

**Entwicklung eines Detektorsystems zum schnellen  
ortsaufgelösten Nachweis von Einzelmolekülen**

Dissertation  
zur  
Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)  
der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der  
Rheinischen-Friedrich-Wilhelm-Universität Bonn

vorgelegt von  
Hans H. C. E. Krüger  
aus  
Bonn

Bonn 1999

Angefertigt mit der Genehmigung der Mathematisch- Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Referent:	Prof. Dr. N. Wermes
Korreferent:	Prof. Dr. K. Heinloth
Tag der Promotion:	15. Oktober 1999

---

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einleitung</b>	<b>5</b>
<b>2 Methoden</b>	<b>8</b>
2.1 Fluoreszenzspektroskopie.....	8
2.1.1 Fluoreszenzanregung.....	8
2.1.2 Markierung von Biomolekülen mit Fluoreszenzfarbstoffen .....	9
2.1.3 Streulichtunterdrückung .....	10
2.2 Photodetektoren.....	12
2.2.1 Photodioden.....	12
2.2.1.1 Absorption von Photonen im Halbleiter .....	13
2.2.1.2 Halbleiterdiode.....	15
2.2.1.3 Signalentstehung .....	17
2.2.1.4 Spezielle Detektordioden .....	18
2.2.2 Photomultiplier.....	19
2.3 Mikrokanalplatten Bildverstärker.....	20
2.4 Silizium-Streifendetektor .....	26
2.4.1 Signalentstehung .....	27
2.4.2 Aufbau und Strukturierung des Detektors.....	28
2.4.3 Ortsauflösung .....	30
2.4.4 Ankopplung der Detektorelektronik.....	31
2.5 Detektorelektronik.....	33
2.5.1 Rauschen .....	34
2.6 Zusammenfassung .....	38
<b>3 Experimenteller Aufbau</b>	<b>40</b>
3.1 Nulldimensionale Einzelmoleküldetektion .....	40
3.2 Aufbau zur ortsaufgelösten Einzelmoleküldetektion .....	43
3.3 Der modulierbare Bildverstärker.....	46
3.3.1 Spezifikation des Bildverstärkers.....	46
3.3.2 Modulation .....	47
3.4 Das Photoskop-Detektorsystem.....	49
3.4.1 Der Silizium-Streifendetektor .....	50
3.4.1.1 Größe des Detektors und Streifengeometrie .....	50
3.4.1.2 Ankopplung der Streifen .....	53
3.4.1.3 Entspiegelung der Detektoroberfläche .....	55
3.4.2 Detektorelektronik.....	59
3.4.2.1 Analoger Verstärkerchip .....	59
3.4.2.2 Digitaler Chip.....	62
3.4.2.3 Aufbau des Detektorhybrids.....	65
3.4.3 Signalübertragung und Interface zum Parallelrechner .....	67
3.5 Bioreaktoren und Molekülsortierer .....	69
3.6 Zusammenfassung .....	72

<b>4 Messungen</b>	<b>73</b>
4.1 Charakterisierung der Systemkomponenten.....	73
4.1.1 Quanteneffizienz des Detektors .....	73
4.1.2 Charakterisierung der Detektorelektronik.....	77
4.1.3 Test des Detektormoduls.....	82
4.1.4 Öffnungsverhalten des Bildverstärkers .....	85
4.2 Erste Messungen mit dem Gesamtaufbau .....	90
4.3 Zusammenfassung .....	93
<b>5 Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>95</b>
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>97</b>

# 1 Einleitung

Diese Arbeit beschreibt den Aufbau und die Charakterisierung eines Detektorsystems, welches für den ortsempfindlichen Nachweis von optischen Photonen entwickelt wurde. Diese Entwicklung ist ein Teilprojekt des vom Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie geförderten Forschungsvorhabens "Online Detektion von evolvierenden Nukleinsäuren", welches am Institut für Molekulare Biotechnologie (IMB) in Jena durchgeführt wurde. Ziel dieses interdisziplinären Projekts ist die Entwicklung eines Verfahrens zur zweidimensional orts aufgelösten Beobachtung von Biomolekülen in Echtzeit.

Der Nachweis von Einzelmolekülen ist ein seit einigen Jahren mit großem Erfolg eingesetztes Werkzeug in der analytischen Chemie und der Biotechnologie [KEL96]. Diese Technik ermöglicht es im Gegensatz zu Ensembleuntersuchungen, individuelle Moleküle zu identifizieren, und bietet damit eine sehr große analytische Empfindlichkeit und die Voraussetzung, einzelne Moleküle zu manipulieren und z.B. zu sortieren. Neben verschiedenen Techniken zum Einzelmolekülnachweis, wie z.B. elektromagnetische und optische Fallen, Massenspektrometer und Elektronenspektroskopie, wird speziell in der Molekularbiologie für den Nachweis von Molekülen in wässriger Lösung die Fluoreszenz-Korrelations-Spektroskopie (FCS) verwendet [RIE92] [KEL96]. Dabei werden die zu untersuchenden Moleküle (z.B. DNS, RNS oder Enzyme) selektiv mit Fluoreszenzfarbstoffen markiert und innerhalb eines sehr kleinen Volumens von einem Laser angeregt. In Abbildung 1.1 ist das Prinzip der nulldimensionalen Einzelmoleküldetektion schematisch dargestellt. Für die Einkopplung des Laserlichts in die Probe und Abbildung der Fluoreszenzphotonen auf den Photodetektor benutzt man meist ein und dieselbe Mikroskopoptik, so daß man von einer konfokalen Einkopplung spricht. Bei der Diffusion eines Fluoreszenzfarbstoffs durch das Anregungsvolumen durchläuft das Molekül einen mehrfachen Wechsel zwischen angeregtem und Grundzustand. Die dabei emittierten Photonen zeigen eine charakteristische zeitliche Verteilung, so daß man auch von einem "Photonenburst" spricht. Diese laserinduzierten Fluoreszenzphotonen werden dann von einem geeigneten Detektor (sensitiv für Einzelphotonen wie z.B. Photomultiplier oder Avalanche-Photodiode) nachgewiesen. Zur Unterscheidung von Fluoreszenzsignalen vom Streulichtuntergrund bildet man die Autokorrelationsfunktion des detektierten Signals oder wertet die charakteristischen Bursts Signaturen aus. Das Anregungsvolumen beträgt bei einer typischen Versuchsanordnung etwa einige Femtoliter bei einem Durchmesser von etwa 0,5  $\mu\text{m}$ , so daß man auch von nulldimensionaler FCS spricht.

Mit der Entwicklung eines Aufbaus zur orts aufgelösten Einzelmoleküldetektion sollen die Einschränkungen der nulldimensionalen Messung überwunden werden. Orts aufgelöste Detektion von Einzelmolekülen in Lösung wird eine große Zahl von neuen Experimenten

ermöglichen und Anwendungen zugänglich machen, wie z.B.: Selektion und Sortierung von geeigneten Molekülen bei der Herstellung von pharmazeutischen Wirkstoffen, simultane Detektion und Identifizierung von mehreren Molekülen, Manipulation von Einzelmolekülen mit elektrischen Feldern und optischen und elektromagnetischen Fallen, Beobachtung von einzelnen enzymatischen Reaktionen an Membranoberflächen und kinetische Untersuchungen von Einzelmolekülen [KÖL94].

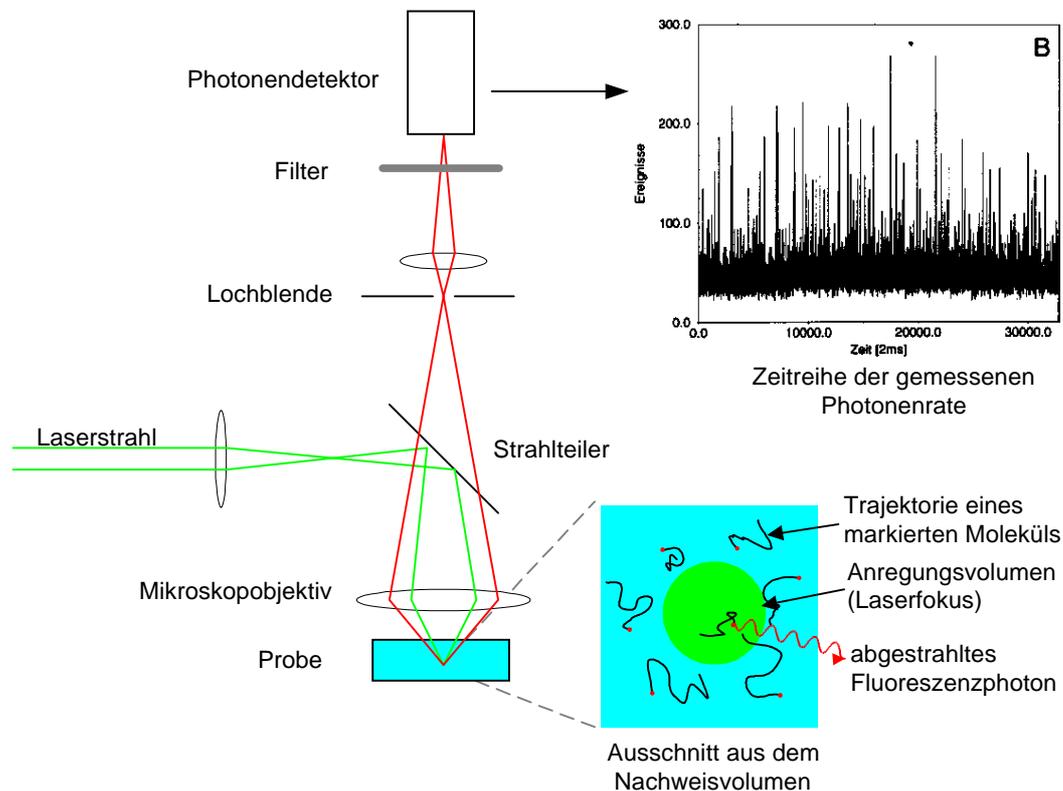


Abbildung 1.1: Prinzip des Meßaufbaus für die nulldimensionale Einzelmoleküldetektion. Fluoreszenzmarkierte Moleküle diffundieren in wässriger Lösung durch den Anregungsfokus eines Lasers und werden zur Fluoreszenz angeregt. Die abgestrahlten Fluoreszenzphotonen werden auf einen geeigneten Detektor abgebildet und nachgewiesen.

Das System für die zweidimensionale Detektion wurde dabei ausgehend von dem konfokalen nulldimensionalen Aufbau um einen modulierbaren Bildverstärker erweitert. Dieser ermöglicht den Einsatz eines schnellen, ortsauflösenden Photodetektors der nicht einzelphotonempfindlich sein muß. Gleichzeitig ist durch die Modulation des Bildverstärkers eine weitere Unterdrückung des Untergrunds über die zeitliche Diskriminierung der prompten Streulichtphotonen möglich. Die Entwicklung dieses modulierbaren Bildverstärkers wurde von der Firma Proxitronic innerhalb eines weiteren Teilprojekts durchgeführt. Im Gegensatz zu Meßaufbauten, die mit einer CCD-Kamera arbeiten und daher nur eine Zeitauflösung von einigen Bildern pro Sekunde erreichen, beträgt die Bildrate des hier entwickelten Systems 4 MHz. Diese hohe Rate ist notwendig, um die charakteristische Struktur eines Photonenbursts zeitlich auflösen zu können. Als geeigneter Photodetektor für diese hohe Rate wird ein Silizium-Streifendetektor verwendet, wie er in Experimenten der Teilchenphysik und in biomedizinischen Anwendungen zum Nachweis von ionisieren-

der Teilchen und Strahlung mit hoher Ereignisrate und mit guter Ortsauflösung benutzt wird (siehe z.B. [ATL94][FIS95]). Neu bei dem Einsatz eines Silizium-Streifendetektors innerhalb dieses Aufbaus ist der Nachweis von optischen Photonen. Die Entwicklung eines für optische Photonen optimierten doppelseitigen Streifendetektors wurde zusammen mit dem Halbleiterlabor des Max-Planck-Instituts in München (MPI) durchgeführt, wo dieser auch hergestellt wurde. Um eine bestmögliche Nachweiseffizienz zu erhalten, mußten bei der Entwicklung von Bildverstärker, Silizium-Streifendetektor und Detektorelektronik die Spezifikationen der verschiedenen Systeme aufeinander angepaßt werden. Wichtig dabei war z.B. das Absorptionsspektrum und die Zeitkonstante von Detektor und Ausleseelektronik mit den entsprechenden Parametern des Bildverstärkers abzustimmen. Weitere Anforderungen an die Detektorelektronik ergeben sich aus der Bildrate von 4 MHz und der damit verbundene Datenrate von 1 GBit pro Sekunde und der Forderung nach Detektion in jedem Bildelement ohne Totzeit. Die Auswertung der detektierten Photonensignale und die Bildrekonstruktion bzw. die Darstellung der rekonstruierten Molekültrajektorien muß in Echtzeit erfolgen, wenn man den gesamten Aufbau nicht nur zu Analyse sondern auch zur gezielten Manipulation der detektierten Moleküle verwenden möchte. Bei einer entsprechenden Granularität des Detektors (hier 128 mal 128 Bildelemente) und 4 MHz Bildrate wird dabei der für die Bursterkennung notwendige Rechenaufwand sehr groß. Um diese Datenmenge in Echtzeit zu verarbeiten, wurde ein am IMB entwickelter Parallelrechner so konfiguriert, daß er den für jede Bildzelle notwendigen Algorithmus zur Bursterkennung in seiner Hardware implementiert.

Untersuchungen zum Nachweis von optischen Photonen mit strukturierten Silizium-Streifendetektoren waren Inhalt des ersten Projektphase. Mit den ersten zu Verfügung stehenden Detektoren und noch nicht optimierten Elektronikkomponenten wurden dann in der zweiten Projektphase Entwicklungsmuster des Detektorsystems aufgebaut und im Gesamtaufbau getestet. Gleichzeitig wurde das endgültige Detektorsystem (Photoskop) entwickelt und aufgebaut, dessen optische und elektronische Charakterisierung sowie die ersten Messungen innerhalb des Gesamtsystem hier beschrieben werden.

## 2 Methoden

Dieses Kapitel stellt einige der experimentellen Methoden vor, die innerhalb eines Aufbaus zur Einzelmoleküldetektion zum Einsatz kommen und die für das Verständnis der Signalentstehung und des Signalnachweises relevant sind. Als Ausgangspunkt der Signalkette wird zuerst die Fluoreszenzanregung und die Markierung von Molekülen mit Fluoreszenzfarbstoffen besprochen. Danach werden die verschiedenen Detektoren vorgestellt, mit denen ein Nachweis von Einzelphotonen möglich ist. Die Beschreibung des in dem Aufbau verwendeten Silizium-Streifendetektors und der Signalverarbeitungselektronik erfolgt in den letzten beiden Teilen dieses Abschnitts.

### 2.1 Fluoreszenzspektroskopie

Innerhalb dieses Abschnitts soll ein Einblick in die Technik der Fluoreszenzanregung zum Nachweis von Einzelmolekülen gegeben werden. Dabei werden die physikalischen Grundlagen, die zur Fluoreszenz beitragen, kurz zusammengefaßt und die sich daraus ergebenden Eigenschaften der Farbstoffe erläutert. Anschließend werden die Methoden zur Signalerkennung und zur Reduktion des Streulichtuntergrunds für einen typischen experimentellen Aufbau beschrieben. Die biochemischen Methoden zur selektiven Markierung von Molekülen und photochemische Effekte in Zusammenhang mit den Fluoreszenzfarbstoffen können nur am Rande erwähnt werden. Sie werden ausführlich in den entsprechenden Arbeiten der Projektpartner behandelt [KAL98].

#### 2.1.1 Fluoreszenzanregung

Das hier benutzte Verfahren zur Detektion von Einzelmolekülen beruht auf dem Prinzip der laserinduzierten Fluoreszenzanregung. Dabei wird durch Absorption eines Photons ein Molekül vom Grundzustand  $S_0$  in den angeregten Zustand  $S_1$  überführt. Nach einer charakteristischen Zeit (typ.  $10^{-8}$  s) geht das Molekül durch spontane Emission eines Fluoreszenzphotons wieder in den Grundzustand zurück. Sowohl der angeregte als auch der Grundzustand sind durch die Schwingungs- und Rotationszustände des Moleküls aufgespalten. Diese Zustände liegen in einer großen Dichte vor, wodurch – anders als bei Atomen in Vakuum – die Absorption und die Emission von Photonen nicht in schmalen Linien erfolgt. Bei großer Dichte der Moleküle (Gase hohen Drucks oder wie hier Moleküle in Lösung) sind diese Niveaus zusätzlich durch Stöße mit benachbarten Molekülen verbreitert, so daß die einzelnen Linien nicht mehr aufzulösen sind. Man spricht dann von sogenannten Absorptions- und Emissionsbanden. In Abbildung 2.1 ist die optische Anregung eines Moleküls auf das Niveau  $E_l$  dargestellt. Von dort geht das Molekül innerhalb von  $10^{-9}$  s durch Stoß mit Nachbarmolekülen in den Zustand  $E_m$  über [DEM81]. Der Strahlungsübergang beginnt erst von hier anstatt von  $E_l$  und endet bei einem der vielen Schwingungszu-

stände des elektronischen Grundzustands. Durch diesen Effekt verschiebt sich das Emissionsspektrum gegenüber dem Absorptionsspektrum zu längeren Wellenlängen hin (Stokes-Shift [DEM81][GER93]). Neben dieser Art von Strahlungsübergang gibt es auch noch solche Prozesse, die nicht zur Emission eines Fluoreszenzphotons führen oder das Molekül sogar auf Dauer deaktivieren. Das Verhältnis von Übergängen mit Abstrahlung eines Fluoreszenzphotons zu strahlungslosen Übergängen gibt die Quanteneffizienz des Farbstoffs an. Die verschiedenen möglichen Übergänge sind in Abbildung 2.1 veranschaulicht. So kann statt der Fluoreszenzabregung  $k_f$  die Energie durch interne Dissipation in Schwingungsmoden abgegeben werden (interne Konversion  $k_{ik}$ ). Ein anderer Effekt ist das Löschen des angeregten Zustands durch Stoß oder Komplexbildung mit anderen Molekülen ( $k_l$ ). Nicht reversible Vorgänge dieser Art führen zur Fotobleichung. Darunter versteht man eine chemische Reaktion mit einem anderen Molekül, die zum Zustand  $B_1$  oder  $B_2$  führt. Gerade der Übergang in den spinverbotenen Triplettzustand  $T_0$  führt meist zum Verlust des Fluoreszenzfarbstoffs, da die Lebensdauer mit typischerweise  $10^{-6}$  s sehr lang und damit die Wahrscheinlichkeit einer Reaktion mit anderen Molekülen sehr hoch ist. Es hat sich gezeigt, dass die mittlere Anzahl der emittierten Fluoreszenzphotonen eines in Wasser gelösten Moleküls etwa  $10^5$  beträgt bevor es durch Fotobleichung deaktiviert wird [KEL96]. Eine ausführliche Darstellung der Verlustmechanismen findet sich bei [TSI95].

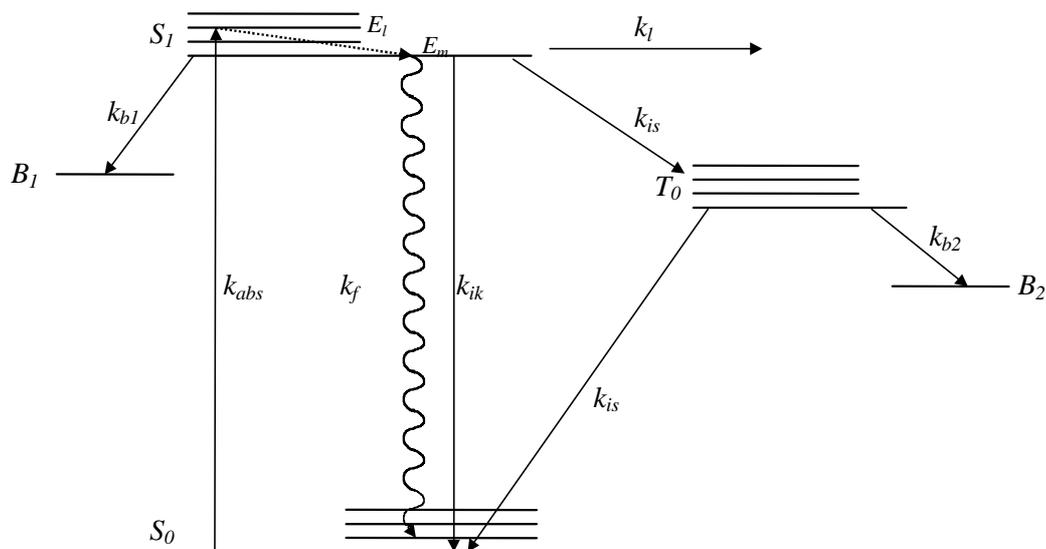


Abbildung 2.1 Diagramm eines einfachen Termschemas mit zwei Singulettzuständen  $S_0$  und  $S_1$  und einem Triplettzustand  $T_0$ . Eingezeichnet sind nur die Übergänge, die bei der Betrachtung von Fluoreszenz relevant sind.

### 2.1.2 Markierung von Biomolekülen mit Fluoreszenzfarbstoffen

Die Biomoleküle, die in der Molekularbiologie neben den Enzymen und Proteinen zu den wichtigsten Molekülen gehören, sind die Nukleinsäureketten Desoxyribonukleinsäure (DNS) und Ribonukleinsäure (RNS). Diese aus Nukleinsäuren aufgebauten Biopolymere zeigen nur eine sehr schwache Eigenfluoreszenz (Quanteneffizienz ca.  $10^{-5}$ ), so daß man sie erst durch gezielte Markierung mit Farbstoffmolekülen einzeln nachweisen kann. Dabei

wird ein Farbstoffmolekül über eine kovalente Bindung oder über Komplexbildung an das zu markierende Molekül gebunden. Bei Makromolekülen, wie DNS oder RNS Ketten mit sehr großer Zahl von Nukleotiden ( $10^2 - 10^4$ ), können entsprechend große Anzahlen von Farbstoffen an ein Molekül angelagert werden [KAL98]. Eine spezielle Art der Farbstoffe sind die sogenannten Interkalatoren. Diese Farbstoffe zeigen kaum Fluoreszenz, wenn sie frei in Lösung sind. Die strahlungslosen Übergänge sind in diesem Fall dominant. Erst wenn sie sich in den Doppelstrang eines DNS Moleküls einlagern, wird ihre Konfiguration so beeinflusst, daß es zu einer erheblichen Steigerung der Fluoreszenzausbeute kommt. Eine kurze Übersicht der gebräuchlichsten Fluoreszenzfarbstoffe ist in Tabelle 2.1 dargestellt. Die am Ende der Tabelle aufgeführten „FluoSpheres“ sind kleine Latexkügelchen (in verschiedenen Durchmessern von 14 nm bis 1µm erhältlich), deren Oberfläche mit Farbstoffen beschichtet ist. Diese sogenannten fluoreszierenden “Beads“, die biochemisch nicht aktiv sind, werden als Referenzsignal benutzt, um einen Meßaufbau zu justieren.

Farbstoff	$A_{max}$ [nm]	$E_{max}$ [nm]	QA	$\tau_f$ [ns]	V
Akridinorange (an DNS)	502	526	0,46	1,7 - 1,9	3000
(an RNS)	460	650		15 - 20	
Ethidiumbromid	510 - 515	595	0,01	1	14
TO-PRO-1 (an DNS)	515	531	0,25	1,2	3000
(an RNS)		540			
TO-TO-1 (an DNS)	510	533	0,34	1,7	> 3000
(an RNS)		540			
SYBRgreen II	476 - 490	520	k.A.	3,5	
Rhodamin 6G	532	560	k.A.	0,5	
Gelbe Fluospheres™	490	515	k.A.	7,3	
Orange Fluospheres™	540	560	k.A.	5,5	

*Tabelle 2.1: Ausgewählte Fluoreszenzfarbstoffe und deren wichtigste Eigenschaften.  $A_{max}$  bezeichnet die Wellenlänge, bei der die Absorption maximal ist, entsprechend ist  $E_{max}$  die Wellenlänge, für die die Fluoreszenzemission ein Maximum erreicht. QA bezeichnet die Quantenausbeute und  $\tau_f$  die Fluoreszenzlebensdauer. Der Verstärkungsfaktor V gibt an, wie stark sich die Fluoreszenzausbeute der Interkalatoren bei Anlagerung an DNS erhöht. Alle Angaben aus [KAL98].*

### 2.1.3 Streulichtunterdrückung

Nachdem in den beiden vorherigen Abschnitten die physikalischen Prozesse und Markierungstechniken beschrieben wurden, die zur Entstehung des Fluoreszenzsignals führen, sollen nun die Effekte aufgezeigt werden, die zum Hintergrundsignal beitragen. Das sind hauptsächlich Beiträge, die durch die Streuung von Photonen des Anregungslichts herrühren. Allgemein lassen sich dabei elastische und unelastisch Streuprozesse voneinander unterscheiden. Die Quellen der Streuung, die Streuzentren, sind dabei hauptsächlich die

Moleküle des Lösungsmittels und der darin enthaltenen Verunreinigungen, aber auch die Grenzflächen des Gefäßes, in dem die Anregung stattfindet.

Die elastische Streuung von Photonen an Molekülen oder Atomen wird Rayleigh-Streuung genannt. Die Größe der Streuzentren ist dabei klein gegenüber der Wellenlänge  $\lambda$  des gestreuten Lichts. Für ein nicht polarisiertes Ensemble von Molekülen erfolgt die Streuung isotrop. Bei der sogenannten Raman-Streuung wird das Molekül durch Absorption eines Photons ähnlich der Fluoreszenzanregung in einen angeregten Zustand überführt. Dabei ist der angeregte Zustand im Allgemeinen kein Eigenzustand des Moleküls. Das heißt, daß die Energie des absorbierten Photons nicht gleich der Differenz zwischen zwei möglichen Energieniveaus des Atoms oder des Moleküls ist. Wie bei der Fluoreszenzabstrahlung (siehe Kapitel 2.1.1) ist die Wellenlänge der so gestreuten Photonen gegenüber der Wellenlänge der anregenden Photonen verschoben, so daß man auch von inelastischer Photonenstreuung spricht.

Eine signifikante Unterdrückung des (nicht frequenzverschobenen) Rayleigh-Untergrunds kann man durch optische Filter erreichen, da das Fluoreszenz-Emissionsspektrum meist stark genug durch den Stokes-Effekt gegenüber der Anregungswellenlänge verschoben ist. Im Gegensatz dazu besitzt das Raman-Streulicht ein Spektrum, dem das Emissionsspektrum des Farbstoffs überlagert ist, so daß eine effektive Diskriminierung über optische Filter kaum möglich ist [KEL96]. Neben der Verkleinerung des Anregungsvolumens, und der damit einhergehenden Reduzierung der Anzahl der Streuzentren, ist die zeitliche Diskriminierung des Streulichts ein effektives Mittel zur Verbesserung des Signal zu Untergrund Abstands. Während die gestreuten Photonen prompt, also zeitgleich mit der Anregung abgestrahlt werden, erfolgt die Fluoreszenzabstrahlung mit einer Verzögerung, hervorgerufen durch die Zeitkonstante von typisch  $10^{-8}$  s (siehe Tabelle 2.1). Benutzt man zur Anregung einen gepulsten Laser mit einer Pulsbreite kleiner als die typische Fluoreszenzlebensdauer, kann der Streulichtuntergrund durch entsprechende Modulation des Detektors stark unterdrückt werden. Das wird dadurch erreicht, daß der Detektor erst kurz nach dem Anregungspuls angeschaltet wird, und so nur noch zeitlich verzögerte Fluoreszenzphotonen detektiert werden. Dieses Prinzip wird in dem hier vorgestellten Aufbau realisiert, um die Streulichtunterdrückung, die im nulldimensionalen Aufbau allein durch optische Filter erreicht wurde, für ein entsprechend vergrößertes Anregungsvolumen im zweidimensionalen Aufbau weiter zu verbessern.

Zur Unterdrückung des Streulichts, welches von Grenzflächen des Probengefäßes herührt, sind die Oberflächen entsprechend zu reinigen und das Anregungsvolumen ausreichend weit von Oberflächen entfernt zu justieren. Die meist in geringen Spuren vorhandenen fluoreszierenden Verunreinigungen in den verwendeten Lösungsmitteln (Autofluoreszenz) können durch Fotobleichung deaktiviert werden. Dabei wird das Lösungsmittel für einige Zeit einer sehr hohen Lichtintensität ausgesetzt (z.B. dem Licht einer UV-Lampe), um so die noch vorhandenen freien Fluoreszenzzentren zu zerstören.

