography Using a Free-Electron Laser X-Ray Source *Physical Review Letters* 102, 035502
- [Rosenhahn08] Rosenhahn A, Barth R, Staier F, Simpson T, Mittler, S, Eisebitt S, Grunze M, Rosenhahn A (2008) Digital in-line soft x-ray holography with element contrast *J. Opt. Soc. Am. A* 25, 2, 416-422

- [Rosenhahn09] Rosenhahn A, Staier F, Nisius T, Schäfer D, Barth R, Christophis C, Stadler L M, Streit-Nierobisch S, Gutt C , Mancuso A, Schropp A, Gulden J, Reime B, Feldhaus J, Weckert E, Pfau B, Günther C M, Könnecke R, Eisebitt S, Martins M, Brenger A, Faatz B, Guerassimova N, Honkavaara K, Treusch R, Saldin E, Schreiber S, Schneidmiller E A, Yurkov M V, Vartaniants I A, Grübel G, Grunze M, Wilhein T (2009) Holographic microscopy of biological specimen with femtosecond VUV radiation provided by the free electron laser FLASH *Optics Express* im Druck
- [Staier09] Staier F, Jehle R, Jeschka P, Grunze M, Rosenhahn A (2009) HORST - Holographic X-ray Scattering End Station in Vorbereitung

Danksagung

Zuerst möchte ich meinen Eltern danken, ohne die diese Promotion nicht möglich gewesen wäre.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Michael Grunze für die freundliche Aufnahme in die Arbeitsgruppe und die Überlassung des Themas. Herrn Prof. Dr. Dr. Christoph Cremer danke ich für die Betreuung der Arbeit aus physikalischer Sicht, sowie für die Gespräche über Fortschritt und Herausforderungen während der Durchführung. Dr. Axel Rosenhahn danke ich für die Betreuung der Arbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt Reinhold Jehle, der mir während der gesamten Arbeit mit Rat, Tat und Hilfe in allen Lebenslagen zur Seite stand. Er hat mir nicht nur erfolgreiches Verhandeln, technisches Zeichnen und Vakuumtechnik beigebracht, sondern mir auch mit einem offenen Ohr und guten Ratschlägen durch alle Schwierigkeiten während dieser Arbeit geholfen.

Ohne die Programmierkenntnisse und die ständige Unterstützung von Peter Jeschka wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Dafür bin ich ihm sehr dankbar. Günter Meusch hat mich bei allen elektronischen Problemen unterstützt und die Schaltpläne gezeichnet.

Außerdem danke ich Herrn Schmitt und dem gesamten Team der feinmechanischen Werkstatt der Physikalischen Chemie für die praktische Umsetzung unserer Planungen sowie für die vielen guten Ideen und Ratschläge. Genauso danke ich der feinmechanischen Werkstatt des Physikalischen Institutes für die Hilfe bei den in unserem Haus nicht möglichen Arbeiten.

Prof. Dr. Michael Zharnikov hat mir bei vielen Fragen zur Vakuumtechnik sehr geholfen. Prof. Dr. Rainer Dahint, Frau Miech, Frau Duchnay und Herr Scherke haben mich bei administrativen Problemen unterstützt.

Meinen Büroleidensgenossen Matthias Heydt und Sebastian Weiße bin ich sehr dankbar für die interessanten Diskussionen und die lustigen Stunden zusammen.

Christof Christophis hat fast alle hier gezeigten Proben präpariert und mikroskopiert. Dr. Ruth Heine hat bei einigen Strahlzeiten geholfen.

Für das Korrekturlesen dieser Arbeit, und ihre vielen guten Tipps geht mein großer Dank an: Sebastian, Matthias, Elfi und Margund!

Für die Unterstützung beim Transport der Apparatur danke ich Axel Jacobs, Klaus Eichler, Rudolf Krautschneider und Reinhold Jehle.

In Berlin danke ich Herrn Prof. Dr. Stefan Eisebitt, Dr. Kai Godehusen, Dr. Stefan Rehbein, Christian Günther, Helmut Pfau, Thomas Blume, Christian Kalus sowie Ines Drochner für die Unterstützung während der Strahlzeiten.

In Hamburg danke ich Dr. Edgar Weckert, Dr. Ivan Vartanyants, Dr. Rolf Treusch, Dr. Alke Meents, Dr. Adrian Mancuso, Johannes Gulden, Oleksandr Yefanov und Bernd Reime für die Unterstützung bei unseren Messungen.