## 2.2 Photodetektoren

In den folgenden Absätzen werden die verschiedenen Arten von Photodetektoren beschrieben, die in der Fluoreszenzdetektion zum Einsatz kommen. Es wird die Funktionsweise der Detektortypen erläutert und die daraus folgenden Eigenschaften für den Einsatz im Experiment werden diskutiert. Es gibt verschiedene Detektortypen die empfindlich genug sind, um einzelne Photonen zu detektieren. Allen gemeinsam ist das Grundprinzip des Photonennachweises: Zuerst wird über den äußeren Photoeffekt in einem Festkörper (Alkalimetall oder Halbleiter) das Photon absorbiert und ein Ladungsträger (ein freies Elektron bzw. Elektron-Loch-Paar) erzeugt. In einen weiteren Prozeß werden die generierten Ladungsträger vervielfacht. Dadurch wird das Signal eines einzelnen Photons so groß, daß es als Ladungssignal oder – nach einem weiteren Konvertierungsschritt – als Photonen-schauer nachgewiesen werden kann. Für den Nachweis von kleinsten Lichtmengen sind Photomultiplier seit vielen Jahren im Einsatz und waren lange Zeit aufgrund ihrer hohen Empfindlichkeit konkurrenzlos. Durch neue Entwicklungen in der Halbleitertechnologie gibt es mittlerweile auch einzelphotonempfindliche, verstärkende Photodioden, die sogenannten Avalanche-Photodioden (APD). Beide Detektortypen haben den Nachteil, daß sie keine oder nur sehr schlechte Ortsauflösung aufweisen. Der Einsatz von Multikanalplatten-Bildverstärkern (MCP-Bildverstärker) ermöglicht die Verstärkung von Einzelphotonereignissen unter Beibehaltung der Ortsinformation, so daß zum orts aufgelösten Nachweis auch weniger empfindliche Detektoren wie CCD-Kameras<sup>1</sup> oder – wie bei dem hier vorgestellten Aufbau – Silizium-Streifendetektoren verwendet werden können.

### 2.2.1 Photodioden

Halbleiter haben aufgrund ihrer grundlegenden Eigenschaften (Bandstruktur, Energielücke) eine zentrale Bedeutung für die Umwandlung von elektrischer Energie in optische und umgekehrt. Die wichtigsten Halbleitermaterialien sind monolithische Kristalle aus Silizium (Si), Germanium (Ge), Gallium-Arsenid (GaAs) und Cadmium-Tellurid (CdTe) wobei sich die folgende Beschreibung auf Silizium-Halbleiter beschränkt. Eine ausführliche Beschreibung von Halbleiterphysik und Halbleiterbauteilen findet man bei [KOP89] und [SZE85].

In einem Festkörper entsteht durch die Überlagerung der Energieniveaus der einzelnen Atome ein Valenz- und ein Leitungsband, die durch einen energetisch verbotenen Bereich, der sogenannten Bandlücke, voneinander getrennt sind. In einem Isolator ist das Leitungsband nicht mit Elektronen besetzt und die Energie der Bandlücke  $E_G$  ist mit einigen Elektronenvolt (eV) groß genug, daß keine Elektronen durch thermische Anregung vom Valenz- in das Leitungsband gelangen können. Bei einem Silizium-Halbleiter beträgt die Bandlücke 1,12 eV (bei einer Temperatur von 300 K). Die Bandlücke ist damit klein ge-

---

<sup>1</sup> Charge Coupled Device, Halbleiter Bildsensor, der die Lichtintensität als Ladungsprofil in einzelnen Bildzellen sammelt, die zum Auslesen seriell hintereinander zu einem Verstärker getaktet werden.

nug, um Elektronen aus dem Valenzband durch thermische Anregung in das Leitungsband anzuheben. Elektron und die im Valenzband zurückgebliebene Störstelle (Loch) sind nun frei beweglich und führen zur elektrischen Leitfähigkeit. Die Konzentration dieser sogenannten intrinsischen Ladungsträger beträgt in Silizium  $1,5 \cdot 10^{10} \text{ cm}^{-3}$  bei 300 K und hängt stark von der Temperatur und die Größe der Bandlücke des Halbleiters ab [KOP89]. Neben der intrinsischen Leitfähigkeit des reinen Halbleiterkristalls tritt die sogenannte Störstellenleitung durch Dotierung des Halbleiters mit Fremdatomen auf. Ein Halbleiter, bei dem die Anzahl der Donatoren überwiegt, bezeichnet man als n-Halbleiter, entsprechend kennzeichnet ein Überschuss von Akzeptoren einen p-Halbleiter. Die Dotierungskonzentration kann  $10^{14}$  bis  $10^{18} \text{ cm}^{-3}$  betragen.

### 2.2.1.1 Absorption von Photonen im Halbleiter

Das einfachste Element zum Nachweis von Licht ist der Photowiderstand. Er besteht aus einem Stück Halbleitermaterial, welches an zwei Seiten einen ohmschen Kontakt<sup>2</sup> aufweist. Ein Photon wird vom Halbleiter absorbiert und generiert ein Elektron-Loch-Paar, wenn seine Energie  $h \cdot \nu$  mindestens der der Bandlücke  $E_G = E_L - E_V$  entspricht (siehe Abbildung 2.2). Durch die Absorption nimmt die Lichtintensität entlang der Ausbreitungsrichtung der Photonen exponentiell ab.

$$I(x) = I_0 e^{-\alpha \cdot x} \quad (2.1)$$

ist die Lichtintensität nach der Strecke  $x$ , wobei  $I_0$  die Lichtintensität an der Oberfläche des Halbleiters und  $\alpha$  den Absorptionskoeffizienten (siehe Abbildung 2.3) angibt.

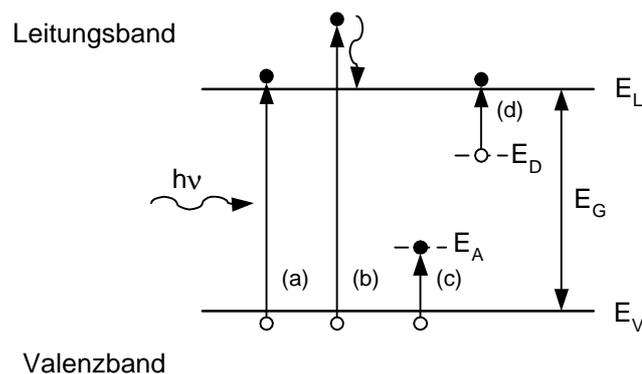


Abbildung 2.2: Optische Absorption für verschiedenen Photonenenergien: a)  $h \cdot \nu = E_G$ , b)  $h \cdot \nu > E_G$ , c) und d)  $h \cdot \nu < E_G$ . Im Fall b) wird die überschüssige Energie  $E_G - h \cdot \nu$  als Wärme an das Kristallgitter abgegeben. Die Übergänge c) und d) sind auch bei einer Photonenenergie kleiner als  $E_G$  möglich, da sie von einem Donatorniveau  $E_D$  bzw. zu einem Akzeptorniveau  $E_A$  erfolgen.

<sup>2</sup> Man bezeichnet einen Metall-Halbleiter Kontakt als ohmsch, wenn er im Gegensatz zu einem Schottky-Kontakt nicht die Charakteristik einer Diode zeigt. Erreicht wir das durch geeignet Wahl der Metallisierung und der Dotierungskonzentration.

Das Absorptionsspektrum ist in einem reinen Silizium-Halbleiter durch die Forderung  $h \cdot \nu > E_G$  zu langen Wellenlängen hin auf  $\lambda = 1100$  nm begrenzt. Durch Dotierung des Halbleiters kann die Sensitivität weiter ins Infrarot ausgedehnt werden, da zusätzliche Energieniveaus innerhalb der Bandlücke entstehen (Abbildung 2.2 c) und d)). Durch die Generierung von Elektron-Loch-Paaren wird die Anzahl der freien Ladungsträger und damit die Leitfähigkeit des Photowiderstands erhöht. Legt man eine konstante Spannung an die Kontakte des Photowiderstands an, kann man über die Änderung des Stroms eine Änderung der Lichtstärke messen. Um eine hinreichende Photostromverstärkung zu erreichen, muß die Zeit, die die generierten Ladungsträger brauchen um durch den Halbleiter zu driften (Transitzeit), klein gegenüber der Zeit sein, innerhalb der sie wieder rekombinieren (Rekombinationszeit) [SZE85].

Die Nachweisempfindlichkeit von Photowiderständen wird durch die Tatsache begrenzt, daß die generierten Elektron-Loch-Paare rekombinieren können, bevor sie von den Elektroden abgesaugt werden und daß auch ohne Absorption von Photonen freie Ladungsträger im Halbleiter vorhanden sind, die sich dem Signalstrom überlagern. Um die Nachweisempfindlichkeit zu verbessern, muß man dafür sorgen, daß die photogenerierten Elektron-Loch-Paare schnell genug voneinander getrennt werden und sich möglichst keine weiteren freien Ladungsträger im Nachweisvolumen befinden. Dies erreicht man mit einer Halbleiterdiode, die in Sperrichtung betrieben wird.

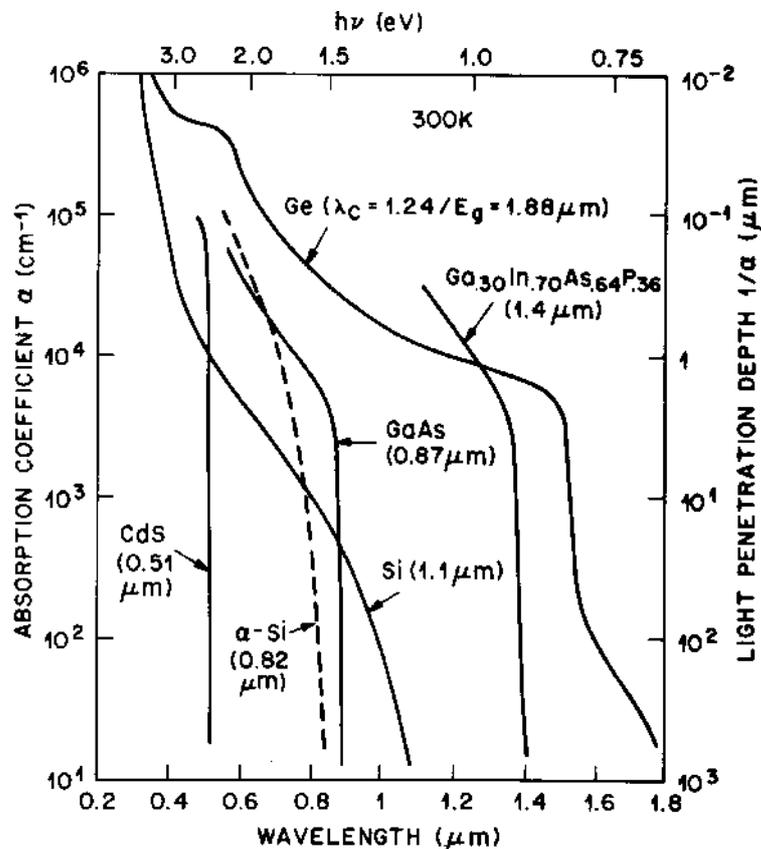


Abbildung 2.3: Optischer Absorptionskoeffizient für verschieden Halbleiter (aus [SZE85]).

### 2.2.1.2 Halbleiterdiode

Eine Photodiode (Halbleiterdiode oder auch p-n-Diode) entsteht durch den Kontakt eines n-Halbleiters mit einem p-Halbleiter. In Abbildung 2.4 sind die Energiebänder für p- und n-Halbleiter dargestellt. Durch das Vorhandensein der Störstellen ist die Fermienergie  $E_F$  des p-Halbleiters zum Valenzband und die des n-Halbleiters zum Leitungsband hin verschoben. Die Bandstruktur des p-n-Übergangs ergibt sich durch die Forderung, daß im thermodynamischen Gleichgewicht das Fermienergielevel für beide Zonen identisch sein muß und der Verlauf von Valenz- und Leitungsband bis zum Rand des Halbleiters kontinuierlich ist. Durch den Konzentrationsunterschied der freien Ladungsträger im Bereich des Kontakts kommt es zu einem Diffusionsstrom. Löcher aus dem p-dotierten Material wandern in den n-Bereich und Elektronen von dort in den p-Bereich. Die zurückbleibenden Rumpfe der Akzeptor- bzw. Donatoratome bilden dort ortsfeste Raumladungen aus. Diese Raumladung ist im n-Bereich aufgrund der fehlenden Elektronen positiv und im p-Bereich entsprechend negativ. Innerhalb dieser Raumladungszone befinden sich keine freien Ladungsträger mehr – man spricht daher auch von der Depletionszone. Diese Zone dehnt sich im Bereich des p-n-Übergangs soweit aus, bis das elektrische Feld der Raumladung und der dadurch erzeugte Driftstrom den Diffusionsstrom kompensiert. Von außen wird die Photodiode über Elektroden an der n-Seite (Kathode) und der p-Seite (Anode) angeschlossen. Durch Anlegen einer positiven Spannung an der Kathode gegenüber der Anode wird der Bereich der Depletion weiter ausgedehnt. Die Tiefe der Depletion berechnet sich nach

$$x_n = \sqrt{\frac{2\varepsilon}{e} \frac{V_0 + U_D}{N_D(1 + N_D / N_A)}} \quad (2.2)$$

$$x_p = \sqrt{\frac{2\varepsilon}{e} \frac{V_0 + U_D}{N_A(1 + N_A / N_D)}} \quad (2.3)$$

für n- bzw. p-Zone des Halbleiters [LEO94]. Dabei ist  $e$  die Elementarladung,  $\varepsilon = \varepsilon_r \cdot \varepsilon_0$  die Dielektrizitätskonstante des Halbleitermaterials,  $V_0$  das Kontaktpotential (Diffusionsspannung, ca. 0,7 V für Si),  $N_A$  und  $N_D$  die Konzentrationen von Akzeptoren in der p-Zone bzw. Donatoren in der n-Zone.  $U_D$  ist die Sperrspannung (Depletionsspannung) die von außen an die Diode angelegt wird.

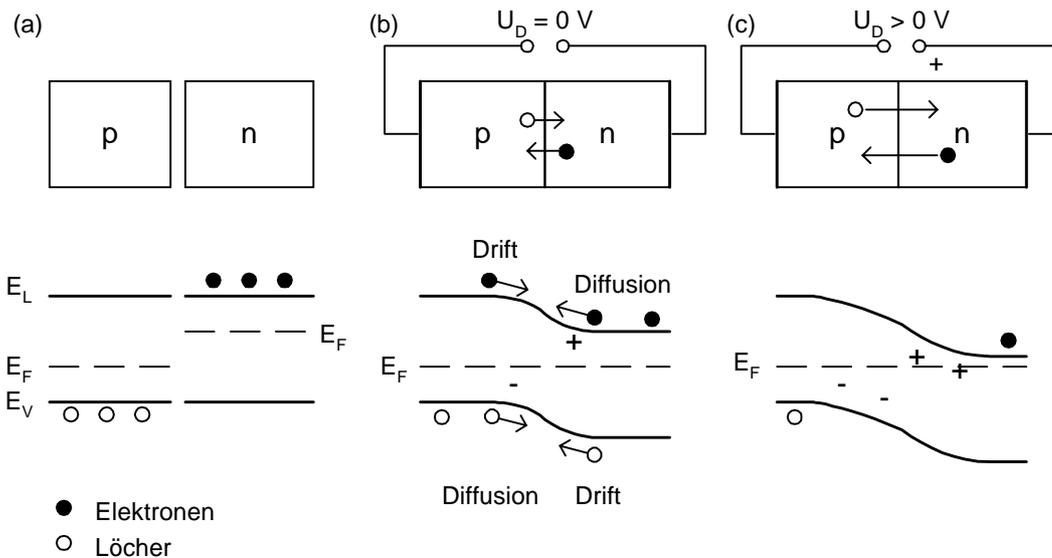


Abbildung 2.4: P-N Übergang einer Halbleiterdiode mit gleicher Dotierungskonzentration im p- und n-Bereich. Dargestellt ist die Lage der Energiebänder bei a) p- und n-Halbleiter ohne Kontakt, b) p-n-Diode ohne äußere Spannung, c) p-n-Diode mit Sperrspannung. Gepunktet gezeichnet ist der Bereich der Depletionszone

Die Herstellung einer Halbleiterdiode erfolgt meist nicht durch das Zusammenfügen von zwei unterschiedlich dotierten Halbleiterkristallen, sondern durch die nachträgliche Dotierung eines Halbleiterkristalls.<sup>3</sup> Ausgangsmaterial ist ein schwach n-dotierter Halbleiter, der an einer Seite mit einer starken p-Dotierung ( $p^+$ ) versehen wird, wodurch die p-n-Diode entsteht. Durch den starken Konzentrationsunterschied zwischen n- und  $p^+$ -Zone breitet sich die Depletionszone fast ausschließlich in das schwach dotierte n-Substrat aus. Das wird deutlich, wenn man für  $N_A \gg N_D$  Gleichung (2.2) und (2.3) betrachtet. Für die gesamte Ausdehnung der Depletionszone gilt dann in guter Näherung

$$d \approx x_p = \sqrt{\frac{2\epsilon V_0 + U_D}{e N_D}} \quad (2.4)$$

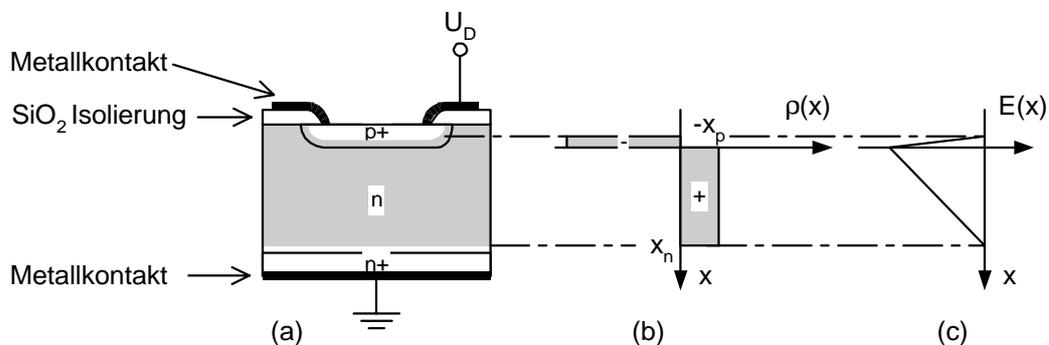


Abbildung 2.5: a) Aufbau einer p-n-Photodiode, b) Raumladungverteilung in der depletierten Photodiode, c) Verlauf der elektrischen Feldstärke

<sup>3</sup> Die Dotierung erfolgt technisch durch Diffusion von Fremdatomen in die Oberfläche (Plasmaverfahren) oder durch Implantation mit einem Ionenstrahl. Die Tiefe der Implantation ist typisch in der Größenordnung von einem Mikrometer [SZE85].

Durch Anlegen einer Depletionsspannung  $U_D$  kann die Depletionszone über die gesamte Dicke des Substrats ausgedehnt werden. Um zu verhindern, daß die Depletionszone sich bis zum Rückkontakt ausdehnt, wird auf der Rückseite des Detektors eine stark dotierte n-Zone (n+) implantiert, in die die Depletionszone kaum hineinreicht. Anderenfalls würde an einem direkten Kontakt der Metallisierung mit der Depletionszone Ladungsträger in die Diode injiziert werden, was den Leckstrom schlagartig ansteigen lassen würde. Diese Seite des Detektors nennt man auch die ohmsche Seite im Gegensatz zur Dioden-Seite des p-n-Übergangs. In Abbildung 2.5 ist der Aufbau einer p-n-Photodiode schematisch dargestellt. Durch eine entsprechende Depletionsspannung ist der gesamte Dicke der Photodiode depletiert (grauer Bereich). In b) und c) sind die Ausdehnung der Raumladung und das elektrische Feld entlang eines idealen, abrupten p-n-Übergangs gezeigt.

### 2.2.1.3 Signalentstehung

Um das elektrische Verhalten einer Detektordiode zu beschreiben, kann man ein Ersatzschaltbild benutzen, wie es in Abbildung 2.6 dargestellt ist. Dieses Ersatzschaltbild ist stark vereinfacht und berücksichtigt daher nicht alle Aspekte der Signalentstehung. Insbesondere wird der in Sperrichtung fließende Detektorleckstrom in Abbildung 2.6 nicht wiedergegeben. Das Signal, daß durch die driftenden Elektron-Loch-Paare auf den Elektroden beeinflusst wird, wird durch die Stromquelle dargestellt. Während der Ladungssammelungszeit fließt der Strom  $I_p(t)$ , der integriert die Ladungsmenge  $Q$  ergibt. Die Ladungssammelungszeit in einem 300  $\mu\text{m}$  Dicken Siliziumdetektor beträgt etwa 8 ns für die Elektronen und 25 ns für die Löcher [LEO94]. In erster Näherung kann man die zeitliche Entwicklung des Signalstroms vernachlässigen und  $I_p(t)$  für den Zeitraum der Ladungssammlung als konstant annehmen. Eine zeitliche Analyse der Signalentstehung findet man bei [LEO94]. Parallel zu der Signalquelle befindet sich die Detektorkapazität  $C_D$ . Diese Kapazität kann man sich als Plattenkondensator vorstellen, dessen Elektroden durch die Grenzflächen der Depletionszone gebildet werden. Über die Messung dieser Kapazität hat man ein direktes Maß für die Dicke der Depletionszone und damit für die Spannung, die notwendig ist, um die Diode vollständig zu depletieren (siehe Gleichung (2.1)).

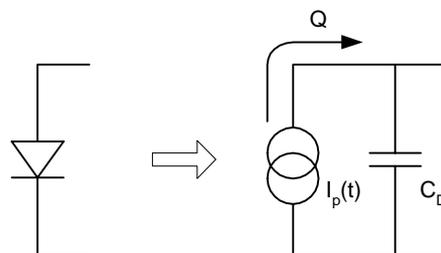


Abbildung 2.6: Ersatzschaltbild einer Detektordiode. Wenn im Detektor ein Signal erzeugt wird, fließt während der Ladungssammelungszeit der Strom  $I_p(t)$ , der integriert die Ladungsmenge  $Q$  ergibt. Parallel zur Signalquelle liegt die Kapazität  $C_D$  der Detektorelektrode.

Das Verhältnis von generierten Elektron-Loch-Paaren  $n_e$  zu einfallenden Photonen  $n_{ph}$  wird als Quanteneffizienz bezeichnet:

$$QE[\%] = 100 \cdot \frac{I_p / e}{P_{opt} / h\nu} = 100 \cdot \frac{n_e}{n_{ph}} \quad (2.5)$$

mit dem generierten Photostrom  $I_p$ , der Elementarladung  $e$ , der einfallenden optischen Leistung  $P_{opt}$  und der Photonenergie  $h\nu$ . Die Quanteneffizienz hängt in erster Linie von dem Absorptionskoeffizienten  $\alpha$  ab (siehe Abbildung 2.2). Zu langen Wellenlängen hin ist die Quanteneffizienz durch die minimal notwendige Energie zur Erzeugung eines Elektron-Loch-Paars begrenzt. Bei Silizium mit  $E_g = 1,12$  eV geht  $\alpha$  und damit auch  $QE$  bei  $\lambda = 1100$  nm gegen null. Zu kurzen Wellenlängen hin nimmt die Absorption stark zu ( $\alpha \approx 10^5 - 10^6$  cm<sup>-1</sup>), so daß die Elektron-Loch-Paare nahe der Oberfläche der Halbleiterdiode erzeugt werden. Aber gerade an der Oberfläche einer p-n-Photodiode ist die Depletionszone noch nicht ausgeprägt (siehe Abbildung 2.4). Die dort generierten Ladungsträger gehen der Ladungssammlung verloren, falls sie rekombinieren können, bevor sie durch Diffusionsbewegung in die Depletionszone gelangen. Eine Verbesserung des Ansprechverhaltens für kurzwelliges Licht wird durch Verringern der Implantationstiefe erreicht oder durch die Verwendung eines Schottky-Übergangs [SZE85]. Die typische Quanteneffizienz einer Photodiode beträgt etwa 70 % bei 530 nm und kann durch auftragen einer Entspiegelungsschicht auf 95 % gesteigert werden [SZE85].

#### 2.2.1.4 Spezielle Detektordioden

Für den Nachweis von optischen Photonen spielen zwei Arten von Photodioden eine besondere Rolle. Beide basieren auf dem Prinzip der oben beschriebenen p-n Diode, erhalten aber durch zusätzliche Veränderungen der Dotierungszonen besondere Eigenschaften.

- **PIN-Diode**

Photodioden, deren n-Substrat extrem schwach dotiert ist bzw. deren n-Dotierung die natürlich vorhandenen Störstellen<sup>4</sup> des Substrats gerade kompensiert, nennt man PIN-Dioden. Das durch die Kompensation sehr hochohmige Substrat hat dann idealerweise die Ladungsträgerkonzentration eines intrinsischen Halbleiters. Die Abkürzung PIN ergibt sich durch die Abfolge der einzelnen Dotierungszonen innerhalb der Diode. Der Vorteil von PIN-Dioden gegenüber normalen p-n-Dioden ist, daß schon bei geringer Depletionsspannung die Diode vollständig verarmt ist. Dadurch ist man in der Lage, Photodioden mit einer größeren Dicke und einem entsprechend größeren Nachweisvolumen herzustellen. Gleichzeitig wird die Kapazität der Diode kleiner, so daß optische Signale mit höherer Rate erfaßt werden können [SZE85]. Die minimale Lichtleistung, die noch mit hoher Rate von einer typischen PIN-Photodiode nachgewiesen werden, kann beträgt etwa  $4 \cdot 10^{-15}$  W. Das

---

<sup>4</sup> Fehlstellen im Kristallgitter (Versetzungen oder nicht besetzte Gitterplätze) wirken meist wie ein Akzeptor und erhöhen die Löcherkonzentration des Halbleiters.

entspricht einer Anzahl von  $10^4$  eindringenden Photonen (bei  $\lambda = 520$  nm) in jedem Puls [TRE98], so daß PIN-Dioden als Detektor zum Einzelphotonnachweis nicht in Frage kommen.

- **Avalanche-Photodiode**

Bei einer Avalanche-Photodiode (APD) erreicht man durch eine entsprechenden Feldgeometrie innerhalb des Halbleiters eine Vervielfachung der generierten Ladungsträger. Aufgrund dieser intrinsischen Verstärkung wird das Signal einzelner Photonenereignisse groß genug, um es nachweisen zu können. Wie bei einer normalen Photodiode werden innerhalb der Depletionszone erzeugte Elektron-Loch-Paare durch das Driftfeld getrennt und zu den jeweiligen Elektroden hin beschleunigt. Treten nun die Elektronen in den Bereich der sogenannten ‘metallurgical junction’ ein, so werden sie durch die dort herrschende große Feldstärke stark beschleunigt. Dabei nimmt ihre kinetische Energie soweit zu, daß durch Stoßionisation weitere Elektron-Loch-Paare erzeugt werden. Diese so erzeugten Sekundärelektronen werden wiederum beschleunigt und lösen weitere Elektronen aus – eine Elektronenlawine entsteht. Die Anzahl der durch ein primäres Elektron ausgelösten Sekundärelektronen hängt von der Stärke des elektrischen Feldes und damit von der Depletionsspannung ab. Die obere Grenze der linearen Verstärkung von typisch  $10^3$  wird durch die sogenannte Durchbruchspannung bestimmt, bei der die Feldstärke so groß wird, daß auch ohne Lichteinfall Elektronenlawinen entstehen. Der Betrieb der APD unterhalb der Durchbruchspannung wird linearer Modus genannt, da das Ausgangssignal proportional zur Anzahl der primären Photoelektronen ist. Ab der Durchbruchspannung arbeitet die APD im sogenannten Geiger-Modus. Das Ausgangssignal ist dann unabhängig von der Anzahl der generierten Photoelektronen und die Verstärkung erreicht Faktoren bis zu  $10^6$ . In diesem Betriebsmodus hat eine APD eine sehr gute Zeitauflösung und ermöglicht die Detektion von Einzelphotonen. Aufgrund der hohen Quanteneffizienz (maximal 70 % - 95 % wie bei der Photodiode), Empfindlichkeit und des einfachen Aufbaus werden APDs zum Nachweis von Einzelphotonen in der Fluoreszenzspektroskopie häufig eingesetzt [KEL96] [KAL98]. Problematisch bei der Fertigung von großflächigen APDs ist jedoch, die Durchbruchspannung über die gesamte Fläche konstant zu halten. Inhomogenitäten im Feldverlauf, wie sie z.B. durch die Strukturierung der Implantationen entstehen, führen dazu, daß die APD an diesen Stellen mit hohem Feldgradienten früher durchbricht als in anderen Bereichen. Daher sind bislang noch keine großflächigen monolithischen APDs mit strukturierten Elektroden erhältlich, mit denen man orts aufgelösten Einzelphotonnachweis betreiben kann.

### 2.2.2 Photomultiplier

Ein Photomultiplier besteht aus einer Photokathode, einer Anzahl von aufeinander folgenden Dynoden und einer Anode, die innerhalb eines evakuierten Glaskolbens angebracht sind. Ein einfallendes Photon löst über den Photoeffekt auf der Photokathode ein Photoelektron aus. Das Material der Photokathode ist meist eine Alkali- oder Bialkali-

Metallegierung, welche die Eigenschaft hat, eine niedrige Austrittsarbeit für Elektronen aufzuweisen (typische Werte 2,1 - 2,4 eV). Die Wahl des Materials bestimmt den Wellenlängenbereich, für den der Photomultiplier empfindlich ist. Die Quanteneffizienz ist allerdings nicht so hoch wie die einer Halbleiterdiode oder APD und beträgt, abhängig vom verwendeten Photokathodenmaterial, zwischen 10 % und 25 % (siehe Tabelle 2.1). Die generierten Photoelektronen werden durch ein elektrisches Feld auf die erste Dynode hin beschleunigt. Dort kann ein Elektron mit hinreichend großer kinetischer Energie mehrere Elektronen aus der Metalloberfläche herausschlagen. Das elektrische Feld zwischen den Dynoden führt zu einer weiteren Verstärkung der Sekundärelektronen von Stufe zu Stufe. Der Verstärkungsfaktor jeder Dynodenstufe beträgt – abhängig vom elektrischen Feld, Material und Geometrie der Dynode – zwischen 4 und 20. Durch die Aneinanderreihung von 10 bis 14 Dynodenstufen ergibt sich eine maximale Elektronenverstärkung von bis zu  $10^{10}$  [LEO94]. Am Ende des Photomultipliers wird der Sekundärelektronenschauer auf der Anode gesammelt und kann mit einem geeigneten Verstärker nachgewiesen werden. Ähnlich wie bei einer APD gibt es auch bei Photomultipliern einen linearen und einen sogenannten Photonenzähler-Modus. Im linearen Modus ist der Signalstrom der Anode proportional zum Fluß der Primärelektronen – und damit proportional zum Eingangssignal der Photonen. Dazu dürfen nicht zu große Signalströme fließen, um das Potential der Dynoden und damit deren Verstärkung konstant zu halten. Im Photonenzähler-Modus ist die Verstärkung maximal, so daß jedes Signalereignis den Photomultiplier in Sättigung treibt. Der Photomultiplier ist dann so empfindlich, daß er einzelne Photonen nachweisen kann.

In der Fluoreszenzspektroskopie wurden fast ausschließlich Photomultiplier eingesetzt, bevor neu entwickelte APDs mit ihrer besseren Quantenausbeute (50 % - 95% gegenüber 10 % - 25 %) erhältlich wurden [RIE92] [KEL96]. Zum orts aufgelösten Nachweis können in Photomultipliern die Dynoden und die Anoden makroskopisch strukturiert werden, so daß man eine parallele Anordnung von unabhängigen Photomultiplierkanälen innerhalb einer Vakuumröhre erhält [LEO94]. Die dadurch erreichbare Granularität ist aber nicht sehr hoch und die Ortsauflösung entsprechend schlecht (einige mm). Erst mit der Entwicklung von Mikrokanalplatten-Bildverstärkern konnte die Verstärkung von Einzelphotonereignissen mit hoher Ortsauflösung erreicht werden.

### 2.3 Mikrokanalplatten Bildverstärker

In Abbildung 2.7 ist der Aufbau eines Mikrokanalplatten-Bildverstärkers ('micro channel plate' kurz MCP) gezeigt. Der MCP-Bildverstärker besteht aus einer Photokathode, einer oder mehreren MCPs und einem Leuchtschirm, die alle planparallel innerhalb eines Hochvakuums angeordnet sind. Der aktive Bereich eines Bildverstärkers ist 25 mm bzw. 40 mm im Durchmesser, wobei der Abbildungsmaßstab eins beträgt. Ein Photon, welches durch das Eintrittsfenster gelangt, löst über den Photoeffekt ein Elektron aus der Photokathode aus. Die Photokathode besteht aus einer wenige Mikrometer dicken Alkali- oder Bialkalimetallschicht, die auf das Eintrittsfenster aufgedampft ist. Die Wahl des Photoka-

thodenmaterials hängt dabei hauptsächlich von der Wellenlänge des zu verstärkenden Lichts ab.

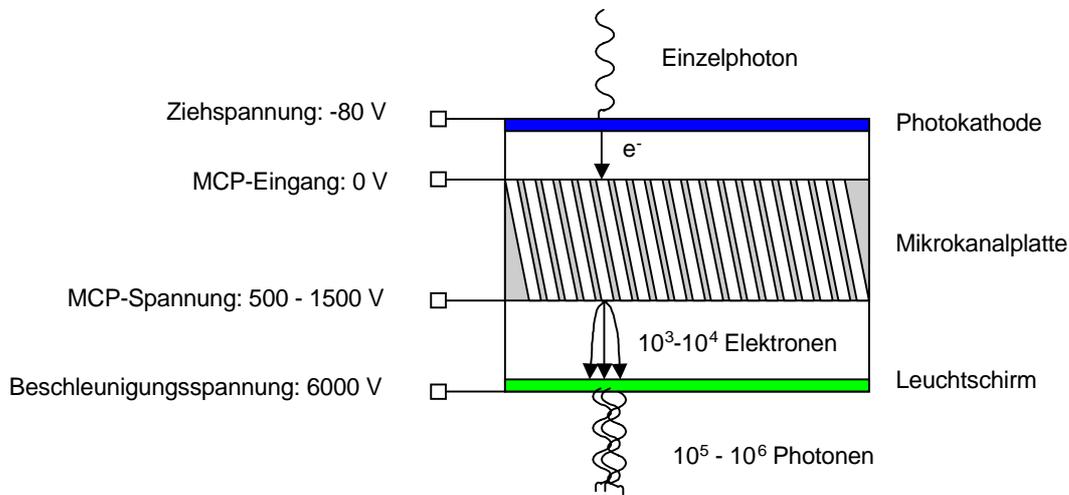


Abbildung 2.7: Querschnitt durch einen Mikrokanalplatten-Bildverstärker.

Die in Abbildung 2.8 angegebene spektrale Empfindlichkeit  $S$  ist das Verhältnis von ausgelöstem Photoelektronenstrom  $I_e$  in Milliampere und eingestrahler Lichtleistung  $P_{ph}$  in Watt:

$$S[\text{mA} / \text{W}] = \frac{I_e}{P_{ph}} = \frac{n_e \cdot e}{n_{ph} \cdot h \cdot \frac{c}{\lambda}} \quad (2.6)$$

mit  $n_e$  = Anzahl der ausgelösten Photoelektronen,  $n_{ph}$  = Anzahl der eingefallenen Photonen,  $h$  = Planck'sches Wirkungsquantum,  $c$  = Lichtgeschwindigkeit,  $e$  = Elementarladung,  $\lambda$  = Lichtwellenlänge. Die Quanteneffizienz  $QE$  gibt das Verhältnis von Photoelektronen zu Photonen in Prozent an (siehe auch Gleichung (2.4)):

$$QE[\%] = 100 \cdot \frac{n_e}{n_{ph}} = 100 \cdot \frac{h \cdot c}{e} \cdot \frac{1}{\lambda} \cdot S = 124 \cdot S[\text{mA} / \text{W}] \cdot \frac{1}{\lambda[\text{nm}]} \quad (2.7)$$

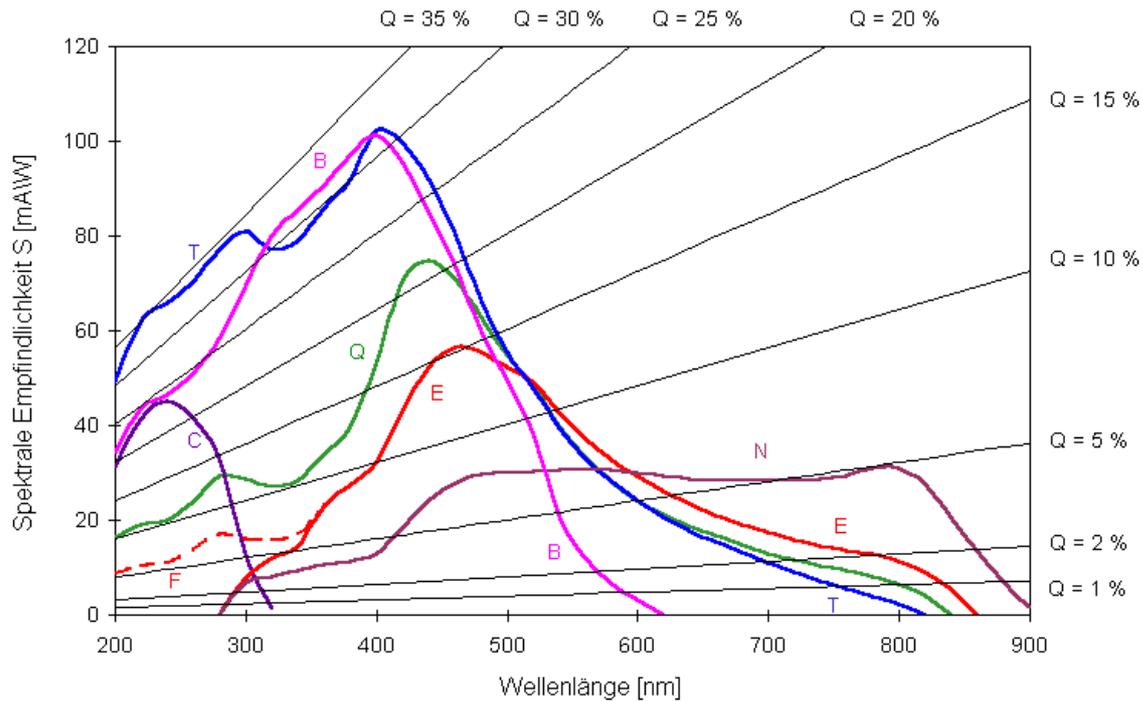


Abbildung 2.8: Typische spektrale Empfindlichkeit  $S$  verschiedener Photokathoden. Die Quanteneffizienz  $QE$  einer Photokathode kann im Einzelfall bis zu 25 % von den angegebenen Werten abweichen [PRO98].

Photokathode	Material	Index	$\lambda_{\min}-\lambda_{\max}$ [nm]	$\lambda_{QE}$ [nm]	QE [%]	DK [e/cm <sup>2</sup> /sec]
Solar Blind	CsTe	C	150-300	220	17-28	3
Bialkali	K <sub>2</sub> SbCs	B	165-550	420	27-32	15
UV Wide Band	(Na <sub>2</sub> KSb)Cs	T	165-750	400	25-32	500
S20	(Na <sub>2</sub> KSb)Cs	Q	165-750	430	22%	1500
S25	(Na <sub>2</sub> KSb)Cs	F	165-850	460	15%	10000
Red Enhanced S25	(Na <sub>2</sub> KSb)Cs	N	165-900	500	7%	30000

Tabelle 2.2: Liste der gebräuchlichen Photokathoden für die Verwendung in Bildverstärkern (aus [PRO98]). Der Index verweist auf die Kurven in Abbildung 2.8..Nutzbarer Bereich des Absorptionsspektrums:  $\lambda_{\min}-\lambda_{\max}$ , Maximum der Quanteneffizienz  $QE$  bei  $\lambda_{QE}$ , Dunkelrauschrate:  $DK$ .

Ein weiterer Parameter ist die Dunkelrauschrate  $DK$  der Photokathode. Durch thermische Emission werden abhängig von der Temperatur der Photokathode Photoelektronen produziert. Jedes einzelne Dunkelektron erzeugt ein Signal, welches sich nicht von einem echten Einzelphotonereignis unterscheiden lässt. Durch Kühlung der Photokathode kann die Dunkelrate deutlich reduziert werden. Man erreicht etwa eine Halbierung der Rate pro 10° C Abkühlung [PRO98].

Mit einer Spannung von etwa 60 V bis 80 V zwischen Photokathode und MCP-Eingang werden die Photoelektronen zur MCP hin beschleunigt. Die MCP besteht aus einem Sub-

strat mit hohem elektrischen Widerstand (Bleiglas). Dieses Substrat ist mit einer dichten Struktur von Kanälen mit typisch  $6\ \mu\text{m}$  Durchmesser in einem Winkel von typisch  $5^\circ$  zur optischen Achse versehen [GAL97]. Die Neigung der Kanäle verhindert daß von den hinter der MCP austretenden Elektronen ionisierte Restgasmoleküle zurück auf die Photokathode beschleunigt werden und diese zerstören. Auf den Oberflächen der Kanäle wird eine Widerstandsschicht aufgebracht, so daß bei Anlegen einer Spannung zwischen den beiden Seiten der MCP ein elektrisches Feld entlang der Kanäle entsteht. Durch eine Metallisierung der Ein- und Austrittsseite der MCP wird jeder Kanal an diese Verstärkungsspannung angeschlossen. Jeder einzelne Kanal funktioniert nun wie ein Photomultiplier. Ein mit entsprechender kinetischer Energie einfallendes Elektron löst durch Stoßionisation in der Kanalwand Sekundärelektronen aus. Diese werden entlang des elektrischen Feldes im Kanal weiter beschleunigt und kollidieren wieder mit der Kanalwand. Dieser Vorgang wiederholt sich entlang des Kanals mehrmals und erzeugt am Ausgang der MCP einen Elektronenschauer (Abbildung 2.9 a). Die Anzahl der erzeugten Sekundärelektronen ist abhängig von der Verstärkungsspannung  $U_{MCP}$ , dem Verhältnis von Kanallänge zu Durchmesser  $L/D$ , der Beschichtung der Kanaloberfläche (dem Sekundäremissionskoeffizient  $s$ ), der kinetischen Energie des einfallenden Elektrons  $E_{in}$  und der Anfangsenergie der Sekundärelektronen  $E_0$ . Bei [PCO90] wird folgende Formel angegeben, die unter Annahme eines vereinfachten Modells die Elektronenverstärkung  $G$  beschreibt:

$$G = \left( \frac{s \cdot U_{MCP}}{2 \cdot \frac{L}{D} \cdot \sqrt{E_{in}} \cdot \sqrt{E_0}} \right)^{\frac{4 \cdot \left(\frac{L}{D}\right)^2 \cdot E_{in}}{U_{MCP}}} \quad (2.8)$$

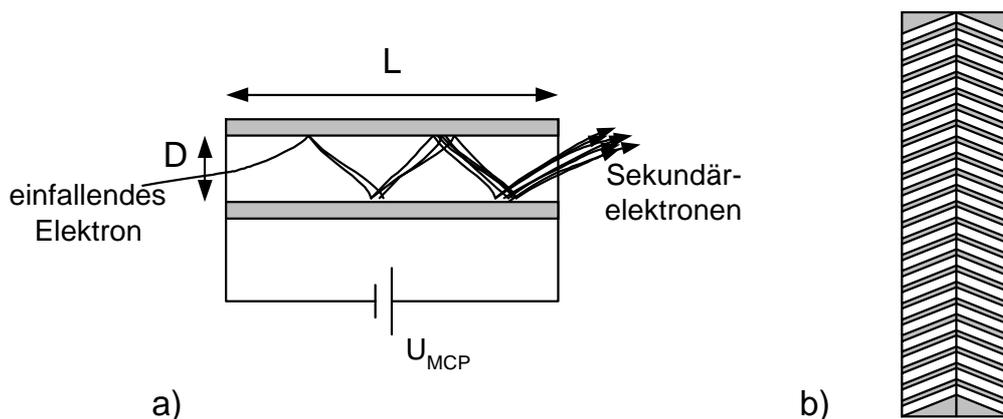


Abbildung 2.9: a) Entstehung eines Sekundärelektronenschauers innerhalb eines Mikrokanals (typische Maße: Durchmesser  $D = 6\ \mu\text{m}$ , Länge  $L = 240\ \mu\text{m}$ ,  $L/D = 40$ ), b) 'Chevron'-Anordnung von Mikrokanalplatten in einer Doppelstufen-MCP

Nicht berücksichtigt sind Effekte, die zur Sättigung der Verstärkung beitragen. Hauptsächlich sind es zwei Ursachen, die zur Sättigung beitragen. Zum einen verzerrt die

Raumladungswolke der Sekundärelektronen innerhalb eines Kanals das Beschleunigungsfeld. Aufgrund der kurzen Transitzeit der Sekundärelektronen durch die MCP ( $< 1$  ns) ist dieser Effekt aber nicht dominant. Viel mehr trägt die Entladung der Kanalwände durch die Emission von Elektronenschauer zur Feldverzerrung bei. Aufgrund des hohen Kanalwiderstands und der MCP Kapazität beträgt die Zeitkonstante, mit der ein zuvor getroffener Kanal wieder aufgeladen werden kann einige Millisekunden [PCO90]. Während dieser Regenerationszeit ist die Elektronenverstärkung des Kanals deutlich geringer. Die maximale Elektronenverstärkung einer einfachen MCP Stufe beträgt bei  $U_{MCP} = 800$  V typisch  $10^3$ . Um höhere Verstärkungsfaktoren zu erzielen, werden zwei MCP Stufen hintereinander betrieben. Die in dieser Chevron-Anordnung (Abbildung 2.9.b)) erreichbare Verstärkung beträgt dann bis zu  $10^5$  bei  $U_{MCP} = 1500$  V [PRO98].

Am Ausgang der MCP wird der Sekundärelektronenschauer mit einer Spannung von 6 kV auf den Leuchtschirm beschleunigt. Der Leuchtschirm besteht aus einem Glassubstrat oder Fasertaper<sup>5</sup>, auf dem ein Schichtsystem aus einem durchsichtigen, elektrisch leitenden Polymer, einer 4-5  $\mu\text{m}$  dicken phosphoreszierenden Schicht und einer reflektierenden Aluminisierung aufgebracht ist. Der beschleunigte Sekundärelektronenschauer erzeugt in der Leuchtschicht einen Leuchtfleck mit einem Durchmesser von typisch 25-30  $\mu\text{m}$ . Das Emissionsspektrum wird meist als wellenlängenabhängiger Energie-Konversionsfaktor  $EC(\lambda)$  angegeben (Abbildung 2.10). Er beschreibt das Verhältnis der vom Leuchtschirm absorbierten Energie  $P_e$  (in Form der kinetischen Energie der Sekundärelektronen) zu der Energie der abgestrahlten Photonen pro Wellenlänge. Die abgestrahlte Energie  $P_{ph}$  bzw. die Anzahl der Photonen  $n_{ph}$  für eine bestimmte Wellenlänge des Spektrums berechnet sich damit nach

$$P_{ph}(\lambda) = P_e \cdot EC(\lambda) \text{ bzw.} \quad (2.9)$$

$$n_{ph}(\lambda) = \frac{\lambda}{h \cdot c} \cdot P_e \cdot EC(\lambda) \quad (2.10)$$

mit  $P_e = N_e \cdot U_e \cdot e$ , wobei  $U_e$  die Beschleunigungsspannung zwischen MCP-Ausgang und dem Leuchtschirm angibt.

Die Effizienz  $E$  des Leuchtschirms - die Zahl der emittierten Photonen pro Elektron  $N_{ph} / N_e$  - erhält man, wenn man über das Emissionsspektrum  $S$  integriert:

$$E = \frac{N_{ph}}{N_e} = \frac{1}{N_e} \int_S n_{ph}(\lambda) d\lambda = \frac{\lambda}{h \cdot c} \cdot U_e \cdot e \cdot \int_S EC(\lambda) \quad (2.11)$$

<sup>5</sup> Ein Fasertaper ist ein massiver Block der aus vielen Tausend parallelen Glasfasern besteht und den direkten Anschluß des Bildverstärkers an eine Faseroptik bzw. einen CCD-Chip ermöglicht

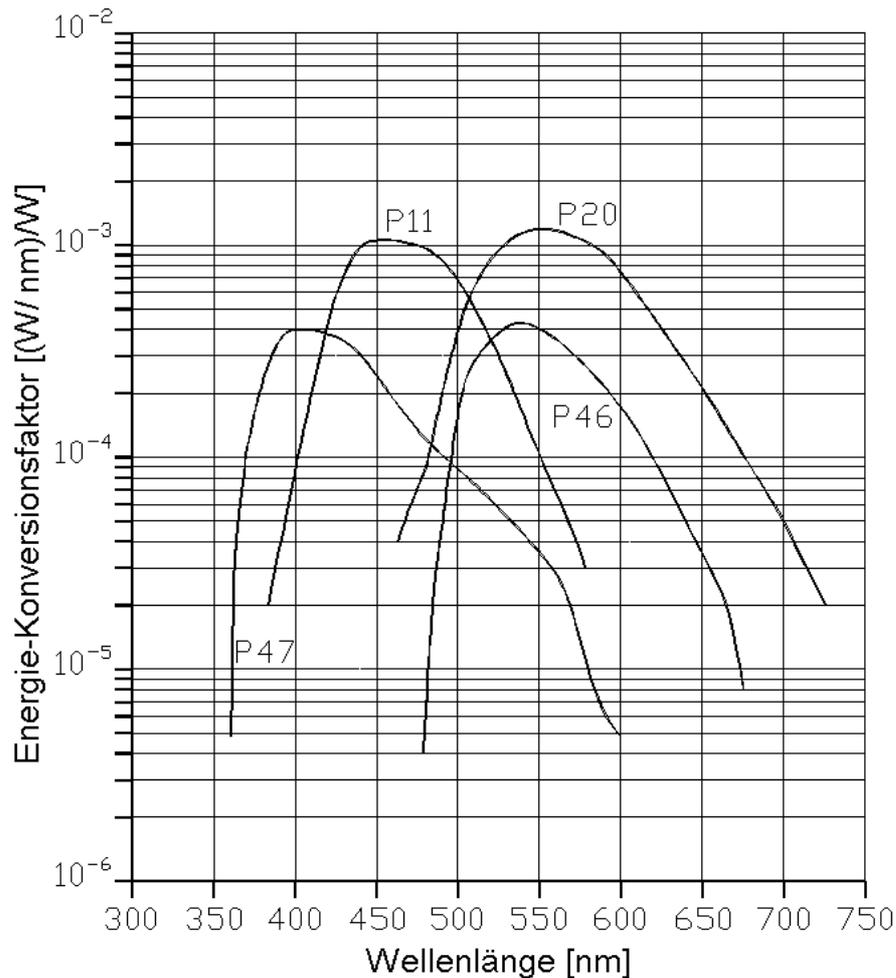


Abbildung 2.10: Emissionsspektrum verschiedener Leuchtschirme für Bildverstärker. Angegeben ist die Effizienz der Umwandlung der kinetischen Energie der Elektronen in Energie der abgestrahlten Photonen pro Wellenlänge [PRO98].

Leuchtschirm Zusammensetzung	Emissions- Spektrum [nm]	Max. der Emission [nm]	Zerfallszeit [90 % zu 10%]	Effizienz [ph/e]
P43 Gd <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S:Tb	370-680	545	1 ms	185
P46 Y <sub>3</sub> Al <sub>5</sub> O <sub>12</sub> :Ce	470-670	513-530	100 ns	90
P47 Y <sub>2</sub> SiO <sub>5</sub> :Ce	360-600	400	55 ns	212
P20 (ZnCd)S:Ag	470-725	550	4 ms	240
P11 ZnS:Ag	380-570	450	3 ms	200

Tabelle 2.3: Zusammenstellung der für MCP-Bildverstärker gebräuchlichen Leuchtschirmbeschichtungen. Die Effizienz ist die Anzahl der ausgelösten Photonen pro Elektron bei einer kinetischen Energie von 6 KeV (Angaben aus [PRO98])

Dabei werden abhängig von dem verwendeten Material zwischen 90 und 240 Photonen pro Elektron einer kinetischen Energie von 6 keV erzeugt [PRO98]. Die zeitliche Entwicklung dieses Photonenschauers folgt in erster Näherung einer Überlagerung von zwei oder mehreren fallenden Exponentialfunktionen. Daher wird zur Charakterisierung des Leuchtstoffs die Zeit angegeben, innerhalb derer die Intensität des Leuchtflecks von 90 % auf 10 % des Anfangswerts abgeklungen ist. Der Einfluß der zeitlichen Verschmierung des Elektronenschauers ist bei einer typischen Durchlaufzeit durch die MCP von 1 ns zu vernachlässigen. Die Zeitkonstanten der gebräuchlichsten Leuchtstoffe liegen zwischen einigen 10 ns und einigen Millisekunden (Tabelle 2.3). Neben der Quanteneffizienz des Phosphors sind diese Zeitkonstante und das Emissionsspektrum der Phosphoreszenz wichtige Parameter, die den Leuchtschirm charakterisieren und die an die Anwendung, bzw. an den zum Einsatz kommenden Detektor angepaßt werden müssen.

Für einen MCP-Bildverstärker errechnet sich die Einzelphotonverstärkung  $N_{ph/ph}$  – die Anzahl der Photonen am Ausgang des Leuchtschirms pro ausgelöstem Photoelektron – aus dem Produkt der Verstärkung der MCP und der Effizienz des Leuchtschirms. Die Effizienz, mit der Einzelphotonen nachgewiesen werden, hängt von der verwendeten Photokathode ab und geht nicht in die oben definierte Einzelphotonverstärkung ein. Als Beispiel für einen typischen MCP-Bildverstärker ergeben sich folgende Zahlen:

Quanteneffizienz der Photokathode (S25, $\lambda = 460$ nm)	$QE = 15 \%$
Verstärkung der MCP (Doppelstufe, 1500V):	$G = 10^5$
Effizienz des Leuchtschirms (P46, 6 kV):	$E = 90 \text{ ph/el}$
Einzelphotonverstärkung:	$N_{ph/ph} = G \cdot E = 9 \cdot 10^6$
Spektrale Verstärkung ( $\lambda = 460$ nm )	$V = N_{ph/ph} \cdot QE = 1,4 \cdot 10^6$
W/W	

Die Zahlen für die Verstärkung sind Exemplarschwankungen bis zu einem Faktor 3 unterworfen. Eine zu geringe Verstärkung kann durch Erhöhen der MCP-Spannung bis auf maximal 2000 V kompensiert werden [PRO98]. Aufgrund der hohen Einzelphotonverstärkung ist es demnach möglich, mit einer Kombination aus einem MCP-Bildverstärker und einem strukturiertem Halbleiterdetektor, wie z.B. einem CCD-Chip oder – wie hier im folgenden Absatz näher beschrieben – einer strukturierten Halbleiterdiode (Nachweisgrenze etwa  $10^4$  Photonen, siehe Kapitel 2.2.1.4), Einzelphotonen unter Beibehaltung der Ortsinformation nachzuweisen.

## 2.4 Silizium-Streifendetektor

Silizium-Streifendetektoren werden seit Anfang der 80er Jahre in vielen Experimenten der Teilchenphysik benutzt, um die Trajektorien von geladenen Teilchen mit hoher Ortsauflösung zu rekonstruieren. Diese sogenannten Vertexdetektoren besitzen einen Streifenabstand von 25 bis 100  $\mu\text{m}$  und eine Anzahl von mehreren Tausend Kanälen [LUZ95a] [WEI94]. Seit Anfang der 90er Jahre kommen Silizium-Streifendetektoren auch außerhalb

der Teilchenphysik zum Einsatz und werden z.B. für die Autoradiographie in der Biologie und Medizin verwendet [OVE98]. Innerhalb dieses Projekts wird nun erstmalig ein doppelseitiger Silizium-Streifendetektor für den Nachweis von optischen Photonen eingesetzt. Die dafür notwendigen Veränderungen am Aufbau des Detektors und die Optimierung der Nachweiseffizienz für optische Photonen wird in Abschnitt 3.4.1 beschrieben. Nachdem im Abschnitt Kapitel 2.2.1 p-n-Übergang und Aufbau einer Photodiode erläutert wurden, beschreibt dieses Kapitel den Aufbau von Silizium-Streifendetektoren und die Funktion der integrierten Verstärkerelektronik für die Verarbeitung der Detektorsignale.

### 2.4.1 Signalentstehung

Ladung wird im Detektor entweder durch geladene Teilchen oder durch die Absorption von Photonen (Röntgenquanten oder optische Photonen) erzeugt. Im ersten Fall wird kinetische Energie der geladenen Teilchen in Form von Stoßionisation an den Halbleiter abgegeben. Im Mittel werden für die Erzeugung eines Elektron-Loch-Paars im Silizium 3,6 eV benötigt. Die Energiedifferenz zwischen der Bandlücke von 1,1 eV und diesem Wert wird durch Anregung von Gitterschwingungen (Phonen) an das Kristall abgegeben. Quantitativ wird der mittlere Energieverlust pro Wegstrecke durch die Bethe-Bloch-Formel beschrieben [LEO94]. Die Absorption von Photonen erfolgt über Photoeffekt, Comptoneffekt oder bei höheren Energien auch durch Paarbildung. Eine übersichtliche Darstellung der verschiedenen Prozesse findet man bei [LEO94] und [OVE98].

Ein typisches Signal ist das eines hochenergetischen geladenen Teilchens, dessen Energieverlust in Materie  $dE/dx$  unabhängig von seiner kinetischen Energie ist. Man nennt diese Teilchen deshalb auch minimal ionisierende Teilchen (MIP, z.B. Pionen mit  $E_\pi > 500$  MeV). In 300  $\mu\text{m}$  Silizium werden von einem MIP 84 keV Energie deponiert und damit 23.000 Elektronen-Loch-Paare erzeugt (wahrscheinlichster Wert). Das entspricht einer Ladung von 3,6 fC. Die im Detektor erzeugten Elektronen-Loch-Paare werden in der Depletionszone voneinander getrennt und influenzieren durch ihre Driftbewegung auf den Detektorstreifen ein Ladungssignal.

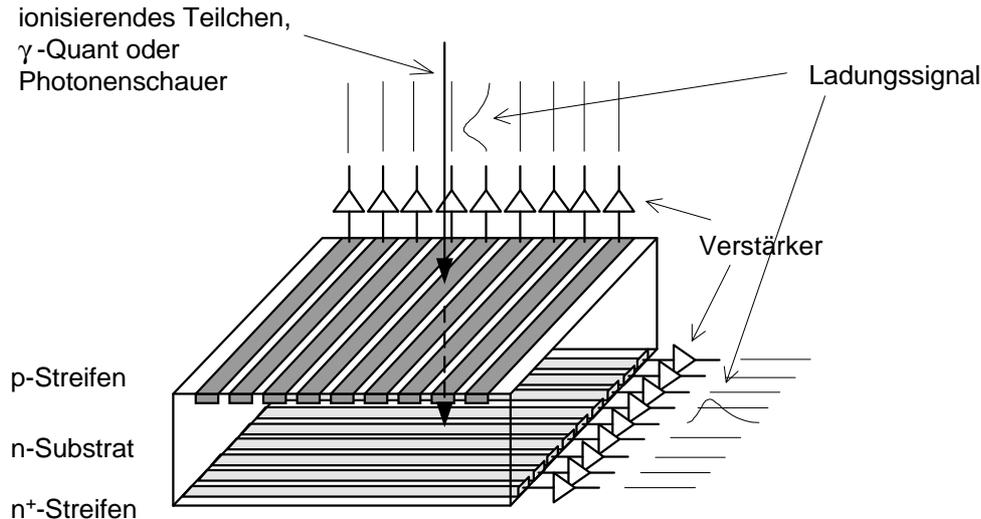


Abbildung 2.11: Vereinfachte Darstellung der Struktur eines doppelseitigen Silizium-Streifendetektors. Bei Durchtritt eines ionisierenden Teilchens wird das im Detektor erzeugte Ladungsprofil auf die n- und p-Streifen projiziert.

#### 2.4.2 Aufbau und Strukturierung des Detektors

Um von einer Detektordiode eine Information über den Ort der Ladungsgenerierung zu erhalten, kann die für die Diode notwendige Implantation strukturiert werden. Bei einem Silizium-Streifendetektor wird die p-Implantation auf der Diodenseite des Detektors in Form von Streifen ausgeführt. Dadurch erhält man innerhalb eines gemeinsamen n-Substrats voneinander unabhängige – da untereinander durch die Diodenübergänge isolierte – Elektroden. Um eine zweidimensionale Ortsinformation zu erhalten, wird die Implantation der ohmschen Seite des Detektors ( $n^+$ -Implantation) mit zu der p-Seite senkrecht verlaufenden Streifen versehen<sup>6</sup>. Die Streifen auf der n-Seite des Detektors sind nicht durch Diodenübergänge voneinander getrennt sondern über das hochohmige Substrat miteinander verbunden. Zusätzlich hat man durch die Ansammlung von Elektronen an der Grenzfläche zwischen Substrat und  $\text{SiO}_2$ -Isolierung der Detektoroberfläche eine elektrisch leitende Verbindung zwischen den einzelnen Streifen, die z.B. durch eine weitere p-Implantation zwischen den Streifen oder andere Techniken unterbrochen werden muß [KEM88]. Um auch die Verbindung der n-Streifen durch das Substrat zu unterbinden, muß die Depletionszone bis zur n-Seite des Detektors reichen – der Detektor also völlig depletiert sein. Die Depletionsspannung wird dem Detektor über für jeden Streifen individuell vorhandene Biaswiderstände zugeführt, die durch zusätzliche Prozeßschritte auf dem Detektor implantiert werden. Diese Biaswiderstände mit einer Größe zwischen  $50 \text{ M}\Omega$  und  $200 \text{ M}\Omega$  sind entweder als Struktur aus polykristallinen Silizium hergestellt oder durch eine spezielle Im-

<sup>6</sup> Neben doppelseitigen Silizium-Streifendetektoren, gibt es auch Silizium-Detektoren, deren p-Seite ein zweidimensionale Anordnung von einzelnen p-Implantationen hat. Diese sogenannten Pixeldetektoren erfordern aufgrund ihrer Topologie spezielle Verbindungstechnik und Detektorelektronik, die sich von der Tech-

plantation, der sogenannten FOX-FET Struktur realisiert [LUZ95b] [REG97]. Alle Biaswiderstände werden gemeinsam über den sogenannten Biasring, der von außen elektrisch kontaktiert wird, an die Depletionsspannung angeschlossen. Eine weitere ringförmige Elektrode, der Guardring, umgibt zusätzlich den gesamten aktiven Bereich des Detektors. Dieser Guardring hat die Aufgabe Leckströme, die durch Oberflächeneffekte oder Störstellen an den Schneidekanten des Detektors entstehen, abzuleiten.

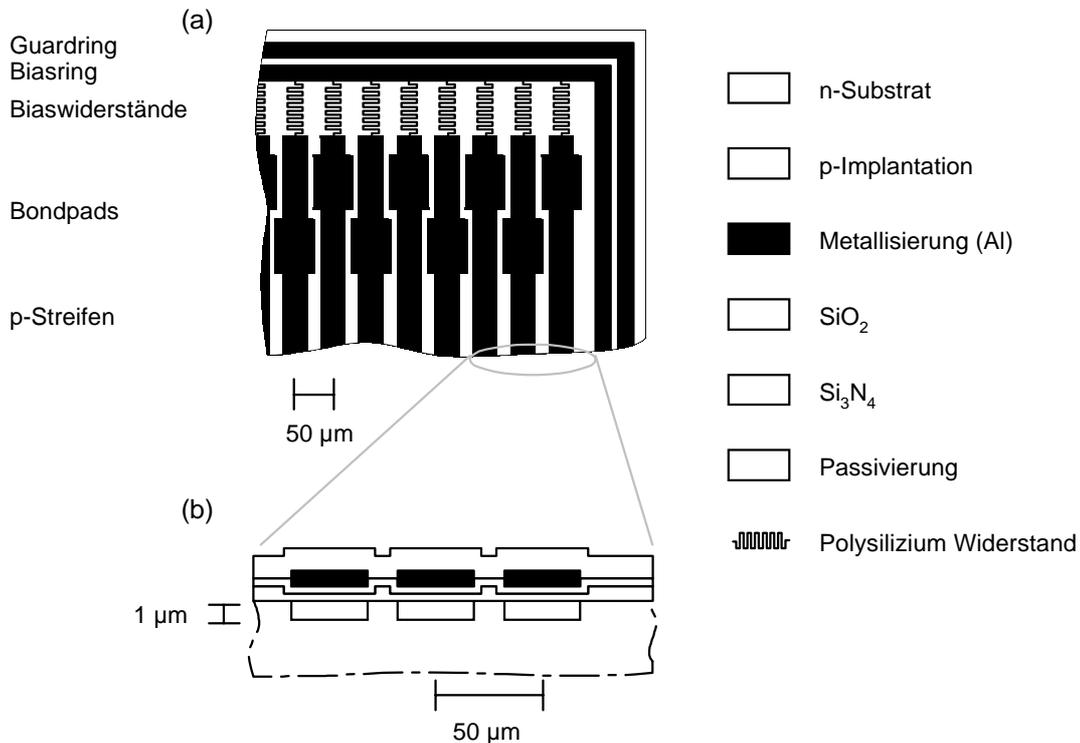


Abbildung 2.12: Schematischer Aufbau eines Silizium-Streifendetektors mit kapazitiv gekoppelten Streifen und mit Biaswiderständen. Ausschnitt aus einer Ecke des Detektors (a) und Vergrößerung eines Querschnitts durch die strukturierte Detektoroberfläche (b). Hier ist nur die p-Seite des Detektors gezeigt. Die n-Seite ist identisch strukturiert, nur daß p-Implantation zu  $n^+$ -Implantation wird und zusätzliche p-Zwischenstreifen zur Isolation der n-Streifen aufgebracht werden.

Um die Detektorsignale auszulesen, wird jeder Streifen am Rand des Detektors an einen eigenen ladungsempfindlichen Verstärker angeschlossen. Wenn ein ionisierendes Teilchen, ein  $\gamma$ -Quant oder ein Photonenschauer auf den Detektor trifft, werden die im Detektor erzeugten Elektron-Loch-Paare durch das elektrische Feld voneinander getrennt. Die Elektronen driften zur auf positivem Potential liegenden n-Seite und die Löcher zur auf negativem Potential liegenden p-Seite. Während dieser Ladungsbewegung wird auf den jeweiligen zum Ereignisort am nächsten gelegenen Streifen ein Signalstrom induziert. Man erhält somit eine Projektion der Ladungsverteilung im Detektor in zwei Dimensionen (Abbildung 2.11). Die Topologie des Detektors und der damit verbundene Signalauslese führt zu Mehrdeutigkeiten bei der Signalrekonstruktion, wenn mehr als ein Streifen pro

nologie her noch in der Entwicklung befinden [FIS96]. Deshalb konnten Pixeldetektoren im Rahmen der Projektentwicklung nicht zum Einsatz kommen und hier nicht weiter betrachtet.

Seite gleichzeitig angesprochen wurde. Beim Auftreffen mehrerer ionisierenden Teilchen, die zeitlich nicht voneinander getrennt werden können, entstehen neben den eigentlichen Durchtrittspunkten noch jeweils weitere Punkte durch das wechselseitige Vertauschen der  $x$ - bzw.  $y$ -Koordinaten. Diese Ambiguitäten lassen sich dadurch vermeiden, indem man das Verhältnis von Signalrate zu Ausleserate des Detektors (Belegungsdichte) möglichst klein wählt.

### 2.4.3 Ortsauflösung

Die Ortsauflösung eines Streifendetektors wird in erster Linie durch den Abstand seiner Streifen und die Art der Signalverarbeitung bestimmt. Dabei unterscheidet man grundsätzlich zwei Arten (siehe auch Abschnitt 2.4.1)

#### Binäre Auslese

Hier wird zur Ortsrekonstruktion nur die Koordinate des jeweils getroffenen Streifens herangezogen. Um die Koordinate eines getroffenen Streifens zu erhalten, werden die verstärkten Ladungssignale des Detektors von Diskriminatoren mit einem Schwellwert verglichen. Wenn ein Signal über der Schwelle liegt, wird die Nummer des getroffenen Streifens ausgegeben und der Ort der Streifenmittellinie als gemessene Koordinate weiterverarbeitet. Die Abweichung des eigentlichen Durchtrittsortes von der Streifenmittellinie bezeichnet man als Rekonstruktionfehler.

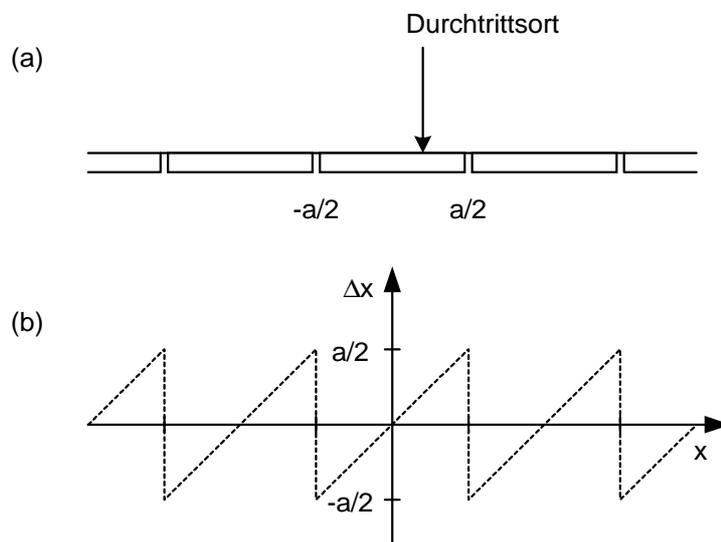


Abbildung 2.13: Rekonstruktionfehler bei binärer Auslese eines segmentierten Detektors.  
 a): Durchtritt eines Teilchens in Abstand  $x$  von der Mittellinie eines Streifens der Breite  $a$ ,  
 b): Rekonstruktionfehler  $\Delta x$  in Abhängigkeit von der Koordinate  $x$

Für ein Teilchen, das durch die Mittellinie des Streifens (bei der Koordinate  $x = 0$ ) geht, ist der Fehler gleich null, während er zu den Rändern des Streifens ( $x = \pm a/2$ ) linear bis zu

einem Absolutwert von  $a/2$  ansteigt. Für die Standardabweichung des Rekonstruktionfehlers gilt demnach:

$$\sigma_b = \sqrt{\frac{1}{a} \int_{-\frac{a}{2}}^{\frac{a}{2}} x^2 dx} = \frac{a}{\sqrt{12}} \quad (2.12)$$

Für einen idealen (rauschfreien) Streifendetektor mit einem Streifenabstand von  $50 \mu\text{m}$  liegt die erreichbare Ortsauflösung damit bei  $14 \mu\text{m}$ . Dadurch, daß die im Detektor generierte Ladungswolke während der Bewegung zu den Streifen hin auseinanderläuft (Diffusion) und das Ladungssignal eines Streifens zusätzlich kapazitiv auf die benachbarten Streifen überspricht, teilt sich die Ladung meist auf zwei bis drei nebeneinander liegende Streifen auf. Wenn die Komparatorschwelle niedrig genug ist, wird dann mehr als ein Streifen als getroffen angezeigt. Für den Fall, daß ein Teilchen genau im Bereich zwischen zwei Streifen auftritt und die Signalladung sich auf zwei Kanäle aufteilt ist der Durchtrittsort dieses Teilchens damit genauer bestimmt als in Gleichung (2.12) angegeben.

### Analoge Auslese

Bei der analogen Signalauslese werden die Impulshöhen aller Kanäle ausgewertet. Man kann dadurch den Schwerpunkt der ursprünglichen Ladungsverteilung und damit den Ort des Teilchendurchtritts sehr genau bestimmen. Experimente haben gezeigt, daß mit einem Signal zu Rausch Verhältnis der Verstärkerelektronik  $SNR$ , einem Streifenabstand  $a$  und einer vom Aufbau abhängigen Konstante  $\beta$  (typisch etwa 4 - 10) die Ortsauflösung beschrieben wird durch:

$$\sigma_a = \frac{a}{SNR} \beta \quad (2.13)$$

Mit einem Streifenabstand von  $50 \mu\text{m}$  können Ortsauflösungen um  $7 \mu\text{m}$  erreicht werden [WEI94]. Mit der Verkleinerung des Abstands auf  $25 \mu\text{m}$  und der Verwendung noch rauscharmerer Verstärkerelektronik kann die Ortsauflösung auf  $1-2 \mu\text{m}$  verbessert werden [STR94].

### 2.4.4 Ankopplung der Detektorelektronik

Realisiert wird ein Silizium-Streifendetektor auf einem typisch  $300 \mu\text{m}$  dicken hochohmigen Siliziumsubstrat mit Streifenabständen von  $25 \mu\text{m}$  bis  $100 \mu\text{m}$ . Die Größe des Detektors bzw. die Anzahl und Länge der Streifen ist nur durch die Größe des Siliziumwafers<sup>7</sup> begrenzt, auf dem der Streifendetektor hergestellt wird. Die erforderliche Detektorelektronik mit den individuellen ladungsempfindlichen Verstärkern für jeden

<sup>7</sup> Ein Wafer ist eine aus einem zylindrischen Siliziumeinkristall geschnittene Scheibe (Durchmesser 4, 6 oder 8 Zoll) und dient als Basismaterial für die Herstellung von Halbleiterdetektoren und integrierten Schaltkreisen.

Detektorstreifen werden als hoch integrierte Schaltkreise ('very large scale integration, VLSI) hergestellt, um die Größenausdehnung und Anzahl der einzelnen Verstärkerkanäle an die Dimension der Detektorstreifen anpassen zu können.

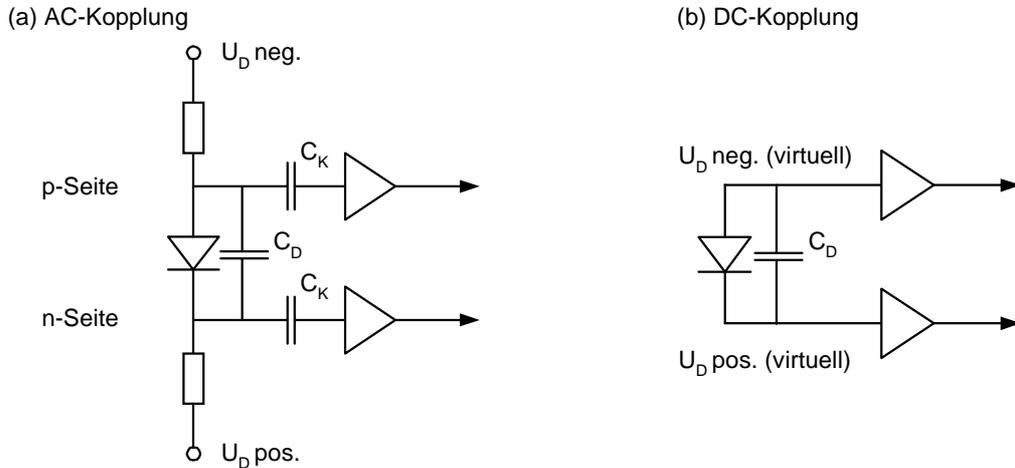


Abbildung 2.14: Kopplung der Verstärkerelektronik an den Detektor. Die hier dargestellte Diode ergibt sich als Ersatzschaltbild für den Detektor, wenn man jeweils einen p- und einen n-Streifen betrachtet. Die Depletionsspannung entspricht der Potentialdifferenz zwischen  $U_{D\ pos}$  und  $U_{D\ neg}$ .

Für die Ankopplung der Detektorelektronik an den Detektorstreifen gibt es zwei unterschiedliche Möglichkeiten: die AC-Kopplung und die DC-Kopplung. Bei der AC-Kopplung ist jeder Verstärker über eine Kapazität  $C_K$  mit dem Detektorstreifen verbunden (siehe Abbildung 2.14. a)). Mit der intrinsischen Kapazität des Detektorstreifens  $C_D$  (die Kapazität eines Streifens zu seinen Nachbarstreifen und der Rückseite, typisch 1 pF - 2 pF pro Zentimeter Streifenlänge) bildet diese Koppelkapazität einen kapazitiven Ladungsteiler. Um den Signalverlust durch diese Ladungsteilung klein zu halten, muß die Koppelkapazität  $C_K$  deutlich größer sein als die Streifenkapazität  $C_D$ . Bei einem typischen AC-gekoppelten Detektor erreicht man etwa Werte für  $C_K$  von 10 - 20 mal  $C_D$ . Die Koppelkapazität zwischen Detektorstreifen und Verstärker wird durch die Isolierung von Implantation und Ausleselektrode mittels einer 100 bis 200 nm dicken Schicht aus Siliziumdioxid  $\text{SiO}_2$  hergestellt<sup>8</sup>. Mit dieser Schicht als Dielektrikum erhält man zwischen dem implantierten Streifen und der Metallisierung der Ausleselektrode einen Kondensator mit einer typischen Größe von 10 - 20 pF/cm (Abbildung 2.12). Die DC-Kopplung verzichtet auf Koppelkapazitäten und individuelle Biaswiderstände und ermöglicht dadurch ein sehr einfaches Design des Detektors. In diesem Fall wird die Depletionsspannung am Detektor durch die Potentialverschiebung zwischen der Detektorelektronik für n- und p-Seite erzeugt. Die Eingänge der Verstärker liegen dadurch auf virtuellem Potential und werden direkt mit den Detektorstreifen verbunden (siehe Abbildung 2.14. b)). Der Nachteil der DC-Kopplung besteht darin, daß nun der in Sperrichtung fließende Leckstrom des Detektors in

die ladungsempfindlichen Verstärker fließt. Der Detektorleckstrom ist zwar unter normalen Umständen sehr gering (typisch  $10^{-9}$  A/mm<sup>2</sup>), kann aber unter Umständen die empfindlichen Verstärker beeinflussen.

## 2.5 Detektorelektronik

Die meisten der benutzten VLSI-Chips für die Auslese von Streifendetektoren basieren auf einer ähnlichen Architektur. Die wesentlichen Funktionsblöcke sind ein ladungsempfindlicher Verstärker, ein impulsformender Verstärker (Signalfilter) und weitere Stufen zur Signalverarbeitung, die spezifisch für die Anwendung implementiert werden [NYG91]. Abbildung 2.15 zeigt die typischen Funktionsblöcke eines Verstärkerkanals. Der ladungsempfindliche Verstärker stellt die erste Stufe der Signalkette dar. Er besteht aus einem rauscharmen invertierenden Spannungsverstärker, der mit einer Kapazität  $C_F$  rückgekoppelt wird. Ein Ladungssignal  $Q$  erzeugt am Ausgang des ladungsempfindlichen Verstärkers eine Spannungstufe mit der Amplitude

$$U_Q = \frac{Q}{C_F} \quad (2.14)$$

Diese Formel gilt nur in erster Näherung ( $A \gg 1$ ) und berücksichtigt nicht die endliche Leerlaufverstärkung  $A$  des Spannungsverstärkers und die Ladungssammlungszeit des Detektors. Ein hochohmiger, parallel zu  $C_F$  geschalteter Widerstand  $R_F$  entlädt die Rückkopplungskapazität und sorgt dafür, daß der Ausgang des ladungsempfindlichen Verstärkers langsam wieder zum Nullpunkt zurückkehrt. Aus dem Stufensignal wird von einem darauffolgenden impulsformenden Verstärker eine geeignete (schmalere) Signalform gemacht, so daß zwei aufeinander folgende Signale zeitlich voneinander getrennt werden können. Dieser impulsformende Verstärker ist ein Filter, der im einfachsten Fall aus einem Differenzierer und einem Integrator besteht. Diese lassen sich durch einfache R-C Glieder darstellen, weshalb man bei der einfachsten Form eines impulsformenden Verstärkers auch von einem CR-RC Filter spricht. Neben den Einfluß des Filters auf die Signalform (Zeitbereich) ist der Einfluß auf die Bandbreite des Signals (Frequenzbereich) entscheidend für das Rauschen des Verstärkers (siehe nächstes Kapitel). Für ein Ladungssignal zum Zeitpunkt  $t = 0$  folgt die Signalform hinter dem CR-RC Filter der Funktion

$$U(t) = U_Q \frac{t}{\tau} \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) \quad (2.15)$$

mit der Amplitude des Spannungssprung  $U_Q$  (Gleichung (2.14)) und der Zeitkonstante  $\tau$  des CR-RC Filters [KRÜ95]. Die Zeitkonstante wird auch 'peaking time' genannte, da das Ausgangssignal zum Zeitpunkt  $t = \tau$  sein Maximum erreicht.

---

<sup>8</sup> meist in Verbindung mit einer zusätzlichen Schicht aus Siliziumnitrid  $\text{Si}_3\text{N}_4$  um die Güte der Isolation zu verbessern

Die weitere Signalverarbeitung hängt von den Anforderungen der Anwendung ab. Grundsätzlich kann man zwischen analoger und binärer Signalverarbeitung unterscheiden. Für den Fall der binären Auslese wird die Signalspannung in einem Komparator mit einer konstanten Spannung – der Schwellenspannung – verglichen. Übersteigt das Ausgangssignal des Verstärkers die Schwellenspannung, wird ein digitales Signal erzeugt. Man erhält damit die Information, ob auf einem Streifen getroffen worden ist oder nicht – eine rein binäre Information<sup>9</sup>. Für Anwendungen, die die Information über die absolute Wert der Signalladung verarbeiten, wird der Komparator durch einen analogen Speicher, dem sogenannten ‘sample & hold’ Block, ersetzt. Der Schalter vor der Speicherkapazität ist im normalen Zustand geschlossen. Durch ein Triggersignal von außen wird der Schalter geöffnet und der momentane Spannungswert des Kanals auf der Kapazität gespeichert. Dies geschieht für alle Kanäle gleichzeitig, so daß man daraufhin alle Signalwerte nacheinander mit einem Analog-Digital-Wandler digitalisieren kann. Um die Signalspannung im Maximum zu speichern, muß der Zeitpunkt der Signalentstehung im Detektor bekannt sein. Das ist bei den meisten Experimenten der Teilchenphysik der Fall. Für Anwendungen, bei denen man kein externes Triggersignal zur Verfügung hat, wie z.B. beim Nachweis von Strahlung aus radioaktiven Zerfällen (Autoradiographie), gibt es Auslese-Chips, die weitere Schaltungsteile enthalten, um sich eigenständig, d.h. sich selbst zu triggern [OVE98].

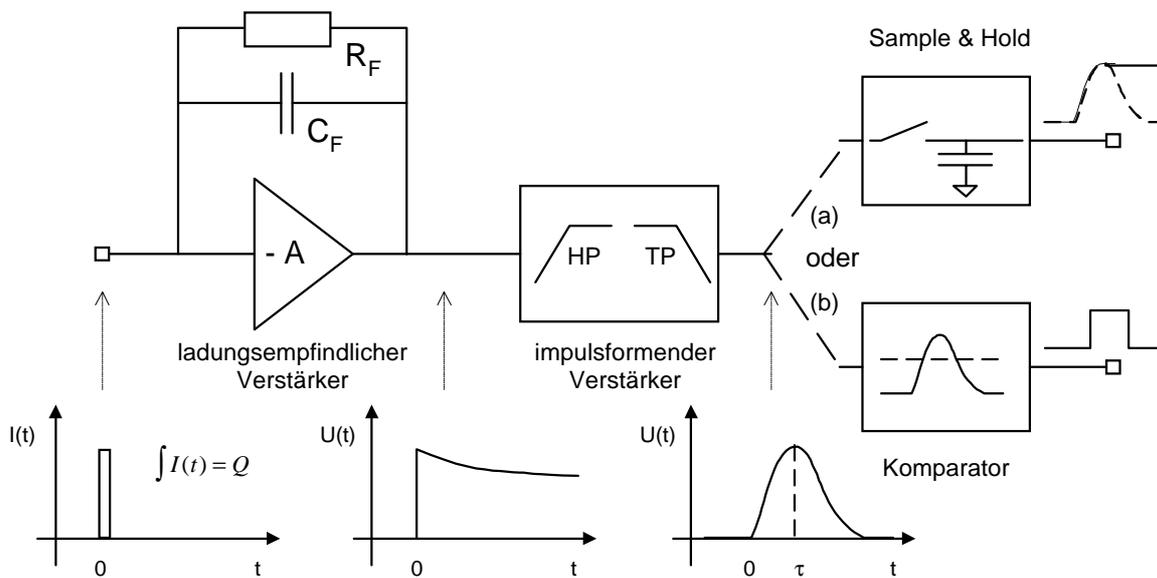


Abbildung 2.15: Blockschaftbild eines Verstärkerkanals. a) analoge Auslese: die Signalamplitude wird auf der ‘sample & hold’ Kapazität gespeichert und ausgelesen, b) binäre Auslese: wenn die Signalamplitude einen konstantem Wert (Schwellenspannung) überschreitet wird ein digitales Signal ausgegeben.

### 2.5.1 Rauschen

Ein wichtiges Kriterium für die Güte eines Detektorsystems ist das Rauschen seiner

<sup>9</sup> Wenn man die Zeit berücksichtigt, die das Ausgangssignal oberhalb der Schwelle ist, erhält man auch mit dem Komparator eine indirekte Information über die Pulshöhe (‘time over threshold’, TOT).

Ausleseelektronik. Dieses Rauschen begrenzt die Sensitivität für kleine Signale und die Energie- und Ortsauflösung des Detektors. Bei einer typischen Signalgröße von einigen fC bzw. einigen Tausend Elektronen und weniger (siehe oben) wird deutlich, welche hohen Anforderungen diesbezüglich an die Verstärkerelektronik gestellt werden. Im Folgenden wird nicht detailliert auf die verschiedenen Rauschquellen und deren physikalischen Ursachen eingegangen, sondern es erfolgt vielmehr eine Darstellung der wichtigsten Zusammenhänge. Für eine umfassendere Analyse der Rauschquellen und die daraus folgende Optimierung der Detektorelektronik siehe [SAN91], [NYG91] und [KRÜ95].

Die wichtigsten physikalischen Rauschquellen lassen sich in drei unterschiedliche Arten einteilen:

- *Thermisches Rauschen* entsteht in jedem Widerstand durch die Brownsche Bewegung von Ladungsträgern. Das Frequenzspektrum dieses Rauschens ist konstant, so daß man auch von 'weißem Rauschen' spricht.
- *Schrot-Rauschen* wird durch die statistische Fluktuation von Ladungsträgern bedingt und tritt z.B. dann auf, wenn Strom durch eine Potentialbarriere fließt – wie z.B. der Speerrstrom einer Diode. Das Spektrum dieses Rauschens ist ebenfalls frequenzunabhängig.
- *1/f-Rauschen* entsteht durch verschiedene, kompliziertere physikalische Prozesse an Grenzflächen in Halbleitern. Charakteristisch ist die 1/f-Abhängigkeit seines Frequenzspektrums.

Um die verschiedenen Rauschquellen eines Verstärkers zu analysieren, werden sie, unabhängig von ihrem Ursprung, als voneinander unabhängige Rauschquellen am Eingang eines idealen rauschfreien Verstärkers dargestellt (siehe Abbildung 2.16). Am Ausgang des Verstärkers addieren sich die Beiträge der verschiedenen Rauschquellen zu einer effektiven Rauschspannung. In einer optimal entworfenen Schaltung wird das Rauschen eines ladungsempfindlichen Verstärkers hauptsächlich von seiner ersten verstärkenden Stufe, dem Eingangstransistor, bestimmt. In ihm treten als dominante Beiträge das Rauschen des Kanalwiderstands (thermische Rauschen) und 1/f-Rauschen in Serie zum Eingang des Verstärkers auf. Diese Rauschquellen werden als serielle Rauschquelle  $v_{eq}^2$  am Eingang eines idealen rauschfreien Verstärkers repräsentiert. Alle weiteren elektronischen Baugruppen des Verstärkers können im Vergleich dazu als rauschfrei angenommen werden. Zu den weiteren relevanten Rauschquellen eines Systems aus Detektor und Verstärkerelektronik gehört noch das Leckstromrauschen des Detektorleckstroms  $i_D^2$  (Schrot-Rauschen) und das Rauschen des Bias- und Rückkoppelwiderstands  $i_{eq}^2$  (thermisches Rauschen). Dieses Rauschen tritt parallel zum Signal auf und wird daher auch als paralleles Rauschen bezeichnet.

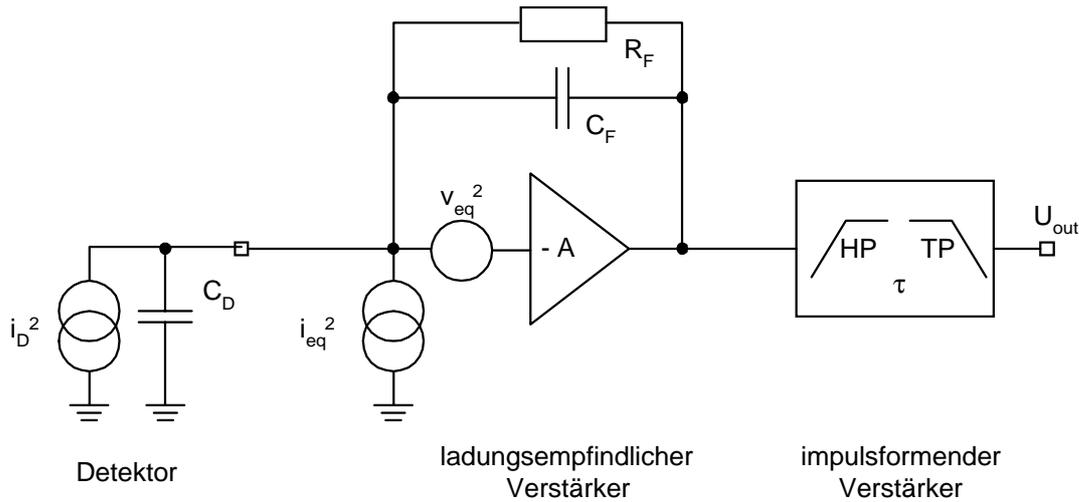


Abbildung 2.16: Dominante Rauschquellen in einem System aus Detektor und Verstärkerelektronik

Zur quantitativen Beschreibung des Rauschens eines Detektorsystems, bei dem die nachzuweisenden Signale in Form von elektrischer Ladung auftreten, führt man den Begriff 'equivalent noise charge' (ENC) ein. Der ENC Wert gibt an, wie groß die Ladungsmenge am Eingang eines idealen rauschfreien Verstärkers sein müßte, um die reale Rauschspannung am Ausgang zu erzeugen. Man gibt den ENC Wert in Anzahl Elektronen an und definiert daher :

$$\text{ENC} = \frac{\text{effektive Rauschspannung am Ausgang [mV]}}{\text{Signalamplitude bei einer Elementarladung } e \text{ am Eingang [mV]}} \quad (2.16)$$

Die einzelnen ENC-Werte für ein System aus einem Detektor, einem ladungsempfindlichen Verstärker und einem CR-RC Filter zeigen folgende Abhängigkeiten:

- Thermisches Rauschen des Transistors  $\text{ENC}_T \propto \sqrt{\frac{kT}{\tau}} C_T$  (2.17)

- 1/f- Rauschen des Transistors  $\text{ENC}_F \propto C_T$  (2.18)

- Leckstrom Rauschen des Detektors  $\text{ENC}_L \propto \sqrt{I_L \tau}$  (2.19)

- Bias- und Rückkoppelwiderstand  $\text{ENC}_R \propto \sqrt{\frac{kT\tau}{R}}$  (2.20)

In die ENC-Werte gehen ein: die Zeitkonstante  $\tau$  des CR-RC Filters, die gesamte Kapazität am Eingang des Verstärkers  $C_T$  (Summe aus der Kapazität eines Detektorstreifens und Eingangskapazität des Verstärkers), der Detektorleckstrom  $I_L$ , der Widerstand  $R$  (Biaswiderstand parallel zum Rückkoppelwiderstand), die Temperatur  $T$  und die Boltzmannkonstante  $k$ . Man stellt fest, daß der Beitrag vom thermischen Rauschen des Transistors proportional

zu  $\sqrt{1/\tau}$  ist, das 1/f-Rauschen dagegen unabhängig von  $\tau$  ist, und Leckstrom- und Widerstandsrauschen proportional zu  $\sqrt{\tau}$  verlaufen. Das gesamte Rauschen berechnet sich aus der quadratischen Addition von Gleichung (2.17) bis Gleichung (2.20):

$$ENC = \sqrt{ENC_T^2 + ENC_L^2 + ENC_F^2 + ENC_R^2} \quad (2.21)$$

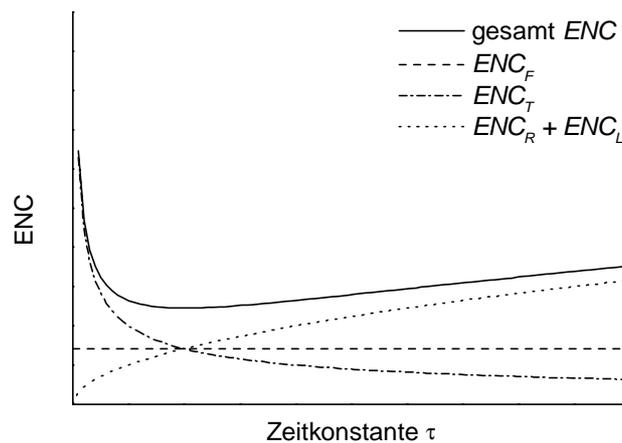
Aufgrund der unterschiedlichen Frequenzabhängigkeiten der Rauschquellen hat der impulsformende Verstärker wesentlichen Einfluß auf die effektive Rauschspannung der Detektorelektronik (siehe Abbildung 2.17.a)). Das erklärt sich dadurch, daß die Kombination von Integrator und Differenzierer eines CR-RC Filters bei Betrachtung im Frequenzbereich die Funktion eines Bandpaßfilters (Hintereinanderschaltung von Hoch- und Tiefpaß) hat. Mit geeigneter Wahl der Zeitkonstante  $\tau$  der CR-RC Glieder, und damit der Mittenfrequenz des Bandpasses, kann man die effektive Rauschspannung minimieren. Das wird verdeutlicht, wenn man Gleichung (2.21) in der Form

$$ENC(\tau) = \sqrt{a\tau + b\frac{1}{\tau} + c} \quad (2.22)$$

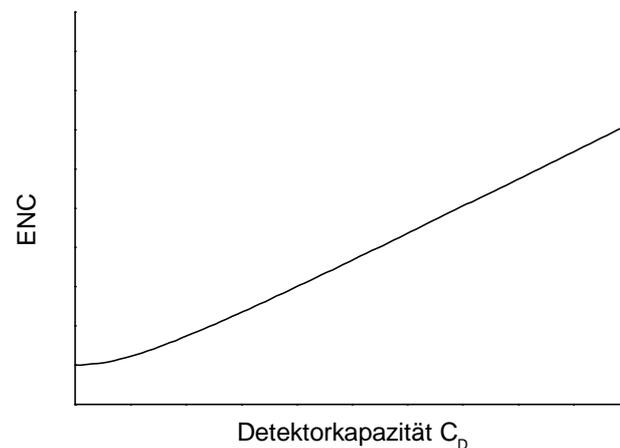
schreibt, wobei nun  $a$ ,  $b$  und  $c$  Funktionen der Detektorparameter (Leckstrom und Kapazität) und des Eingangstransistors (Biasstrom und Geometrie) sind. Ein weiteres charakteristisches Merkmal ist der Einfluß der Detektorkapazität  $C_D$  auf das Rauschen des ladungsempfindlichen Verstärkers (siehe Abbildung 2.17.b)). Diese Abhängigkeit ist in guter Näherung linear, wenn der Beitrag von Detektorleckstrom  $ENC_L$  und Bias- und Rückkoppelwiderstand  $ENC_R$  gegenüber dem Rauschen des Eingangstransistors  $ENC_T$  und  $ENC_F$  in den Hintergrund treten:

$$ENC(C_D) = \alpha + \beta \cdot C_D \quad (2.23)$$

Der Wert  $\alpha$  gibt das Rauschen der Detektorelektronik ohne angeschlossenen Detektor an und  $\beta$  die Steigung in Elektronen pro pF Detektorkapazität, mit der das Rauschen bei geschlossenem Detektor zunimmt. Im Allgemeinen wird die Zeitkonstante  $\tau$  eines als VLSI-Chip realisierten Verstärkers durch sein Design festgelegt und kann nur in gewissen Grenzen nachträglich verändert werden. Für die Beschreibung des Rauschverhaltens wird deshalb hauptsächlich der ENC-Wert aus Gleichung (2.23) angegeben.



(a)



(b)

Abbildung 2.17: Prinzipielle Abhängigkeit des Rauschens von der Zeitkonstante  $\tau$  und der Detektorkapazität  $C_D$

## 2.6 Zusammenfassung

Die wichtigste Methode der Einzelmoleküldetektion in der Molekularbiologie basiert auf dem Nachweis der Fluoreszenz von Molekülen in wässriger Lösung. Da die meisten zu untersuchenden Moleküle, wie z.B. RNS, DNS oder Enzyme, keine oder nur kaum Eigenfluoreszenz zeigen, werden sie mit Fluoreszenzfarbstoffen markiert. Diese Farbstoffe besitzen leicht zueinander verschobene Absorptions- und Emissionsspektren im sichtbaren Bereich und zeigen eine Fluoreszenzlebensdauer von einigen Nanosekunden. Die Fluoreszenzphotonen eines Moleküls können von dem gestreuten Photonen des Anregungslichts unterschieden werden, indem man entweder scharfbandige optische Filter benutzt oder bei gepulster Anregung die Streulichtphotonen zeitlich diskriminiert.

Um einzelne Moleküle in ihrer Bewegung beobachten zu können, muß der verwendete Detektor einzelne Fluoreszenzphotonen orts aufgelöst nachweisen können. Für den Nach-

weis von Photonen werden hauptsächlich Halbleiterdetektoren oder Photomultiplier benutzt. Photomultiplier haben im Allgemeinen keine oder nur sehr geringe Ortsauflösung. Eine Ausnahme bildet der Mikrokanalplatten-Bildverstärker, der auf dem Prinzip des Photomultipliers basiert, und mit hoher Ortsauflösung Einzelphotonen verstärken kann. Halbleiterdetektoren sind mit Ausnahme der Avalanche-Photodiode (APD) nicht einzelphotonempfindlich, besitzen aber im Gegensatz zu Photomultipliern eine gute Ortsauflösung. Diese Ortsauflösung erreicht man bei einem doppelseitigem Silizium-Streifendetektor dadurch, daß man die Signalelektroden der Ober- und Unterseite mit senkrecht zueinander verlaufenden Streifen versieht, womit man eine zweidimensionale Ortsinformation erhält. Zum schnellen orts aufgelösten Nachweis von Einzelphotonen bietet sich daher eine Kombination von Mikrokanalplatten-Bildverstärker und Silizium-Streifendetektor an.

Die Signale eines Silizium-Streifendetektors werden von einer in VLSI-Technologie hergestellten Verstärkerelektronik verarbeitet, bei der jeder Streifen des Detektors an einen eigenen Verstärker angeschlossen wird. Die Nachweisempfindlichkeit eines solchen Systems wird durch das Rauschen des Detektor und der Verstärkerelektronik begrenzt. Durch die Abstimmung der Verstärkerelektronik auf die Eigenschaften des Detektors kann das Signal-zu-Rausch-Verhältnis optimiert werden.

## 3 Experimenteller Aufbau

Dieses Kapitel beschreibt den Aufbau des Gesamtsystems für den zweidimensionalen Nachweis von Einzelmolekülen und die Funktion der wesentlichen Baugruppen. Das Konzept der zweidimensional orts aufgelösten Einzelmoleküldetektion basiert auf dem Prinzip der sogenannten nulldimensionalen Einzelmoleküldetektion wie er bei [RIE92] und [KEL96] beschrieben wird. Daher wird hier zunächst der Aufbau der nulldimensionalen Einzelmoleküldetektion beschrieben, bevor das Gesamtsystem zur zweidimensionalen Detektion vorgestellt wird. Der null- und der zweidimensionale Aufbau sind beide am IMB Jena realisiert worden, wo auch Simulationen zum Molekülnachweis durchgeführt wurden [KAL98]. Das Detektormodul mit dem doppelseitigen Silizium-Streifendetektor wurde am Physikalischen Institut Bonn im Rahmen dieser Arbeit entwickelt und aufgebaut.

### 3.1 Nulldimensionale Einzelmoleküldetektion

Den zentralen Teil des Systems zur nulldimensionalen Einzelmoleküldetektion, wie er in Abbildung 3.1 dargestellt ist, stellt der epi-illuminierte konfokale Mikroskopaufbau dar. Wie bei einem Auflichtmikroskop wird hier das Anregungslicht des Lasers durch das Mikroskopobjektiv in die Probe fokussiert. Mit einem dichroistischen Strahlteiler, der sein Reflexionsmaximum im Bereich der Wellenlänge des Anregungslichts hat, wird der Laserstrahl in den Strahlengang des Mikroskopobjektivs eingekoppelt. Das aus der Probe emittierte Fluoreszenzlicht wird hingegen vom dichroistischen Strahlteiler aufgrund der Rotverschiebung (Stokes-Verschiebung) kaum reflektiert. In diesem konfokalen Aufbau wird mit einer Lochblende in der Bildebene des Objektivs das auf dem Detektor abgebildete Nachweisvolumen räumlich begrenzt. Die Öffnung der Lochblende wird dabei um den Abbildungsmaßstab des Objektivs verkleinert in die Probe abgebildet. Der kleinste mögliche Durchmesser des Nachweisvolumens ( $2 w_0$ ) ist durch die Beugung des Lichts begrenzt und beträgt bei einem typischen Aufbau etwa  $0,5 \mu\text{m}$ . Die Länge des Nachweisvolumens ( $2 z_0$ ) wird durch die Tiefenschärfe des verwendeten Mikroskopobjektivs bestimmt. Bei den typischen Größen der Tiefenschärfe ( $1,5 \mu\text{m}$  bis  $3,6 \mu\text{m}$ ) und der numerischen Apertur der verwendeten Objektivs beträgt das minimale Nachweisvolumen zwischen  $0,98$  und  $2,27 \text{ fl}$  [KAL98]. Mit dem optischen Bandpaß-Filter, der maximale Transmission im Bereich des Emissionsmaximums des verwendeten Fluoreszenzfarbstoffs zeigt, wird das im Strahlengang vorhandene Streulicht vor dem Detektor zusätzlich unterdrückt. Der Detektor muß in der Lage sein, einzelne Photonen nachweisen zu können. Die verwendeten Detektoren sind daher entweder Avalanche-Photodioden oder im Einzelphoton-Zählmodus betriebene Photomultiplier.

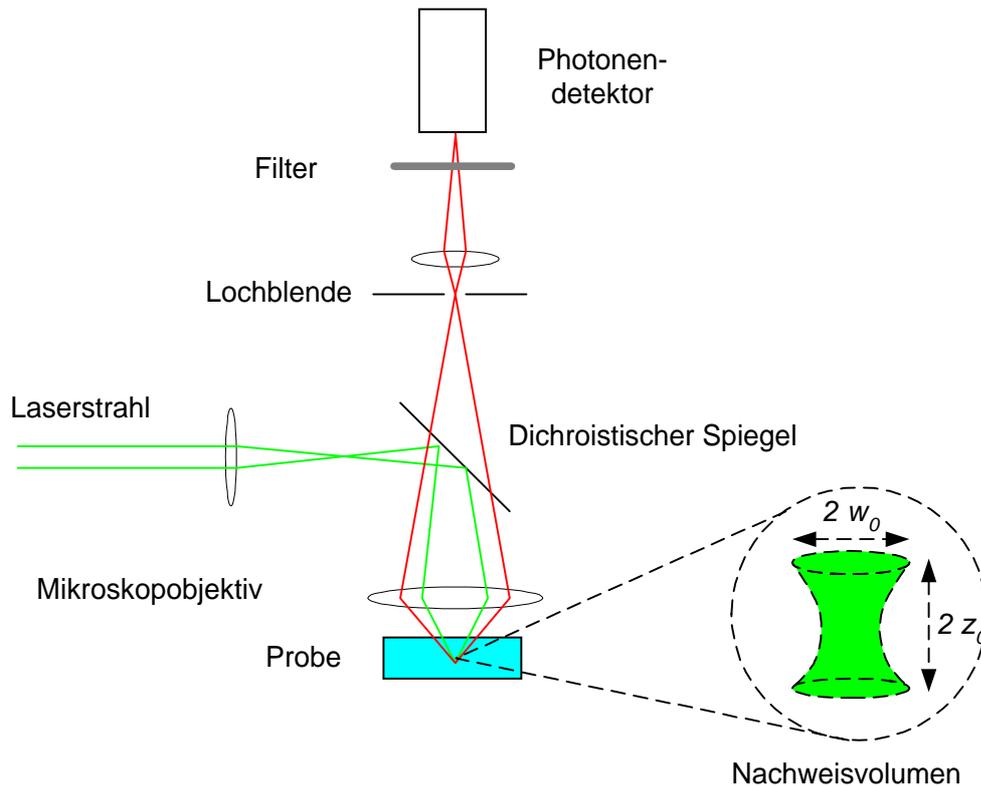


Abbildung 3.1: Nulldimensionaler Aufbau zur Einzelmoleküldetektion. Das minimale Nachweisvolumen wird durch die Größe der Lochblende und die Tiefenschärfe des Mikroskopobjektivs bestimmt.

Um eine effektive Einzelmoleküldetektion zu gewährleisten, muß die Konzentration der Lösung so eingestellt werden, daß sich im Mittel nur ein Molekül zur Zeit im Nachweisvolumen aufhält. Bei einem Volumen von einigen fL beträgt die Konzentration damit typisch  $10^{-13}$  bis  $10^{-15}$  mol/l [KEL96]. Wenn sich ein Molekül im Nachweisfokus aufhält, kann es angeregt werden und Fluoreszenzphotonen abstrahlen. Wenn die Anregungsintensität des Lasers stark genug ist (optische Sättigung), geschieht die Anregung und Abstrahlung von Fluoreszenzphotonen mit maximaler Rate, so daß sich die Anzahl  $N_{ph}$  der Fluoreszenzphotonen in erster Näherung durch

$$N_{ph} = \varepsilon \cdot \frac{\tau_t}{\tau_f} \quad (3.1)$$

ausdrückt. Dabei ist  $\varepsilon$  die Quanteneffizienz des Fluoreszenzfarbstoffs,  $\tau_f$  die Fluoreszenzhalbwertszeit (siehe Tabelle 2.1) und  $\tau_t$  die mittlere Aufenthaltsdauer des Moleküls im Nachweisvolumen. Sie liegt für den Fall der Diffusion in wäßriger Lösung bei den oben angegebenen Volumengrößen im Bereich von einigen Millisekunden. Damit ergibt sich ein Signal in der Größenordnung von  $10^4$  Fluoreszenzphotonen, das während der Aufenthaltsdauer im Nachweisvolumen von einem Molekül emittiert wird. Man spricht in diesem Zusammenhang auch von einem Photonenburst. Zum Nachweis durch den Detektor gelangt aber nur ein kleiner Teil des Signals, da die Fluoreszenzphotonen aus dem Nachweisvolumen isotrop abgestrahlt werden und nur ein Teil durch das Mikroskopobjektiv abgebildet

wird. Die Größe des effektiven Raumwinkelelements wird durch die numerische Apertur des Mikroskopobjektivs bestimmt und reduziert die Anzahl der abgebildeten Photonen auf etwa 20 %. Eine weitere Verminderung der Nachweeffizienz ergibt sich durch Transmissionsverluste von Strahlteiler, Linsen und Filter. Bei einer Wellenlänge des Fluoreszenzlichts von 560 nm liegt die Nachweeffizienz des Detektors bei 50 % für den Fall einer Avalanche-Photodiode (APD) und bei etwa 20-25 % bei Verwendung eines Photomultipliers. Für einen Aufbau mit einer APD beträgt die gesamte Nachweeffizienz damit etwa nur 3 %. Eine Zusammenstellung der einzelnen Nachweeffizienzen ist bei [KAL98] nachzulesen.

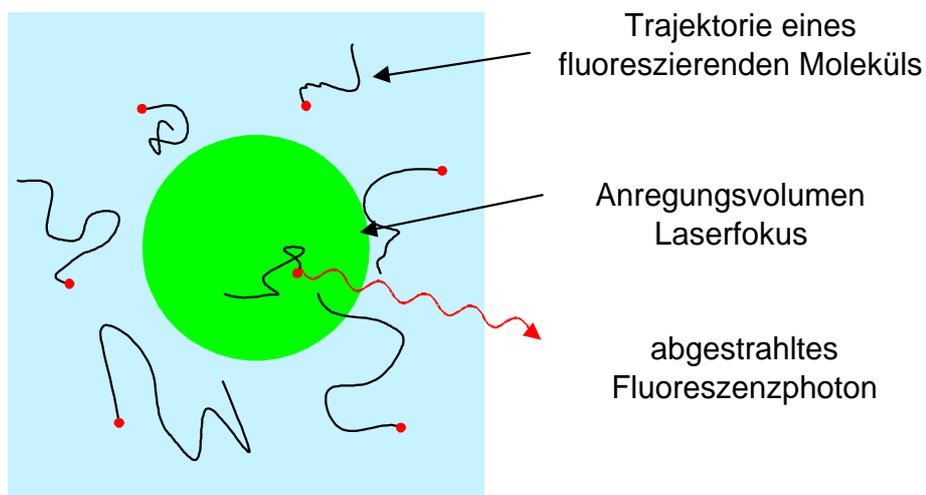


Abbildung 3.2: Ausschnitt aus dem Reaktionsvolumen. Während ein fluoreszierendes Molekül durch das Nachweisvolumen diffundiert, wird es ständig zur Fluoreszenz angeregt und emittiert dabei einen sogenannten Photonenburst.

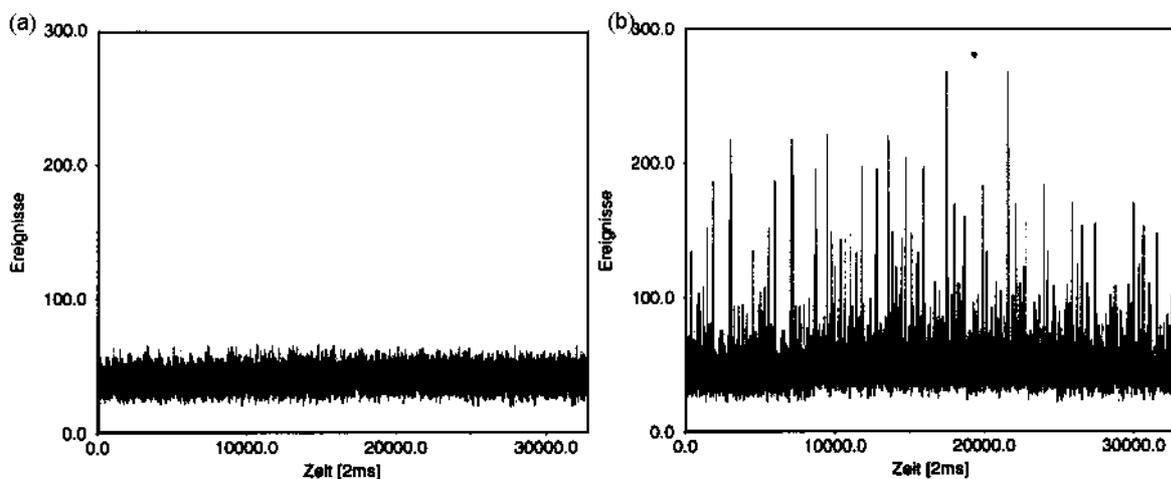


Abbildung 3.3: Zählrate im nulldimensionalen Aufbau. (a) Leermessung mit Wasser ohne Zusatz von Farbstoffen, (b) Rhodamin 6G-Moleküle in einer Konzentration von  $10^{-10}$  mol/l. Anregung mit Dauerstrich Argon-Ionen-Laser bei 488 nm mit  $200 \mu\text{W}$  (aus [KAL98]).

Das bedeutet, daß von den ursprünglich  $10^4$  Photonen eines Burstsignals nur etwa  $10^2$  Photonen auch wirklich nachgewiesen werden können. Man erwartet daher als charakteristisches Signal eines fluoreszierenden Moleküls ein Burst von einigen Zehn bis Hundert Photonen innerhalb von wenigen Millisekunden. In Abbildung 3.3 ist die mit dem zuvor beschriebenen nulldimensionalen Aufbau gemessene Signalarate gegenüber der Meßzeit aufgetragen. Bei (a) ist eine Leermessung ohne Fluoreszenzfarbstoff in der Lösung zu sehen. Die Streulichtrate betrug demnach etwa 15 kHz. Die Meßreihe bei (b) wurde mit einer Lösung von  $10^{-10}$  mol/l Rhodamin 6G gemacht. Man sieht deutlich die Signalspitzen in den Zeitreihen, die von den Photonenburst einzelner Moleküle herrühren. Die Methode der Fluoreszenz-Korrelations-Spektroskopie (FCS) benutzt diesen Meßaufbau, um über die Autokorrelationsfunktion der gemessenen Rate die Diffusionskonstanten der sich in Lösung befindlichen Moleküle zu ermitteln [RIE92]. Da die Berechnung einer Autokorrelationsfunktion sehr rechenintensiv ist, wird zur Detektion von Moleküle in Echtzeit ein anderes Rechenverfahren benutzt. Mit einem geeigneten Zeitfilter wird innerhalb eines festen Zeitintervalls die gemessene Rate laufend gemittelt. Die Länge des Zeitintervalls wird dabei an die Diffusionszeit des Moleküls angepaßt. Die zeitlich gemittelte Rate wird mit einem Schwellwert verglichen, der so eingestellt wird, daß die mittlere Rauschrate auf jeden Fall unterhalb dieser Schwelle bleibt. Ein Burst-Ereigniss erhöht die Rate kurzzeitig, so daß die Schwelle überschritten wird. Durch eine geeignete Wahl der Filterparameter läßt sich damit eine effiziente Diskriminierung des Rauschuntergrunds erreichen [KEL96].

### 3.2 Aufbau zur orts aufgelösten Einzelmoleküldetektion

Der Aufbau zur zweidimensional orts aufgelösten Einzelmoleküldetektion basiert vom Prinzip her auf dem zuvor vorgestellten nulldimensionalen Aufbau (siehe Abbildung 3.1). Das Anregungsvolumen wird aber gegenüber dem nulldimensionalen Aufbau nicht mehr auf ein beugungsbegrenztes Volumen beschränkt, sondern entsprechend um die Anzahl der Bildelemente (Pixel) des Detektors vergrößert. Damit ist es möglich, Moleküle nicht nur während ihrer kurzen Diffusionszeit durch ein beugungsbegrenztes Volumen (etwa 1  $\mu$ s in einem Volumen mit einem Durchmesser von 0,5  $\mu$ m) zu detektieren, sondern über einen längeren Zeitraum zu beobachten. Auch die Anzahl der emittierten Fluoreszenzphotonen wird entsprechend größer, was die Burst-Erkennung erleichtert. Mit der Ortsauflösung ist man in der Lage die Bewegung einzelner Moleküle zu verfolgen und so molekularbiologische Prozesse wie z.B. das Verhalten von Rezeptoren an Membranoberflächen zu studieren. Auch ist die gleichzeitige Detektion und Selektion unterschiedlicher Moleküle möglich. Die entscheidende Erweiterung des nulldimensionalen Aufbaus ist die Verwendung eines Photodetektors mit Ortsauflösung, der die im nulldimensionalen Aufbau verwendete APD ersetzt. Bei der notwendigen Zeitauflösung, die für die Erkennung von einzelnen Burstereignissen benötigt wird, scheidet eine Kombination von Bildverstärker und CCD-Kamera, wie sie in der Videomikroskopie mit einer Bildrate von einigen Herz zum Einsatz kommt, aus. Statt dessen wird für die schnelle Detektion statt einer CCD ein doppelseitiger Silizium-Streifendetektor benutzt, der eine entsprechend hohe Bildrate er-

laubt. Mit dem zusätzlichen Bildverstärker ist das Nachweissystem empfindlich genug, um einzelne Photonen orts aufgelöst nachzuweisen. Da der Streulichtuntergrund proportional zum Anregungsvolumen zunimmt, reicht ein optisches Filter allein für ein akzeptables Signal zu Untergrund Verhältnis nicht mehr aus [MAT97]. Man nutzt nun zusätzlich die Möglichkeit, das prompte Streulicht mit der Modulation des Bildverstärkers zeitlich zu diskriminieren. Die Anregung mit dem Laser erfolgt daher nicht mehr kontinuierlich sondern gepulst.

Der Aufbau, wie er in Abbildung 3.4 schematisch dargestellt wird, ist am IMB in Jena realisiert worden. Ein im Pulsmodus betriebener Argon-Ionen-Laser mit einer Wellenlänge von 514 nm (BeamLock™ 2080, Spectra-Physics) erzeugt Pulse mit einer Halbwertsbreite von  $< 200$  ps und einer Wiederholrate von 82 MHz. Mit einem externen akustooptischen Kristall (Bragg-Zelle) wird die Rate von 82 MHz auf 4 MHz heruntergeteilt. Dieser optische Kristall wird synchron zur Pulsfrequenz des Lasers mit einem Piezoelement in Schwingung versetzt. Mit der dadurch erzeugten periodischen Schwingung des Kristallgitters wird nun jeder 20. Laserpuls so abgelenkt, daß er in den weiteren Strahlengang gelangt – alle anderen Pulse werden mit einer Blende unterdrückt. Über einen dichroistischen Spiegel wird der Laserstrahl auf ein Mikroskopobjektiv fokussiert. Wie bei dem Aufbau zur nulldimensionalen Einzelmoleküldetektion (Abbildung 3.1) wird für die Einkopplung des Laserlichts in die zu untersuchenden Proben das Prinzip der epi-konfokalen Mikroskopie benutzt. Das anregende Laserlicht wird über ein Mikroskopobjektiv (Vergrößerungen 25x, 40x, 63x oder 100x, Typ Plan-Neofluar, Zeiss) in die Probe eingekoppelt. Im Gegensatz zum nulldimensionalen Aufbau wird der Laserstrahl vor der Einkopplung in das Mikroskop noch aufgeweitet, um das Anregungsvolumen zu vergrößern. Mit einer Halbwertszeit von einigen Nanosekunden senden die angeregten Moleküle Fluoreszenzphotonen aus. Ein Teil der Fluoreszenzphotonen fällt in den Öffnungswinkel des Mikroskopobjektivs und tritt durch den Strahlteiler hindurch. Nach einem weiteren Filter zur Reduktion des Streulichtanteils werden die Photonen von einer Optik auf die Photokathode des Mikrokanalplatten-Bildverstärkers abgebildet. Mit dem Signal einer Triggerdiode, auf die man einen Teil des Laserstrahls abbildet, wird die Modulation des Bildverstärkers zur zeitlichen Diskriminierung der Streulichtphotonen gesteuert. Dafür wird das Signal der Triggerdiode so verzögert, daß der Bildverstärker zum Zeitpunkt des Laserpulses geschlossen ist. Sofort nach dem Anregungspuls wird der Bildverstärker geöffnet, so daß nur die mit zeitlicher Verzögerung emittierten Fluoreszenzphotonen verstärkt werden. Durch die Verstärkung wird aus einem Einzelphotonsignal ein Schauer von etwa  $10^6$  Photonen, der mit einer Tandemoptik auf den doppelseitigen Streifendetektor abgebildet wird. Die Tandemoptik besteht aus zwei Kameraobjektiven gleicher Brennweite (50 mm, 1:1,5, Nikor), mit denen der Leuchtschirm des MCP-Bildverstärkers im Maßstab 1:1 auf den Detektor abgebildet wird. Der Detektor mit  $128 \times 128$  Bildelementen (Pixel) kodiert die x-y-Koordinaten der einzelnen Photonenschauer und überträgt die Bilder synchron zur Anregungsrate von 4 MHz zu einem Parallelrechner (NGEN, IMB Jena). Die Datenübertragung vom Detektormodul zum Parallelrechner erfolgt über eine Glasfaserstrecke, um die für die Bildrate von 4 MHz er-



### 3.3 Der modulierbare Bildverstärker

Der Bildverstärker hat innerhalb des Gesamtaufbaus die Aufgabe, die einzelnen Fluoreszenzphotonen unter Beibehaltung der Ortsinformation zu verstärken, so daß der Silizium-Streifendetektor, der eine Nachweisschwelle von etwa  $10^4$  Photonen hat, zum indirekten Nachweis von Einzelphotonen eingesetzt werden kann. Gleichzeitig hat man über die Modulation der Verstärkung die Möglichkeit, das prompte Streulicht auszublenden und nur das zeitlich verzögerte Fluoreszenzlicht zu verstärken. Dazu muß der Bildverstärker in der Lage sein, mit der Repetitionsrate des Lasers an- und abgeschaltet werden zu können. Um auch bei Fluoreszenzfarbstoffen mit kurzer Fluoreszenzlebensdauer nicht zuviel vom eigentlichen Signal durch die Modulation zu verlieren, muß der Übergang vom geschlossenen zum offenen Zustand innerhalb von 1 - 2 ns erfolgen. Diese hohen Anforderungen an das Öffnungsverhalten und die Wiederholrate machten es notwendig, einen speziellen Bildverstärker zu entwickeln, wozu als Projektpartner die Firma Proxitronic GmbH (Bensheim) beauftragt wurde. Ebenso war es notwendig die Spezifikation des Bildverstärkers auf die Art des hier verwendeten optischen Sensors (den Silizium-Streifendetektors) hin abzustimmen. Im Lauf des Projekts wurden verschiedene Entwicklungsmuster bezüglich ihres Öffnungsverhaltens und Verstärkungsfaktors charakterisiert, bevor der Bildverstärker in den Gesamtaufbau integriert werden konnte.

#### 3.3.1 Spezifikation des Bildverstärkers

Für die Entwicklung des Bildverstärkers wurde eine S25 Photokathode gewählt, die in dem Bereich des Emissionsspektrums der nachzuweisenden Fluoreszenzfarbstoffe (zwischen 515 nm und 650 nm, siehe Tabelle 2.1) die beste Quanteneffizienz zeigt. Um den elektrischen Widerstand der Photokathode zu verbessern, kann unter das Photokathodenmaterial eine Netzstruktur aus elektrisch leitendem Nickel aufgebracht werden. Dieser zusätzliche Schritt ist notwendig, um das Photokathodenpotential zur Modulation der Verstärkung entsprechend schnell schalten zu können. Die Quanteneffizienz wird dabei allerdings durch die zusätzliche Lichtabsorption der Metallisierung auf 10-15% reduziert [PRO98]. Die integrale Dunkelrauschrategie einer S25 Photokathode bei Raumtemperatur mit einer aktiven Fläche von  $0,4 \text{ cm}^2$  beträgt etwa 4 kHz. Durch Kühlung der Photokathode mit Peltierelementen kann diese Dunkelrate bei Abkühlung um  $10^\circ \text{ C}$  halbiert werden [PRO98].

Die Quanteneffizienz des Leuchtschirms, die Zeitkonstante und das Emissionsspektrum der Phosphoreszenz sind die Parameter, die den Leuchtschirm charakterisieren und die an die Anwendung, bzw. an den zum Einsatz kommenden Detektor angepaßt werden müssen. Um das Signal des Bildverstärkers effizient mit einem Silizium-Streifendetektor nachweisen zu können, muß die Wellenlänge der Photonen in einem Bereich zwischen 450 und 1100 nm liegen. Dabei ist die untere Grenze durch die wellenlängenabhängige Eindringtiefe der Photonen in Silizium gegeben. Diese beträgt für 450 nm Wellenlänge etwa  $1 \mu\text{m}$ , was ungefähr der Dicke der Strukturierungsschicht (Tiefe der Implantation der Signalelek-

troden) entspricht, innerhalb derer der Detektor nicht sensitiv ist (siehe Abschnitt 2.2.1 und folgende). Die Obergrenze der Wellenlänge wird durch die minimal notwendige Energie zur Erzeugung eines Elektron-Loch-Paars festgelegt, die bei Silizium 1,12 eV beträgt (Energilücke zwischen Valenz- und Leitungsband bei Raumtemperatur). Gleichzeitig muß bei der Wahl des Phosphors die Zeitkonstante der Phosphoreszenz berücksichtigt werden. Die Obergrenze der Zeitkonstanten wird durch die Zeitauflösung des Detektorsystems bestimmt. Bei einer Anregungsfrequenz von 4 MHz und der Forderung, direkt aufeinanderfolgende Ereignisse detektieren zu können, ist die Zeitkonstante (siehe Kapitel 2.5) der Detektor-Signalelektronik auf 250 ns festgelegt. Das bedeutet, daß der Hauptanteil des Photonenschauers vom Leuchtschirm innerhalb dieses Zeitintervalls auf dem Detektor gesammelt werden muß, da sonst Signalintensität verloren geht (ballistisches Defizit). Wie aus Tabelle 2.2 ersichtlich wird, ist die Forderung nach kurzer Phosphoreszenzlebensdauer und einem langwelligen Emissionsspektrum nicht gleichzeitig optimal zu erfüllen.

Bei der Entwicklung des MCP-Bildverstärkers für diese Anwendung wurde der P46 Leuchtstoff ausgewählt, der bei einer Abklingzeit von 100 ns das Emissionsmaximum bei einer Wellenlänge von 513 nm hat. Anders als bei einem CCD-Sensor kann der Silizium-Streifendetektor mechanisch nicht ohne weiteres über einen Fasertaper an den Leuchtschirm angekoppelt werden. Daher wird die Abbildung mit einer Tandemoptik realisiert, deren Effizienz - im Gegensatz zu 70 % bei einer Faserankopplung - maximal 10 % beträgt. Die erforderliche Verstärkung für Einzelphotonereignisse wurde daher mit  $10^6$  spezifiziert. Diese Zahl ergibt sich aus Sensitivität des Silizium-Streifendetektors von  $10^4$  Photonen pro Ereignis und den Verlusten, die sich bei der Abbildung des Leuchtschirms auf den Detektor ergeben. Für den MCP-Bildverstärker errechnet sich die Anzahl der Photonen am Ausgang des Leuchtschirms pro ausgelöstem Photoelektron aus dem Produkt der Verstärkung der MCP und der Effizienz des Leuchtschirms:

$$N_{ph} = G \cdot E = 9 \cdot 10^6$$

$$\text{Verstärkung der MCP (Doppelstufe, 1500V):} \quad G = 10^5$$

$$\text{Effizienz des Leuchtschirms (P46, 6 kV):} \quad E = 90 \text{ ph/el}$$

Die Zahlen für die Verstärkung sind Exemplarschwankungen bis zu einem Faktor 3 unterworfen. Eine zu geringe Verstärkung kann durch Erhöhen der MCP-Spannung bis auf maximal 2000 V kompensiert werden [PRO98].

### 3.3.2 Modulation

Die Modulation des Bildverstärkers wird durch Schalten der Ziehspannung zwischen Photokathode und MCP-Eingang erreicht (siehe Abbildung 3.5). Theoretisch wäre es auch möglich die MCP-Spannung zu schalten, was aber aufgrund der sehr viel höheren Spannung von mehreren hundert Volt technisch schwieriger zu realisieren wäre. Bei einer negativen Spannung zwischen Photokathode und MCP werden die ausgelösten Photoelektronen durch das elektrische Feld auf die Eingangsseite der MCP hin beschleunigt und lösen dort

die weitere Verstärkung aus – der Bildverstärker ist offen. In diesem Fall beträgt die Ziehspannung etwa -60 V. Um die Verstärkung abzuschalten, wird eine positive Spannung an der Photokathode angelegt. Wird nun in der Photokathode ein Elektron ausgelöst, wird es durch das positive Potential wieder zurückgezogen und kann in der MCP keinen Sekundärelektronenschauer auslösen – der Bildverstärker ist geschlossen. Das Umschalten zwischen geschlossenem und offenem Zustand muß innerhalb sehr kurzer Zeit erfolgen, um möglichst nur das prompte Streulicht und nicht zu viel von dem exponentiell abfallendem Fluoreszenzsignal zu unterdrücken. Um die Modulation mit der erforderlichen Steilheit zu erreichen, mußten von Proxitronic die elektrischen Eigenschaften der Photokathode (Flächenwiderstand und Kapazität) eines herkömmlichen Bildverstärkers verbessert werden. Die Kapazität zwischen Photokathode und MCP konnte verkleinert werden, indem die aktive Fläche auf die Größe des Silizium-Streifendetektors von  $6,4 \times 6,4$  mm abgestimmt wurde. Dazu wurde das Glassubstrat, auf dem die Photokathode aufgebracht wird, so bearbeitet, daß nur der zentrale aktive Bereich minimalen Abstand zur MCP hin hat. Zusätzlich konnte durch das Auftragen einer metallischen Netzstruktur auf die Photokathode der Flächenwiderstand verkleinert werden. Ein geringer Flächenwiderstand ist notwendig, damit sich das elektrische Feld beim Schalten der Photokathodenspannung schnell und auch gleichmäßig über die gesamte aktive Fläche ändert. Ist das nicht der Fall, so kommt es zu dem sogenannten Iris-Effekt. Dieser Effekt entsteht dann, wenn während des Schaltvorgangs ein Bereich des Bildverstärkers schon offen ist, während der Rest noch geschlossen ist. Um auch den Zuleitungswiderstand möglichst klein zu halten, wurde der elektrische Kontakt zur Photokathode nicht über einen seitlichen (radialen) Anschluß hergestellt, sondern am Rand des aktiven Bereichs wurde die Photokathode mit Metallkontakt im Glassubstrat direkt kontaktiert. Der Impulsverstärker wurde direkt an den Bildverstärker angebaut, um Kapazität und Induktivität der Zuleitungen klein zu halten.

Ohne den Impulsverstärker ist die Photokathode hochohmig über einen  $100 \text{ M}\Omega$  Widerstand mit der Ziehspannung von -60 V verbunden. Der Eingang der MCP liegt auf 0 V. Damit ist der Bildverstärker im normalen, offenen Verstärkungsbetrieb. Mit der Ankopplung des Impulsverstärkers kann das Potential der MCP-Eingangsseite und das Photokathodenpotential moduliert werden. Wenn der Impulsverstärker nicht im Betrieb ist, bleibt die MCP weiterhin offen, da die Ausgangsspannungen des Impulsverstärkers über Kapazitäten an den Bildverstärker gekoppelt sind. Wenn der Impulsverstärker von außen getriggert wird, schaltet der Ausgang, der zur Photokathode führt, zwischen +25 V und -30 V und der Ausgang, der zur MCP führt, zwischen -20 V und +50 V hin und her. Dadurch, daß die Spannungen im Gegentakt geschaltet werden, hat man zwischen Photokathode und MCP-Eingang einen Spannungssprung von 45 V nach -80 V. Der tatsächlichen Verlauf der Photokathodenspannung  $U_{PK}$  ist in Tabelle 3.5 unten skizziert. Die Asymmetrie der Impulsform für steigende und fallende Flanke liegt an den verwendeten Endstufen im Impulsverstärker. Wichtig für ein schnelles Öffnen des Bildverstärkers ist die fallende Flanke des Signals. Die Zeitkonstante, mit der der Bildverstärker wieder geschlossen wird, ist unkri-

tisch, solange er spätestens nach 250 ns, wenn der nächste Anregungspuls kommt, wieder vollkommen geschlossen ist.

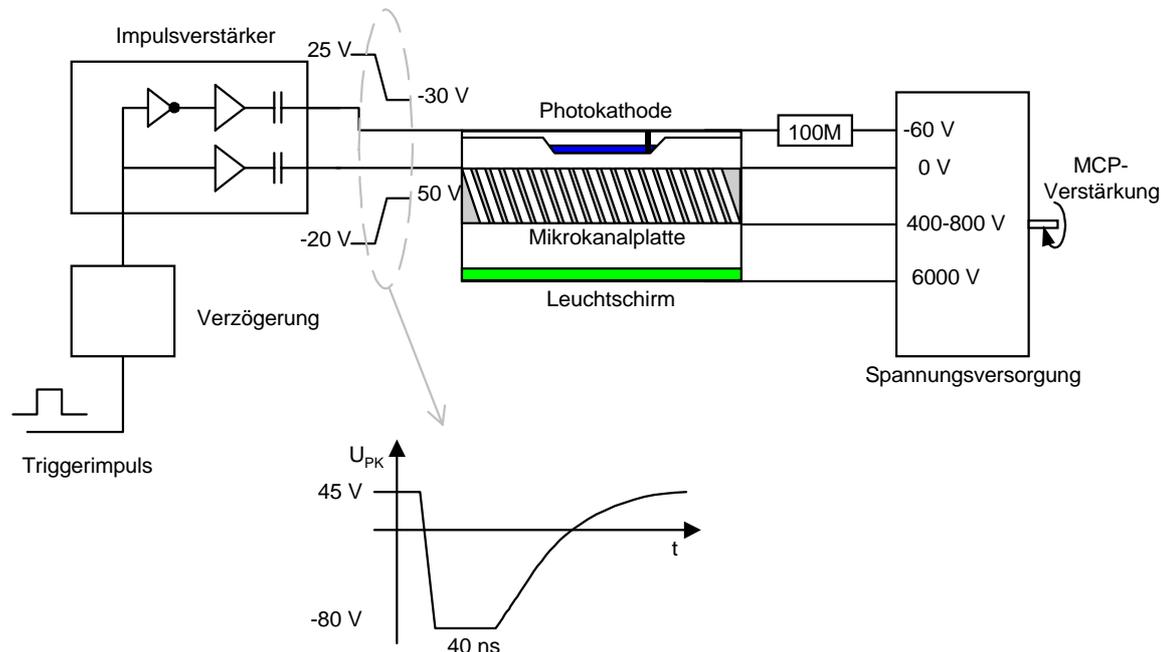


Abbildung 3.5: Beschaltung des MCP-Bildverstärkers zur Modulation. Rechts ist die normale Spannungsversorgung mit einem zusätzlichen hochohmigen Widerstand in der Spannungsversorgung für die Photokathode, links der Impulsverstärker mit einer Gegentaktendstufe. Die Modulationsspannung wird kapazitiv zwischen Photokathode und MCP-Eingang eingekoppelt.

Da sowohl der modulierbare Bildverstärker als auch der Impulsverstärker aufgrund der hohen Anforderungen des Experiments im Rahmen des Projekts neu entwickelt wurden, wurden Messungen zur Charakterisierung des Öffnungsverhaltens an mehreren Entwicklungsmustern durchgeführt, bevor der Bildverstärker in den Gesamtaufbau integriert werden konnte.

### 3.4 Das Photoskop-Detektorsystem

Das Photoskop-Detektorsystem besteht aus einem Interface zum Parallelrechner und dem eigentlichen Detektormodul<sup>10</sup>. Das Detektormodul umfaßt den optischen Sensor (den Silizium-Streifendetektor), die Detektorelektronik und die für die Steuerung der Detektorelektronik und die Datenübertragung notwendigen Systemkomponenten. Vom Detektormodul werden die Bilddaten über eine Glasfaserstrecke seriell zu einem Interface übertragen, wo die Daten in ein für den Parallelrechner kompatibles Format umgewandelt

<sup>10</sup> Der Name „Photoskop“ wurde von einem System für digitale Autoradiographie namens „Bioscope“ abgeleitet, welches am Physikalischen Institut Bonn mitentwickelt wurde und ebenfalls auf einem Silizium-Streifendetektor basiert.

werden. Nachdem grundsätzlicher Aufbau und Funktion von Silizium-Streifendetektor und Detektorelektronik in Kapitel 2 erläutert wurden, werden nun die Spezifikationen der einzelnen Komponenten und der Aufbau des Detektormoduls beschrieben.

### 3.4.1 Der Silizium-Streifendetektor

Der optischen Sensor muß die x/y-Koordinaten der verstärkten Einzelphotonereignisse mit der Rate der Laseranregung von 4 MHz verarbeiten können. Während bei einem CCD-Sensor die Bilddaten seriell ausgelesen werden, liegt die Ortsinformation eines Signals auf einem doppelseitigen Streifendetektor parallel als x/y-Koordinate vor. Damit sind sehr hohe Bildraten möglich, die deutlich über der Bildfrequenz herkömmlicher CCD-Sensoren liegen. Diese Eigenschaft und die gute Ortsauflösung werden bislang in der Teilchenphysik und in der Biomedizin genutzt, um ionisierende Strahlung nachweisen zu können [KEM88] [WEI94] [OVE98]. Neu bei der Verwendung eines Silizium-Streifendetektors innerhalb dieses Aufbaus ist der Nachweis von optischen Photonen. Es wurde daher vom Halbleiterlabor des MPI München in Zusammenarbeit unserer Arbeitsgruppe ein doppelseitiger Silizium-Streifendetektor entwickelt und hergestellt, der für den Nachweis von optischen Photonen optimiert wurde. Die Entwicklung dieses speziellen Silizium-Streifendetektors erfolgte in zwei Phasen. Die erste Produktion von Detektoren war dazu vorgesehen, den Einfluß verschiedener Streifengeometrien auf die Nachweiseffizienz zu charakterisieren. Diese einseitigen (BONNDET 1) und doppelseitigen (BONNDET 2) Silizium-Streifendetektoren hatten noch keine optimierte Entspiegelungsschicht. Mit der zweiten Produktionsreihe für die doppelseitigen Typen BONNDET 3 und BONNDET 4 wurde das Detektordesign noch einmal überarbeitet und mit einer entspiegelten Oberfläche versehen. Messungen zur Quanteneffizienz und anderen elektrischen Parametern wurden an Detektoren und Teststrukturen beider Serien vorgenommen [REG97].

#### 3.4.1.1 Größe des Detektors und Streifengeometrie

Für eine effiziente Ankopplung von Silizium-Streifendetektor und MCP-Bildverstärker müssen die Größe des Sensors und sein Streifenabstand bzw. der aktive Bereich des Bildverstärkers und seine Ortsauflösung aneinander angepaßt werden. Ein Photonenschauer hat auf dem Leuchtschirm des MCP-Bildverstärkers einen Durchmesser von etwa 20 - 35  $\mu\text{m}$  und wird mit der Optik (Tandemoptik) im Maßstab 1:1 auf den Silizium-Streifendetektor abgebildet. Deshalb wurde ein Streifenabstand auf beiden Seiten des Detektors von 50  $\mu\text{m}$  gewählt, so daß ein Bildelement die Größe von  $50 \times 50 \mu\text{m}^2$  besitzt. Ein geringerer Abstand würde dazu führen, daß sich das Signal der Photonenschauer vermehrt auf zwei benachbarte Streifen verteilt, und somit eventuell zu gering wird, um nachgewiesen werden zu können. Ein größerer Abstand würde die Auflösung verschlechtern. Die aktive abzubildende Fläche wird durch den Durchmesser des Anregungsfokus und durch den Abbildungsmaßstab bestimmt. Beide hängen von dem verwendeten Mikroskopaufbau ab und müssen im Experiment angepaßt werden. Es gab daher keine exakten Vorgaben für die

Größe des Detektors. Die Anzahl der Streifen wurde mit 128 auf einen gebräuchlichen Wert festgelegt, der einerseits eine ausreichende Ortsauflösung gewährleistet und andererseits den Aufwand für die Datenübertragung und Signalverarbeitung in einem vernünftigen Rahmen hält. Die aktive Fläche des Detektors ist damit bei einer Anzahl von  $128 \times 128$  Streifen auf  $6,4 \times 6,4 \text{ mm}^2$  festgelegt. Für die Optimierung der Quanteneffizienz für optische Photonen wurde der Einfluß der Detektoroberfläche und der Feldgeometrie untersucht. Um Photonen effizient nachzuweisen, müssen sie zuerst möglichst ungehindert durch die Luft-Detektor-Grenzschicht in den Detektor eindringen (Transmission). Des Weiteren müssen in der Zone, in der die Photonen absorbiert werden, die dort generierten Ladungsträger auch mit hoher Ausbeute gesammelt werden können (Ladungssammlung). Maßgeblichen Einfluß auf die Transmission hat die Beschichtung der Detektoroberfläche. Bei einem typischen Streifendetektor ist die Oberfläche mit Isolationsschichten aus Siliziumdioxid und Siliziumnitrid und der strukturierten Metallisierung der Ausleseelektroden versehen (siehe Abbildung 2.12). Der Bereich der Metallisierung führt dabei zur Reflexion der optischen Photonen. Bei der ersten Produktionsreihe des Detektors wurde daher die Metallisierung zur AC-Ankopplung der Streifen mit  $6 \mu\text{m}$  Breite minimal schmal gemacht, um die Reflexionsverluste gering zu halten. Bei  $6 \mu\text{m}$  breiter Metallisierung und  $50 \mu\text{m}$  Streifenbreite ergibt sich aber immerhin noch ein Verlust von 12 % durch Reflexion. Um den Einfluß der Streifengeometrie auf die Ladungssammlung zu untersuchen, wurden auf den ersten Prototypen des Silizium-Streifendetektors vier verschiedene Bereiche mit unterschiedlichen Implantationsbreiten ( $10 \mu\text{m}$ ,  $20 \mu\text{m}$ ,  $30 \mu\text{m}$  und  $40 \mu\text{m}$ ) bei konstanten Streifenabstand von  $50 \mu\text{m}$  realisiert. Die Breite der Implantation wirkt sich sowohl auf die Quanteneffizienz der Detektoroberfläche als auch auf die Ladungssammlungszeit aus. Die Depletionszone reicht kaum in den Bereich der hochdotierten Streifenimplantation hinein (siehe Abschnitt 2.2.1.2). Ladungsträger, die in diesem nicht depletierten Bereich erzeugt werden, gehen dem Nachweis verloren, sofern sie nicht durch Diffusion in die Depletionszone gelangen. Bei der Lichtwellenlänge, die der Detektor nachweisen soll (Emissionsmaximum des P46 Leuchtschirms bei etwa  $520 \text{ nm}$ ), liegt die Eindringtiefe mit etwa  $1 \mu\text{m}$  (siehe Abbildung 2.3) in der Größenordnung der Implantationstiefe [REG97]. Man erhält so im Bereich der Implantation einen Verlust an Nachweiseffizienz. Man würde aus diesem Grund das Verhältnis von Streifenbreite zu Streifenabstand sehr klein machen wollen. Andererseits wird dann der Bereich zwischen zwei benachbarten Implantationszonen, der Zwischenstreifenbereich, sehr groß. Dieser Bereich zwischen den Streifen ist zwar depletiert, aber die elektrische Feldstärke an der Oberfläche ist nur sehr klein und die Ladungssammlungszeit entsprechend groß.

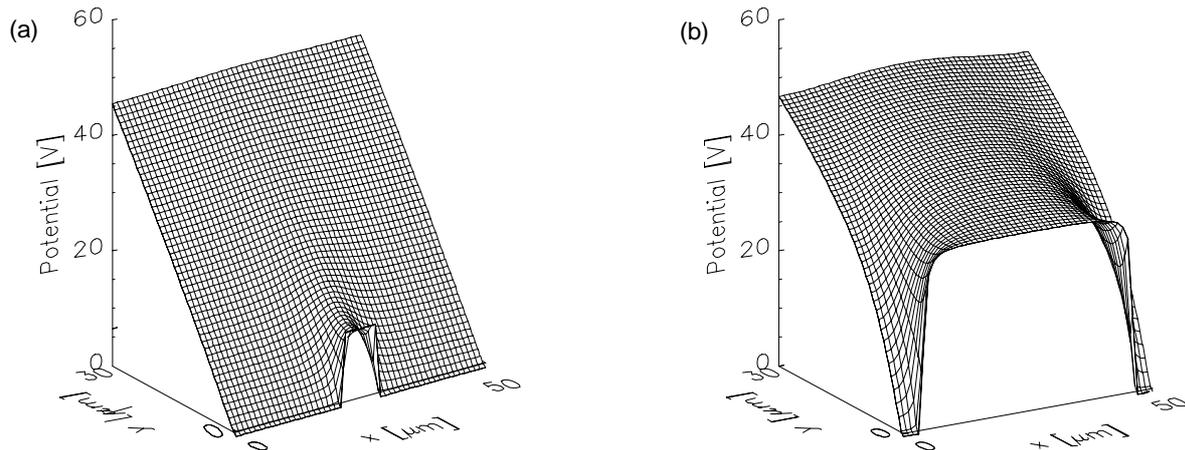


Abbildung 3.6: Simulation des Potentialverlaufs im Zwischenstreifenbereich für (a) 40 µm und (b) 10 µm Streifenbreite. Die y-Koordinate zeigt in die Tiefe des Detektors (Detektoroberfläche bei  $y = 0 \mu\text{m}$ ), die x-Koordinate entlang der Detektoroberfläche senkrecht zu den Streifen (Streifenmittellinie jeweils bei  $x = 0 \mu\text{m}$  und  $x = 50 \mu\text{m}$ ). (TOSCA-Simulation, MPI München)

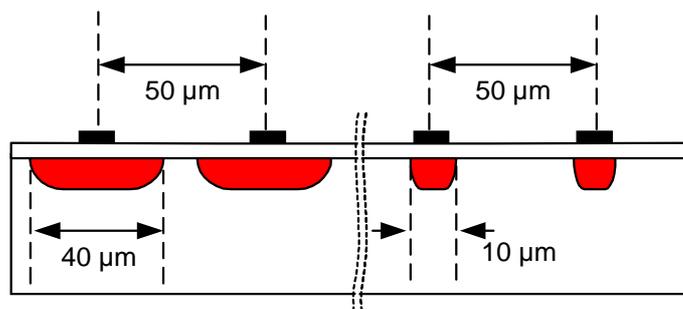


Abbildung 3.7: Querschnitt durch die Detektoroberfläche für Streifen mit 40 µm und 10 µm breiten Implantationen.

Zur Erläuterung ist in Abbildung 3.6 die Simulation des Potentialverlaufs für zwei unterschiedliche Streifenbreiten (Abbildung 3.7) dargestellt. Die y-Achse bezeichnet die Tiefe des Detektors, die x-Achse zeigt entlang der Detektoroberfläche senkrecht zu den Streifen und die z-Achse gibt den Betrag des lokalen Potentials innerhalb des Detektors an. Die x-Achse reicht von der Mittellinie eines Streifens bei  $x = 0 \mu\text{m}$  zu der Mittellinie des nächsten Streifens bei  $x = 50 \mu\text{m}$ . Das Potential der Streifen liegt auf 0 V. Der Detektor wird in der Simulation von der Rückseite her mit einer positiven Spannung verarmt, so daß in 30 µm Abstand von der Detektoroberfläche das Potential bei etwa 45 V liegt. Anschaulich kann man sich den Vorgang der Ladungssammlung in der x-y-Ebene anhand der Abbildung derart vorstellen, daß im Detektor generierte Ladungsträger entlang der Gradienten der Gitternetze zum Potentialminimum (bzw. Potentialmaximum) laufen. Bei (a) ist der Potentialverlauf für zwei 40 µm breite Streifen mit einem Zwischenstreifenbereich von 10 µm gezeigt. Hier ist das Plateau – der Bereich in dem die Ladungsträger nur ein relativ schwaches elektrisches Feld sehen – im Zwischenstreifenbereich schmal. Die Ladungsträger sehen demnach auch nahe der Oberfläche ein ausreichendes elektrisches Feld zur Ladungssammlung. In (b) sind die Streifen 10 µm breit. In dem nun 40 µm breiten Zwi-

schenstreifenbereich bildet sich ein deutliches Potentialplateau aus. Ladungsträger, die dort generiert werden, sitzen auf dem Plateau „fest“ und werden zu einem Teil wieder rekombinieren, sofern sie nicht durch Diffusion in den Bereich des elektrischen Feldes gelangen. Da die Diffusionsbewegung der Ladungsträger relativ langsam ist, verlängert sich die gesamte Ladungssammlungszeit und es kommt zusätzlich zu dynamischen Verlusten bei der Signalverarbeitung in der Detektorelektronik.

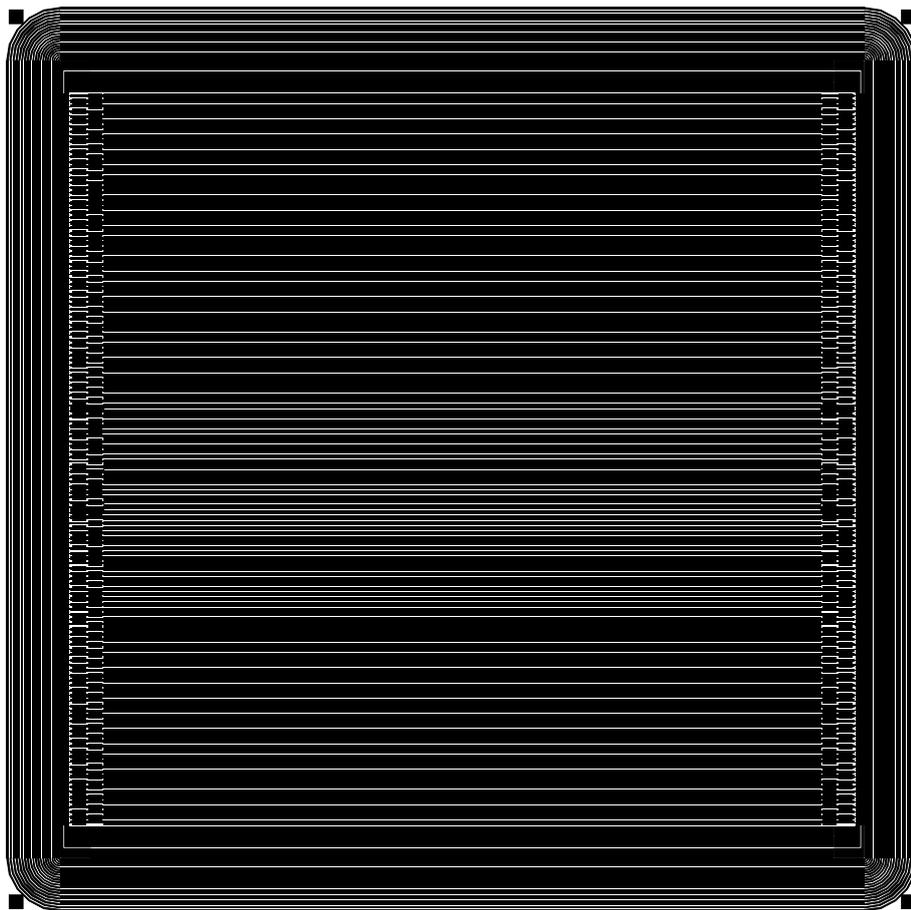
Es stehen sich also bei der Optimierung des Verhältnisses von Implantationsbreite und Streifenabstand der Verlust durch die teilweise Rekombination der Ladungsträger und der Verlust durch Verlängerung der Ladungssammlungszeit gegenüber. Um den Effekt der Ladungssammlungszeit dynamisch messen zu können, muß der Detektor in Kombination mit der Verstärkerelektronik betrieben werden. Da vor der zweiten Iteration des Detektordesigns allerdings keine geeigneten Verstärker für diese dynamischen Messungen zu Verfügung standen, wurde ein konservatives Detektordesign gewählt, in dem man den Zwischenstreifenbereich zugunsten eines homogenen Potentialverlaufs klein machte. Bei den Detektoren der zweiten Produktionsreihe beträgt die Implantationsbreite der Streifen  $40\ \mu\text{m}$  mit einem Zwischenstreifenbereich von  $10\ \mu\text{m}$ .

#### **3.4.1.2 Ankopplung der Streifen**

Die Detektoren der ersten Produktionsreihe (BONNDET 1 und BONNDET2) waren so konzipiert, daß die Streifen sowohl AC-gekoppelt als auch DC-gekoppelt ausgelesen werden können. Die Streifen sind jeweils an beiden Enden mit einem Anschluß (Bondpad) versehen. Auf einer Seite ist das Bondpad mit der isolierten Streifenmetallisierung verbunden und ermöglicht so den AC-gekoppelten Anschluß. Das Bondpad auf der anderen Seite hat keinen Kontakt zur Metallisierung, sondern ist direkt an den implantierten Streifen angeschlossen. Dieses unkonventionelle Design wurde gewählt, um für die Tests der Detektoren der 1. Generation sowohl AC- als auch DC-gekoppelte Strukturen zu Verfügung zu haben, um beide Anschlußarten miteinander vergleichen zu können. Kapazitätsmessungen an diesem Detektortyp haben aber gezeigt, daß die Koppelkapazitäten aufgrund der schmalen Metallisierung der Streifen sehr klein wurden. Für den Fall eines  $40\ \mu\text{m}$  breiten Streifens und der  $6\ \mu\text{m}$  breiten Metallisierung liegt die Koppelkapazität mit  $1,98\ \text{pF}$  etwa in der Größenordnung wie die Streifenkapazität mit  $1,68\ \text{pF}$  [REG97]. Damit erhält man einen Signalverlust von 46 % durch kapazitive Ladungsteilung.

	<b>BONNDET 1</b>	<b>BONNDET 2</b>	<b>BONNDET 3</b>	<b>BONNDET 4</b>
Aktive Fläche [mm <sup>2</sup> ]	6,4 × 6,4	6,4 × 6,4	7,2 × 7,2	7,2 × 7,2
Anzahl der Streifen	128	128	144	144
Strukturierung	einseitig	doppelseitig	doppelseitig	doppelseitig
Streifenabstand [μm]	50	50	50	50
Streifenbreite [μm]	10/20/30/40	10/20/30/40	40	40
Ankopplung	AC / DC	AC / DC	DC	DC
Bias	FOXFET	FOXFET	FOXFET	FOXFET
Entspiegelung	nein	nein	ja (510 nm)	ja (510 nm)
Besonderheiten	verschiedene Streifenbreiten	doppelseitiger BONNDET1		keine Metallisierung der n-Streifen

*Tabelle 3.1: Zusammenfassung der Eigenschaften der verschiedenen für das Photoskop entwickelten Silizium-Streifendetektoren: BONNDET 4 ist der Detektortyp, der im Photoskop-Detektorsystem verwendet wurde, an BONNDET 1 wurden die meisten Testmessungen gemacht, BONNDET 2 wurde für die ersten Prototypen benutzt und BONNDET 3 ist identisch mit BONNDET 4 nur mit vorhandener Metallisierung der n-Streifen).*



*Abbildung 3.8: Layout der n-Seite des BONNDET4 Silizium-Streifendetektors. Das Außenmaß des Detektorchips beträgt 12 mm × 12 mm; die aktive Fläche ist 6,4 mm × 6,4 mm groß. Zu erkennen sind die Bondpads an beiden Enden der 144 Streifen und die konzentrische Ringstruktur ('Guard'-Ringe), über die die Depletionsspannung des Detektors nach außen hin abfällt.*

Um diesen Signalverlust zu vermeiden, wurde bei der Produktion der 2. Detektorgeneration (BONNDET3 und BONNDET4) auf die auf dem Detektor integrierte AC-Kopplung verzichtet. Normalerweise wird dann bei DC-gekoppelten Detektoren die Metallisierung direkt mit der Implantation des Streifens verbunden, um den elektrischen Widerstand des Streifens gering zu halten. Ein zu großer Streifenwiderstand bildet sonst zusammen mit der Streifenkapazität einen RC-Tiefpaß, dessen Zeitkonstante die effektive Ladungssammelungszeit vergrößert. Gleichzeitig entsteht eine zusätzliche serielle Rauschquelle durch das thermische Rauschen des Widerstands. Bei einem Flächenwiderstand der  $n^+$ -Implantation von  $150 \Omega/\bullet$  und der  $p^+$ -Implantation von  $450 \Omega/\bullet$  ergibt sich ein Streifenwiderstand von  $24 \text{ k}\Omega$  für die n-Seite und  $72 \text{ k}\Omega$  für die p-Seite bei einer Streifengeometrie von  $6,4 \text{ mm} \times 40 \mu\text{m}$ . Mit der gemessenen Streifenkapazität von  $1,68 \text{ pF}$  liegt damit die RC-Zeit der n-Seite bei etwa  $40 \text{ ns}$ , was noch klein genug gegenüber der Zeitkonstante der Verstärkerelektronik ( $250 \text{ ns}$ ) ist. Der Detektor wird daher von der n-Seite her beleuchtet und die Streifenmetallisierung von BONNDET 4 wird dieser Seite komplett weggelassen (Abbildung 3.8). Durch eine Änderung im Layout der Bondpads wurde die Anzahl der Streifen von 128 auf 144 erhöht, von denen aber weiterhin nur 128 Streifen je Seite angeschlossen werden.

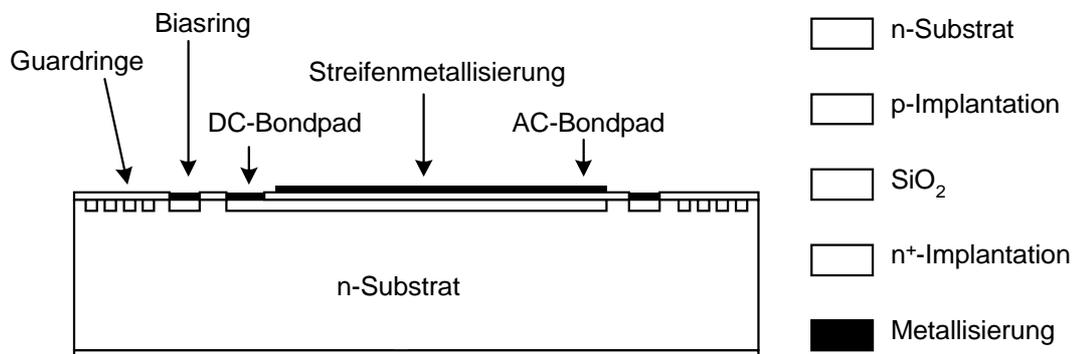


Abbildung 3.9: Vereinfachter Querschnitt durch den einseitigen Streifendetektor BONNDET 1. Auf der linken Seite des Detektors sind Bondpads mit direktem Kontakt zur Streifenimplantation angebracht (DC-Kopplung). Die Bondpads auf der rechten Seite sind an die von der Implantation isolierten Streifenmetallisierung angeschlossen (AC-Kopplung). Nicht gezeigt sind die FOXFET-Strukturen zur Versorgung der Streifen mit der Depletionsspannung.

### 3.4.1.3 Entspiegelung der Detektoroberfläche

Ein weiterer wichtiger Punkt für die Optimierung der Quanteneffizienz für optische Photonen ist die Entspiegelung der Detektoroberfläche. Ohne weitere Maßnahmen kommt es beim direkten Übergang von Luft nach Silizium durch die stark unterschiedlichen Werte

der Brechungsindices (siehe Tabelle 3.2) zu starken Reflexionen. Nach der Fresnel-Formel erhält man bei einem Übergang von einem Medium mit einem Brechungsindex  $n_1$  zu einem Medium mit dem Brechungsindex  $n_2$  für den Reflexionsgrad

$$R = \left( \frac{n_1 - n_2}{n_1 + n_2} \right)^2 = \left( \frac{n_{rel} - 1}{n_{rel} + 1} \right)^2 \quad (3.1)$$

wobei  $n_{rel}$  das Verhältnis der beiden Brechungsindices  $n_1 / n_2$  an der Grenzschicht angibt. Für den Übergang Luft / Silizium würde mit  $n_{Luft} = 1,003$  und  $n_{Si} = 4,226$  demnach fast 58 % des Lichts reflektiert werden und dem Nachweis im Detektor verloren gehen.

Die Transmission für einen bestimmten Wellenlängenbereich kann aber verbessert werden, indem man eine zusätzliche Beschichtung auf die Oberfläche aufbringt. Durch die geeignete Wahl von Brechungsindex und Dicke der Schicht entsteht ein Interferenzfilter, der für den ausgewählten Wellenlängenbereich konstruktive Interferenz aufweist. Der Strahlengang in einem einschichtigen Interferenzfilter ist in Abbildung 3.10 wiedergegeben. Die Medien  $S_0$ ,  $S_1$  und  $S_2$  haben die unterschiedlichen Brechungsindices  $n_0$ ,  $n_1$  und  $n_2$ . Ein Lichtstrahl mit der Amplitude  $A^0$  trifft auf die erste Grenzschicht zwischen den Medien  $S_0$  und  $S_1$ . Ein relativer Anteil  $r_0$  wird an der Oberfläche reflektiert und der Anteil  $t_0$  gelangt in das Medium  $S_1$ . An der nächsten Grenzschicht zwischen  $S_1$  und  $S_2$  wird wieder ein Teil  $r_1$  reflektiert und der Anteil  $t_1$  transmittiert. Der in das Medium  $S_1$  zurückreflektierte Teil unterliegt an der Grenzschicht  $S_1/S_0$  wieder einer teilweisen Reflexion mit  $r_2 = r_0$  und  $t_2 = t_0$ . Der nach  $S_1$  zurückreflektierte Strahl hat gegenüber dem ursprünglich durch  $S_1$  gehenden Strahl eine Phasendifferenz, die von der Schichtdicke  $d$ , dem Einfallswinkel und der Wellenlänge des einfallenden Lichts abhängt. Die Gesamtamplitude, die in das Medium  $S_2$  gelangt, ergibt sich aus der Summe aller Amplituden  $E^i$ . Mit der Schichtdicke  $d$  läßt sich die Phasendifferenz dieser Amplituden so einstellen, daß sie sich für eine bestimmte Wellenlänge konstruktiv überlagern und die Transmission des Lichts in das Medium  $S_2$  damit maximal wird.

Medium	Brechungsindex n
Luft	1,0003
Silizium (Si)	4,22603
Siliziumdioxid (SiO <sub>2</sub> )	1,4617
Siliziumnitrid (Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> )	2,03767

Tabelle 3.2: Brechungsindices der für die Detektorentspiegelung relevanten Medien (Daten aus [KNE82], [PAL85], [LAN62] und [JEL92])

Bei der Antireflexionsbeschichtung des Detektors ist der Strahlengang etwas komplizierter, da auf der Detektoroberfläche zwei verschiedene Beschichtungen übereinander aufgebracht werden und damit ein System aus vier unterschiedlichen Medien und drei Grenzschichten entsteht. Die Beschichtung des Detektors mit zwei verschiedenen Medien

ist herstellungstechnisch bedingt. Die Berechnung eines optimalen Schichtsystems wird zwar komplizierter, aber man erreicht dadurch eine Entspiegelung mit höherer Güte. Eine genauere mathematische Beschreibung eines Ein- und Zweischichtsystems findet man bei [REG97].

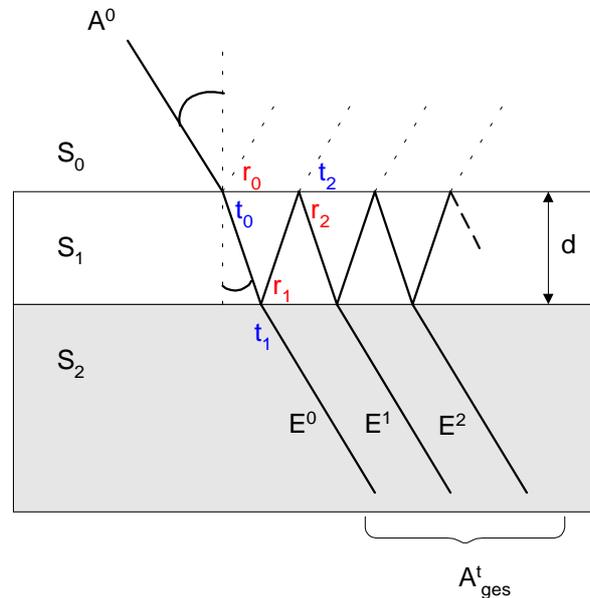


Abbildung 3.10: Strahlengang durch eine einfache Antireflexionsbeschichtung.

Bei der Herstellung eines Silizium-Streifendetektors ist es relativ einfach, eine Antireflexschicht auf der Oberfläche aufzubringen. Für die Isolation der Metallisierungen, die auf den Detektor aufgebracht werden, wird eine Schicht aus Siliziumdioxid ( $\text{SiO}_2$ ,  $n = 1,462$ ) verwendet. Erzeugt man diese Schicht durch die thermische Oxidation des Siliziumsubstrats (thermisches Oxid). Um die Qualität der Isolation zu verbessern, speziell um Kurzschlüsse zwischen Ausleseelektrode und Streifenimplantation bei AC-gekoppelten Detektoren (sogenannte 'pin-holes') zu vermeiden, wird meist noch eine zusätzliche Schicht aus Siliziumnitrid ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ,  $n = 2,038$ ) aufgetragen. Das Verfahren dazu heißt CVD ('chemical vapor deposition'), bei dem verschiedene Reaktionspartner in einer Gasphase über dem Siliziumsubstrat miteinander reagieren und sich dabei auf der Oberfläche des Detektors abscheiden. Sowohl die thermische Oxidation als auch das CVD-Verfahren lassen eine gute Kontrolle der Schichtdicke zu [SZE85]. Dadurch ist es möglich ein Schichtsystem zur Entspiegelung der Detektoroberfläche herzustellen.

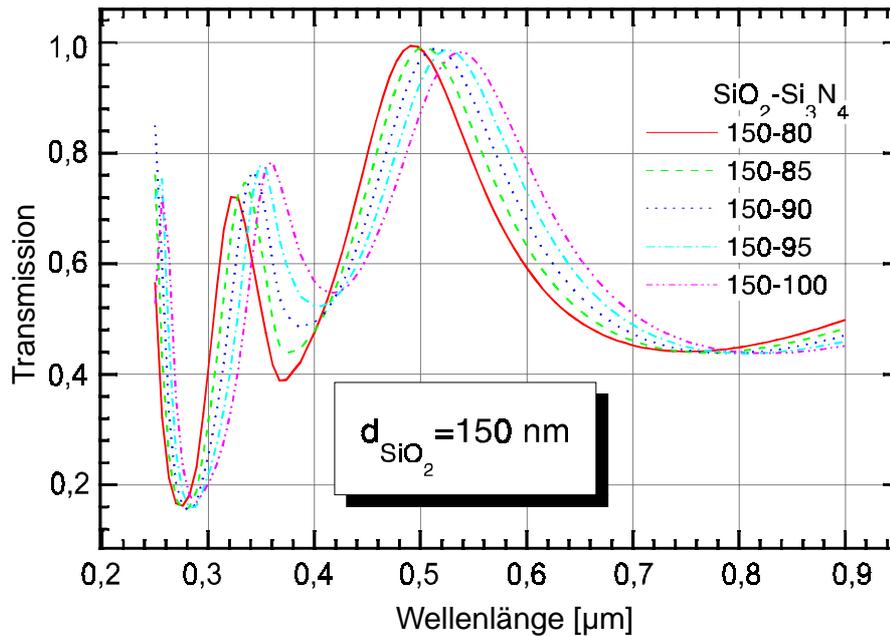
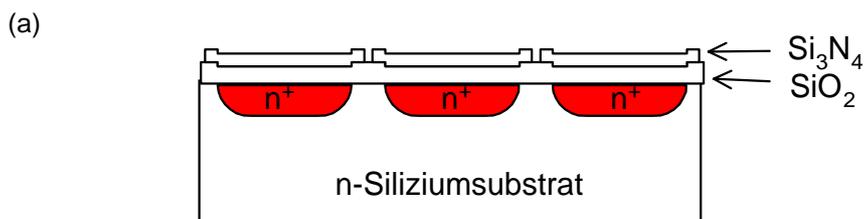


Abbildung 3.11: Berechnung der Transmission für eine Antireflexionsbeschichtung auf Silizium aus 150 nm Siliziumdioxid und unterschiedlichen Schichtdicken Siliziumnitrids.



(b)

Bereich der Detektoroberfläche	Breite [µm]	Schichtsystem SiO <sub>2</sub> / Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> [nm]
Streifenimplantation	40	150 / 90
Zwischenstreifenbereich	10	230 / 90
Mittellinie zw. Streifen	4	230 / 0

Abbildung 3.12: Aufbau des Schichtsystems zur Entspiegelung der Detektoroberfläche. a) Querschnitt durch den Detektor (nicht maßstabsgetreu), b) Parameter des Schichtsystems.

Die Berechnung der Schichtdicken für die Entspiegelung wurde im Auftrag des MPI München vom Institut für Halbleiterphysik in Frankfurt/Oder durchgeführt. Ziel der Rechnung war es, für den Bereich des Emissionsmaximums des Bildverstärkerleuchtschirms um 520 nm (siehe Abbildung 2.10) die Transmission zu optimieren. Die Ergebnisse für eine 150 nm dicke SiO<sub>2</sub>-Schicht sind in Abbildung 3.11 dargestellt. Man erhält in Abhängigkeit von der Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> Schichtdicke eine fast 100-prozentige Transmission im Bereich um 500 nm. Aufgrund dieser Ergebnisse wurden die Detektoren BONNET 3 und BONNET 4 bei der Herstellung mit den in Abbildung 3.12 angegebenen Schichtsystemen versehen. Anstatt die aktive Fläche des Detektors mit einem gleichmäßigen Schichtsystem aus SiO<sub>2</sub> und

$\text{Si}_3\text{N}_4$  zu versehen, wurde versucht, die unterschiedliche Quanteneffizienz im Streifen- und Zwischenstreifenbereich durch leicht veränderte Schichtparameter aneinander anzugleichen. Der Bereich der Streifenimplantation ist mit 150 nm  $\text{SiO}_2$  und 90 nm  $\text{Si}_3\text{N}_4$  beschichtet. Mit diesen Schichtdicken ergibt sich die maximale Transmission für den Wellenlängenbereich um 515 nm. Damit erhält der Bereich, in dem es aufgrund der geringen Eindringtiefe der optischen Photonen zu Effizienzverlusten kommt, eine Antireflexionsbeschichtung mit maximaler Transmission. Im Zwischenstreifenbereich, wurde hingegen die  $\text{SiO}_2$  Schichtdicke auf 230 nm vergrößert, so daß sich die Transmission im relevanten Wellenlängenbereich etwas verschlechtert. Damit wird die bessere Ladungssammlungseffizienz des Zwischenstreifenbereichs im Vergleich zur Effizienz des Streifenimplantation kompensiert. In dem Bereich der Mittellinie zwischen zwei Streifen mußte die  $\text{Si}_3\text{N}_4$  Beschichtung auf einer Breite von 4  $\mu\text{m}$  bedingt durch den Herstellungsprozess des Detektors komplett weggelassen werden (siehe Abbildung 4.2).

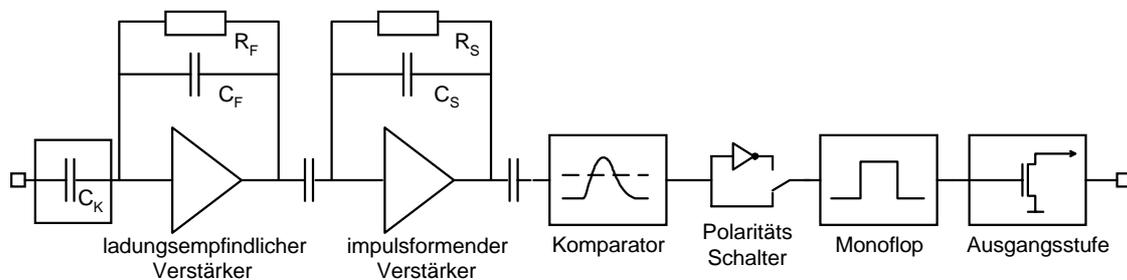
### 3.4.2 Detektorelektronik

Die Detektorelektronik, die die Ladungssignale des Silizium-Streifendetektors verstärkt und die Ortsinformation eines Signals digitalisiert, wurde für das hier aufgebaute Detektorsystem in einem analogen und einem digitalen Chip getrennt realisiert. Der getrennte Aufbau von digitalem und analogem Chip hat den Vorteil, daß beide Chips unabhängig voneinander entwickelt werden konnten. So wurden für die ersten Prototypen des Detektorsystems teilweise Elektronikchips benutzt, die für andere Anwendungen konzipiert waren, und deshalb bereits verfügbar waren [TRE98]. Im Laufe der Projektlaufzeit wurde in unserer Arbeitsgruppe ein spezieller digitaler Chip (MUX128) entwickelt hergestellt. Ein analoger Verstärkerchip (CA1) mit auf die Anwendung abgestimmten Parametern wurde von der Firma IDE, Oslo entwickelt und stand erst zum Ende der Projektlaufzeit zu Verfügung. Die folgende Beschreibung stellt die letzte Entwicklungsstufe des Detektorsystems vor, die auf den beiden speziell entwickelten Chips basiert.

#### 3.4.2.1 Analoger Verstärkerchip

Der analoge Verstärkerchip CA1 basiert auf der Architektur eines binären Auslesechips (Abbildung 2.15). Jeder Kanal hat ein Bondpad am Eingang, einen ladungsempfindlichen Verstärker, einen impulsformenden Verstärker, einen Komparator und eine Ausgangsstufe mit einem Bondpad. Bei der Spezifikation des Chips für die hier vorgesehene Anwendung mußten die einzelnen Baugruppen speziell auf den zuvor beschriebenen Silizium-Streifendetektor und die Parameter des Experiments abgestimmt werden. So wurde der Silizium-Streifendetektor ohne Koppelkapazitäten hergestellt. Jeder Kanals ist daher am Eingang mit einer Koppelkapazität auf dem Verstärkerchip versehen, um den Detektorleckstrom nicht in den ladungsempfindlichen Verstärker fließen zu lassen. Der Ladungsempfindliche- und der impulsformende Verstärker sind von ihren Zeitkonstanten her so entworfen worden, daß aufeinander folgende Signale in einem Abstand von 250 ns

in einem Kanal ohne Totzeit verarbeitet werden können. Das ist notwendig, um bei einer Anregung mit 4 MHz das Signal eines Streifens, der bei einem Burstereignis mehrmals direkt hintereinander getroffen wird, ohne Verlust detektieren zu können. Hinter dem impulsformenden Verstärker folgt ein Komparator, der die Signalamplitude mit einem von außen eingestellten Wert vergleicht. Wenn das Signal die Schwelle übersteigt, wird ein digitales Ausgangssignal erzeugt. Der digitale Impuls wird durch eine weitere Baugruppe (Monoflop) auf eine Länge von 250 ns gebracht und gelangt dann zur Ausgangsstufe. Da der analoge Chip für n- und p-Seite des Detektors eingesetzt wird, verarbeitet der Komparator Signale beider Polarität. Gleichzeitig befindet sich zwischen Komparator und Monoflop ein hinzuschaltbarer Inverter, der so eingestellt wird, daß die Signale, die zur Ausgangsstufe gehen, für n- und p-Seite des Detektors immer die gleiche Polarität haben. Die Ausgangsstufe ist als geschaltete Stromquelle ausgeführt ('open drain') und ist damit kompatibel zu den Eingängen des im folgenden vorgestellten digitalen Chips.



Koppelkapazität  
zum Detektor

Abbildung 3.13: Kanal des CA1 Verstärkerchips (vereinfachtes Blockdiagramm)

Der CA1 besteht aus 128 voneinander unabhängigen Kanälen, deren Aufbau in Abbildung 3.13 dargestellt ist. Die verschiedenen Parameter des Chips, wie z.B. die Zeitkonstanten der beiden Verstärkerstufen, die Schwellenspannung des Komparators, die Pulsbreite des Monoflops und der Strom der Ausgangsstufe werden durch Strom- und Spannungseingänge für alle 128 Kanäle des Chips gleichzeitig von außen eingestellt. Neben diesen analogen Biaseingängen besitzt der Chip noch ein 258 Bit langes Steuerschieberegister, mit dem man individuelle Kanäle einzeln testen und maskieren und die Polarität und den Kalibrationsmodus selektieren kann.

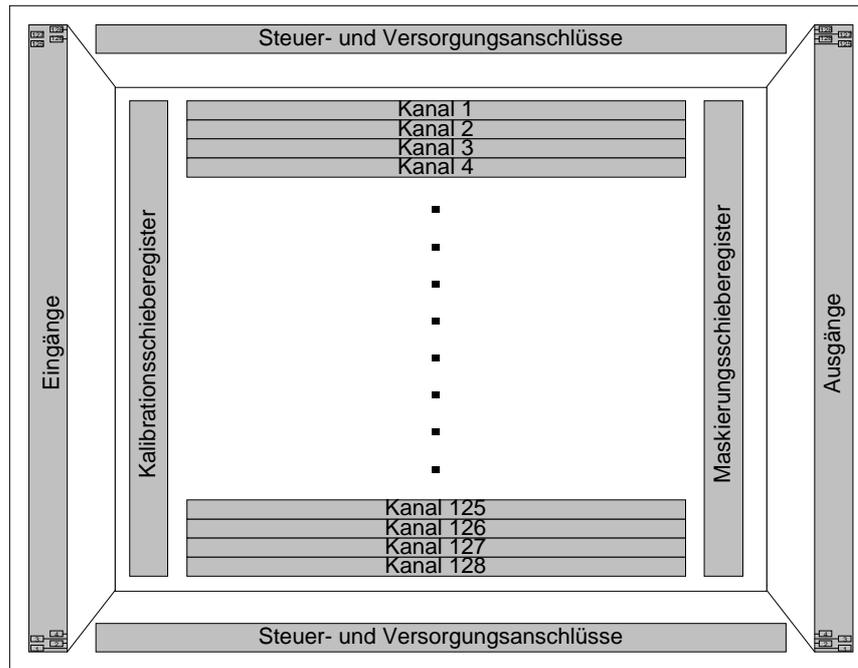


Abbildung 3.14: Anordnung der Funktionsblöcke des CA1 Verstärkerchips

Die Steuerspannungen und Steuerströme zur Kontrolle der Funktionen des CA1 Chips sind in Tabelle 3.3 aufgelistet. Bis auf die Schwellenspannung des Komparators  $V_{thr}$ , die während des Betriebs verändert werden kann, werden alle Biassignale mit Potentiometern auf dem Detektorhybrid erzeugt. Die dabei fest eingestellten Werte orientieren sich bei allen Signalen an den Standardeinstellungen, wie sie im Datenblatt des CA1 Chips angegeben werden. Zusätzlich zu den Biaseingängen gibt es noch die Kalibrationsleitung  $Cal$ , über die ein zuvor über das Kalibrationsschieberegister selektierter Kanal mit einem Ladungssignal angesteuert werden kann. Damit kann man die Funktion jedes einzelnen Kanals auch ohne Signale vom Detektor überprüfen und die Verstärkung und das Rauschverhalten messen. Mit den ersten 128 Bit des Steuerschieberegisters wird ein einzelner Kanal zur Kalibration selektiert. Mit den nächsten 128 Bit kann man die Ausgänge der Kanäle individuell maskieren, um etwa einen zu stark rauschenden Kanal abzuschalten. Mit den beiden letzten beiden Bits des Steuerschieberegisters wird die Polarität und der Kalibrationsmodus selektiert (siehe Tabelle 3.3).

Name	Nummer	Funktionsbeschreibung	Gültigkeitsbereich
$Pol$	258	Steuerung des Schalters zum Umschalten der Polarität	gesamter Chip
$CalEnable$	257	Schaltet den Kalibrationsmodus ein	gesamter Chip
$MaskReg$	129-256	Maskierung eines Kanals (ein oder mehrere Kanäle gleichzeitig möglich)	individueller Kanal
$CalReg$	1-128	Aufschalten eines Eingangs auf $Cal$ -Leitung (nur ein Kanal gleichzeitig)	individueller Kanal

Tabelle 3.3: Funktion der einzelnen Bits des Steuerschieberegisters im CA1 Chip.

Name	Art	Funktionsbeschreibung	Funktionsblock
<i>Ipre</i>	Strom	Arbeitsstrom des ladungsempfindlichen Verstärker	ladungsempfindlicher Verstärker
<i>Vfp</i>	Spannung	Größe des Rückkoppelwiderstands im ladungsempfindlichen Verstärker	ladungsempfindlicher Verstärker
<i>Isha</i>	Strom	Arbeitsstrom des impulsformenden Verstärker	impulsformender Verstärker
<i>Vfs</i>	Spannung	Größe des Rückkoppelwiderstands im impulsformenden Verstärker	impulsformender Verstärker
<i>Vrc</i>	Spannung	Größe des Widerstands des RC-Glieds vor dem Komparator	Komparator
<i>Iota</i>	Strom	Arbeitsstrom des Komparators	Komparator
<i>Vthr</i>	Spannung	Schwellenspannung des Komparators	Komparator
<i>Itrg</i>	Strom	Breite des Monoflopsignals	Monoflop
<i>Iout</i>	Strom	Stromsignal der Ausgangsstufe	Ausgangsstufe
<i>Cal</i>	Ladung	Injektion eines Ladungssignals	Eingang
<i>RegIn</i>	Dig. Ein.	Eingang des Steuerschieberegisters	Steuerschieberegister
<i>RegClk</i>	Dig. Ein.	Takt des Steuerschieberegisters	Steuerschieberegister
<i>RegOut</i>	Dig. Aus.	Ausgang des Steuerschieberegisters	Steuerschieberegister

Tabelle 3.4: Steureranschlüsse des CA1 Chips. Bis auf den Ausgang des Steuerschieberegisters sind alle Anschlüsse Eingänge.

### 3.4.2.2 Digitaler Chip

Die 128 Ausgangssignale vom CA1 Chip müssen alle 250 ns von jeder Detektorseite aus zur Bildverarbeitung an den Parallelrechner übertragen werden. Um nicht 256 Datenleitungen zwischen Detektormodul und dem Rechner implementieren zu müssen, werden die vom CA1 kommenden Daten von dem dahinter angeschlossenen digitalen Chip (MUX128) teilweise serialisiert. Die grundsätzliche Funktion dieses Chips besteht darin, 128 Eingänge mit einer Frequenz von 4 MHz abzutasten und auf 16 Ausgangsleitungen mit 32 MHz umzusetzen. Damit erhält man einen Kompromiß zwischen geringer Anzahl von Datenleitungen und nicht zu hoher Taktfrequenz für die Datenübertragung. Realisiert ist diese Funktion mit einem 128 Bit langen Schieberegister. Dieses Schieberegister wird am Anfang eines 4 MHz Taktes parallel mit dem Ausgangszustand des CA1 geladen. Dann wird es innerhalb von 250 ns acht mal getaktet (32 MHz). An jeder achten Schieberegisterzelle befindet sich ein Abgriff mit einem Ausgangspad. Damit ergeben sich 16 Ausgänge, die mit einer Taktfrequenz von 32 MHz das Ausgangssignal des CA1 innerhalb von acht Takten ausgeben.

Jeder Kanal des MUX128 hat am Eingang einen Strom-Spannungswandler, der das Stromsignal des CA1 in einen CMOS-Pegel wandelt<sup>11</sup>. Der Strom-Spannungswandler ist ein einfacher Stromkomparator, dessen Schwelle über die Steuerleitung *IREF* von außen.

<sup>11</sup> Der Ausdruck CMOS-Pegel beschreibt die Darstellung eines logische Zustands durch ein bestimmtes Potential. Eine logische 0 wird durch 0 V, eine logische 1 durch 5 V Spannung repräsentiert.

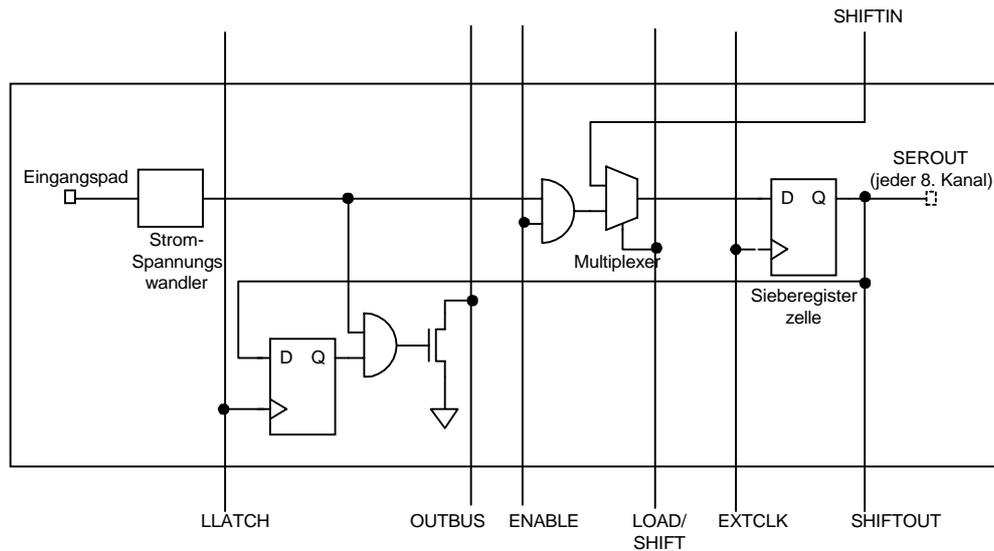


Abbildung 3.15: Blockschaltbild eines Kanals im MUX128. Die Steuersignale sind für alle 128 Kanäle gleich. *SHIFTIN* und *SHIFTOUT* zweier benachbarter Kanäle sind jeweils miteinander verbunden; jeder achte Kanal hat ein nach außen geführtes Ausgangspad *SEROUT<sub>n</sub>*.

eingestellt wird. Wenn das Eingangssignal diese Schwelle übersteigt wird am Ausgang des Strom-Spannungswandlers ein CMOS Signal erzeugt. Es wurde hier eine einstellbare Schwelle vorgesehen, um die Kompatibilität des MUX128 zu anderen analogen Verstärkerchips zu gewährleisten, die eventuell mit unterschiedlichen (und nicht einstellbaren) Stromausgängen arbeiten. Hinter dem Strom-Spannungswandler befinden sich ein Multiplexer und ein Flipflop. Über den Multiplexer, der mit dem Signal *LOAD/SHIFT* umgeschaltet wird, kann entweder der Ausgang des Strom-Spannungswandlers oder der Ausgang des Flipflops des vorherigen Kanals (*SHIFTIN*) auf den Dateneingang des Flipflops geschaltet werden. Getaktet werden alle 128 Flipflops mit dem Taktsignal *EXTCLK*. Zusätzlich befindet sich noch ein UND-Gatter hinter dem Ausgang des Strom-Spannungswandlers, mit dem die Signale aller Kanäle gleichzeitig abgeschaltet werden können (*ENABLE*). Mit einer weiteren Speicherzelle in jedem Kanal kann für Testzwecke das Ausgangssignal des Strom-Spannungswandlers auf eine spezielle Ausgangsleitung gelegt werden (*OUTBUS*), um damit einzelne Kanäle testen zu können, ohne das Schieberegister auslesen zu müssen. Jede achte Schieberegisterzelle hat einen Abgriff, der über ein Ausgangspad zugänglich ist. Damit hat der Chip 16 Ausgangsleitungen (*SEROUT1* bis *SEROUT16*).

Die Abfolge der Steuersignale und die Reihenfolge der Datenbits an den Ausgängen des MUX128 innerhalb einer Auslesesequenz ist in Abbildung 3.16 als Zeitdiagramm dargestellt. *EXTCLK* und *LOAD/SHIFT* sind die globalen Steuersignale des Chips. *SEROUT1* ist der Abgriff des Schieberegisters am Ausgang des 8. Kanals, *SEROUT2* entsprechend der Abgriff des Schieberegisters am Ausgang des 16. Kanals. Alle weiteren Ausgangssignale sind zur besseren Übersicht nicht dargestellt, folgen aber demselben Prinzip.

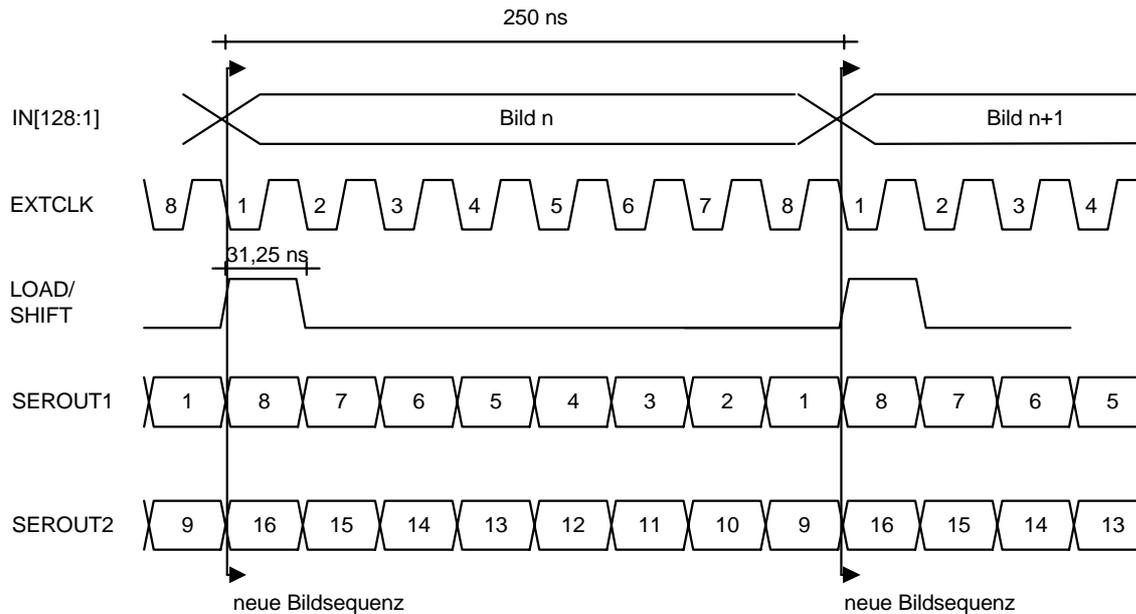


Abbildung 3.16: Zeitlicher Ablauf der Steuersignale im MUX128

Das Taktsignal EXTCLK läuft mit 32 MHz und taktet die Schieberegisterzellen jeweils auf die fallende Flanke. Im ersten Takt eines Auslesezyklus ist das LOAD/SHIFT Signal aktiv, und der Zustand aller 128 Eingänge des MUX128 wird in die Schieberegisterzellen getaktet. In diesem ersten Takt liegt dann an SEROUT1 der Zustand des Kanals 8, an SEROUT2 der Zustand des Kanals 16, usw. an. Im zweiten Takt ist LOAD/SHIFT nicht mehr aktiv, und die Multiplexer schalten die Schieberegisterzellen hintereinander. Damit

Name	Typ	Funktionsbeschreibung	Pegel
IN[128:1]	Eingang	Eingänge zu den Strom-Spannungswandlern	einstellbar über IREF (s.u.)
SHIFTIN	Eingang	SHIFTIN Signal des obersten Kanals auf dem Chip (Kanal 1)	CMOS
SEROUT[16:1]	Ausgang	Ausgangssignale des Schieberegisters (Abgriff jeder 8. Zelle)	CMOS
EXTCLK	Eingang	Taktsignal für alle Schieberegisterzellen	CMOS
LOAD/SHIFT	Eingang	Schaltet zwischen Laden und Schieben des Schieberegisters um	CMOS
LLATCH	Eingang	Lädt die Speicherzelle eines Kanals zur Selektion für den OUTBUS	CMOS
ENABLE	Eingang	Aktiviert die Signale aller Kanäle	CMOS
OUTBUS	Ausgang	Kontrolleitung zum Testen der Signale von zuvor selektierten Kanälen	CMOS ('open drain')
IREF	Eingang	Stellt die Schwelle des Strom-Spannungswandlers ein	30 $\mu$ A - 200 $\mu$ A (Strom fließt aus dem Chip heraus)

Tabelle 3.5: Ein- und Ausgangssignale des MUX128 Chips.

liegt im zweiten Takt an SEROUT1 der Zustand des Kanals 7 an (bei allen anderen SEROUT Signalen jeweils entsprechend). Innerhalb von acht Takten werden so die 128 Bit die im ersten Takt abgespeichert wurden nacheinander auf 16 SERTOUT Leitungen ausgegeben. Nach dem 8. Takt beginnt dann die Sequenz für das nächste Bild.

Der MUX128 wurde im  $2,4\mu\text{m}$  CMOS Prozeß von MIETEC entworfen und hergestellt und basiert in Teilen auf einem ähnlichen Chip (SCALER128), der für den Einsatz von Silizium-Streifendetektoren in zählenden Anwendungen in unserer Arbeitsgruppe entworfen wurde [FIS96].

### 3.4.2.3 Aufbau des Detektorhybrids

Der doppelseitige Silizium-Streifendetektor, die CA1 Chips und die MUX128 Chips werden gemeinsam auf eine Trägerplatine geklebt und durch Bonddrähte elektrisch angeschlossen (Abbildung 3.17). Die Trägerplatine – das Detektorhybrid – ist eine doppelseitige Feinleiterplatine aus einem 1 mm dicken Glasfaserepoxid Basismaterial auf der vergoldete Leiterbahnen zur Kontaktierung der Elektronikchips aufgebracht sind.

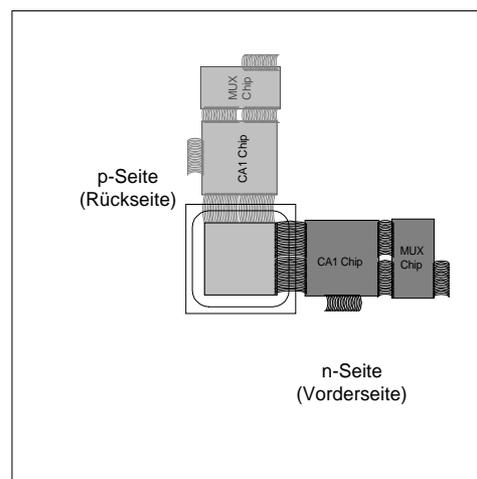


Abbildung 3.17: Anordnung des doppelseitigen Silizium-Streifendetektors und der Elektronikchips auf dem Detektorhybrid. Die Chips für die p-Seite des Detektors sind auf der Rückseite des Detektorhybrids angebracht.

Der Detektor wird zentral auf dem Detektorhybrid in eine Öffnung eingepaßt, so daß die Anschlußpads beider Detektorseiten zugänglich sind. Auf Ober- und Unterseite des Detektorhybrids wird jeweils ein CA1 Chip und ein MUX128 nebeneinander geklebt. Beim Vorgang des Bondens wird ein dünner Draht aus Aluminium oder Gold (typisch  $17\ \mu\text{m}$  bis  $25\ \mu\text{m}$  dick) mittels Ultraschall auf ein Bondpad aufgeschweißt und mit einem weiteren Bondpad am anderen Ende des Drahts verbunden. Mit dieser Technik werden die Anschlußpads von Detektor, Elektronikchips und dem Detektorhybrid untereinander elektrisch verbunden.

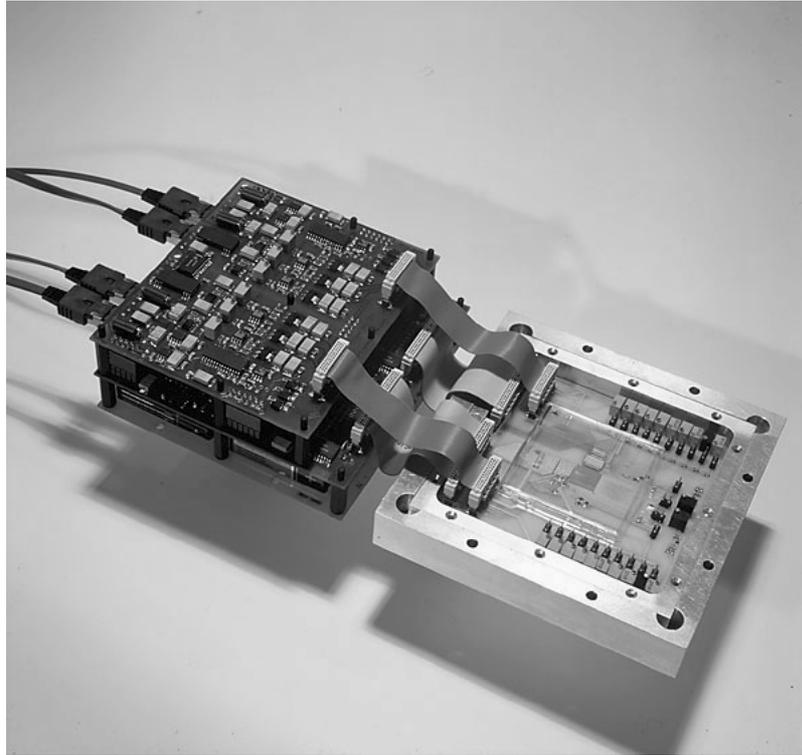


Abbildung 3.18: Komponenten des Detektormoduls. Im dem aufgeklappten Aluminiumrahmen ist das Detektorhybrid montiert (hier noch ohne Silizium-Streifendetektor). Daneben befinden sich die Platinen für die Versorgung, Datenübertragung und Depletionsspannungsversorgung (von oben nach unten).

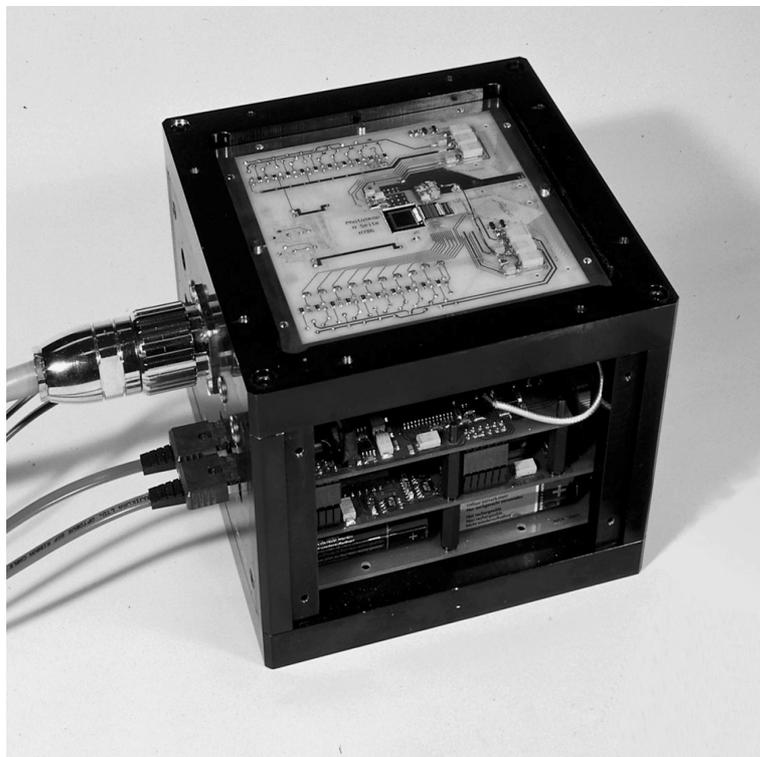


Abbildung 3.19: Photoskop Detektormodul mit geöffneter Detektorhybridabdeckung und ohne Seitendeckel. Links sind die vier Glasfaserleitungen für die Datenübertragung und das Kabel für die Spannungsversorgung zu sehen.

Neben den Chips mit der Detektorelektronik befinden sich noch einige Potentiometer auf dem Hybrid, mit dem die verschiedenen Steuerspannungen und -ströme für die Chips eingestellt werden. Die Detektorelektronik auf dem Hybrid ist für n- und p-Seite des Detektors vollkommen identisch und galvanisch voneinander getrennt. Die galvanische Trennung ist deshalb wichtig, da für die Depletion des Detektors zwischen der n- und p-Seite eine Potentialdifferenz von bis zu 130 V angelegt wird. Von jeder Seite des Detektorhybrids führen drei Stecker zu der nachfolgenden Steuer- und Signalverarbeitungselektronik. Auf einem 50-poligen Stecker befinden sich die Steuer und Datensignale des MUX128 Chips, ein 26-poliger Stecker führt die Versorgungsspannungen für den CA1 und den MUX128, die Kontrolleitungen für das Steuerschieberegister im CA1 und die von außen einstellbare Schwellenspannung des Komparators. Mit einem weiteren zweipoligen Stecker kann ein in der Amplitude einstellbares Stufensignal auf das Detektorhybrid übertragen werden, mit dem ein Ladungssignal zur Kalibration und Test der Detektorelektronik erzeugt wird.

### 3.4.3 Signalübertragung und Interface zum Parallelrechner

Die Steuerung der Detektorelektronik und die Übertragung der Signaldaten zum Parallelrechner wird innerhalb des Detektormoduls von weiteren elektronische Komponenten übernommen. Wie schon auf dem Detektorhybrid erfolgt die Datenverarbeitung für n- und p-Seite weiterhin unabhängig voneinander und galvanisch getrennt. Um diese galvanische Trennung aufrecht zu halten, wurde für die Datenübertragung zum Parallelrechner eine optische Glasfaserstrecke vorgesehen. Um den Aufwand für das Protokoll der Datenübertragung möglichst gering zu halten, wurde eine Glasfaserstrecke mit mehreren parallelen Datenleitungen verwendet (OPTOBUS-System von Motorola). Das OPTOBUS-System überträgt Daten bidirektional mit einer Busbreite von jeweils 10 Bit und Übertragungsraten von bis zu 400 MHz. Für jede Detektorseite wurde eins dieser Systeme verwendet. Da der Datenbus nur 10 Bit breit ist, der MUX128 Chips aber 16 Ausgänge hat, müssen die Daten noch einmal konvertiert werden. Dafür befindet sich auf der Platine mit den Optobus-Systemen ein programmierbarer Logikbaustein ('complex programmable logic device', CPLD), mit dem die Daten von 16 Bit und 32 MHz auf 8 Bit und 64 MHz umgesetzt werden (siehe Abbildung 3.20). Zusätzlich enthält das CPLD logische Funktionen, mit der die Detektorelektronik gesteuert wird. Die Detektordaten werden mit jeweils einem weiteren OPTOBUS-System auf einer Interfacekarte empfangen und dort mit einer Anzahl von CPLD Bausteinen wieder in ein paralleles Datenformat umgesetzt, das dann vom Parallelrechner verarbeitet werden kann.

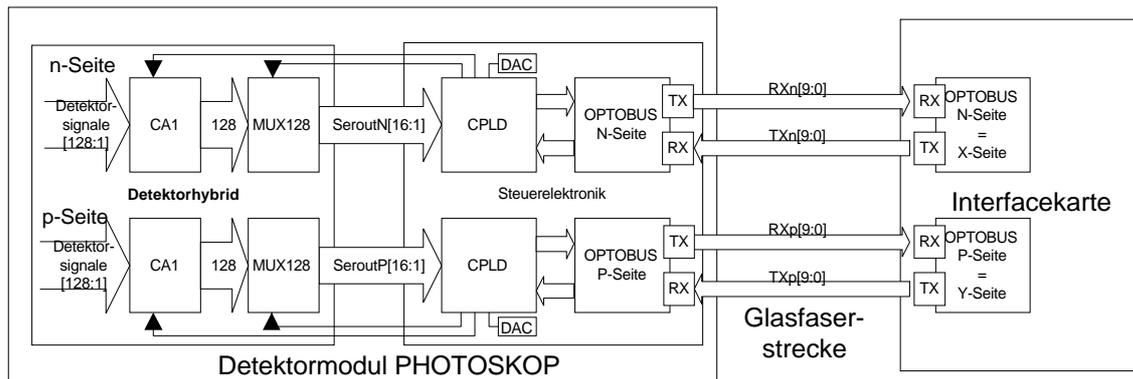


Abbildung 3.20: Signalübertragung der Detektordaten zwischen Detektormodul und Interfacekarte. Im Detektormodul sind die Potentiale von *n*- und *p*-Seite galvanisch voneinander getrennt (schraffierter Bereich).

Zusätzlich zum Detektorhybrid und der Leiterplatte mit der digitalen Steuerelektronik (CPLD und OPTOBUS-System) befinden sich noch zwei weitere Platinen im Detektormodul (siehe Abbildung 3.21). Auf der einen Platine werden die von außen über ein externes Netzteil zugeführten Versorgungsspannungen für die Detektorelektronik rauscharm stabilisiert. Mit einem Digital-Analog-Konverter (DAC) wird die Schwellenspannung des Komparators und die Spannung für die Kalibration erzeugt. Auf der anderen Platine befinden sich fünf Photobatterien mit jeweils 22,5 V Spannung, die die Depletionsspannung des Detektors von 112,5 V liefern.

Im Interfacemodul aus Abbildung 3.21 befinden sich die Interfacekarte mit den OPTOBUS-Systemen (Optointerface) und zwei weitere Karten, die über eine Reihe von Flachbandkabeln mit dem Parallelrechner verbunden werden. Diese Datenkarten sind mit CPLDs bestückt und parallelisieren das Datenformat derart, daß alle 125 ns ein Halbbild auf den 2 x 64 Leitungen an den Parallelrechner geliefert wird. Auf dem Optointerface befindet sich des weiteren noch eine Schnittstelle zu einem PC. Mit einem Steuerprogramm, das auf dem PC läuft, werden verschiedene Parameter des Detektormoduls eingestellt. Während des Betriebs des Detektors können so die Komparatorschwelle oder die verschiedenen Steuerregister der Elektronikchips verändert werden. Gleichzeitig erlaubt das Steuerprogramm eine Kontrolle der zum Parallelrechner übertragenen Bilder. Zum PC werden die Bilder mit einer Rate von maximal  $10^3$  Bilder pro Sekunde übertragen werden, während der Parallelrechner  $4 \times 10^6$  Bilder (!) pro Sekunde verarbeitet.

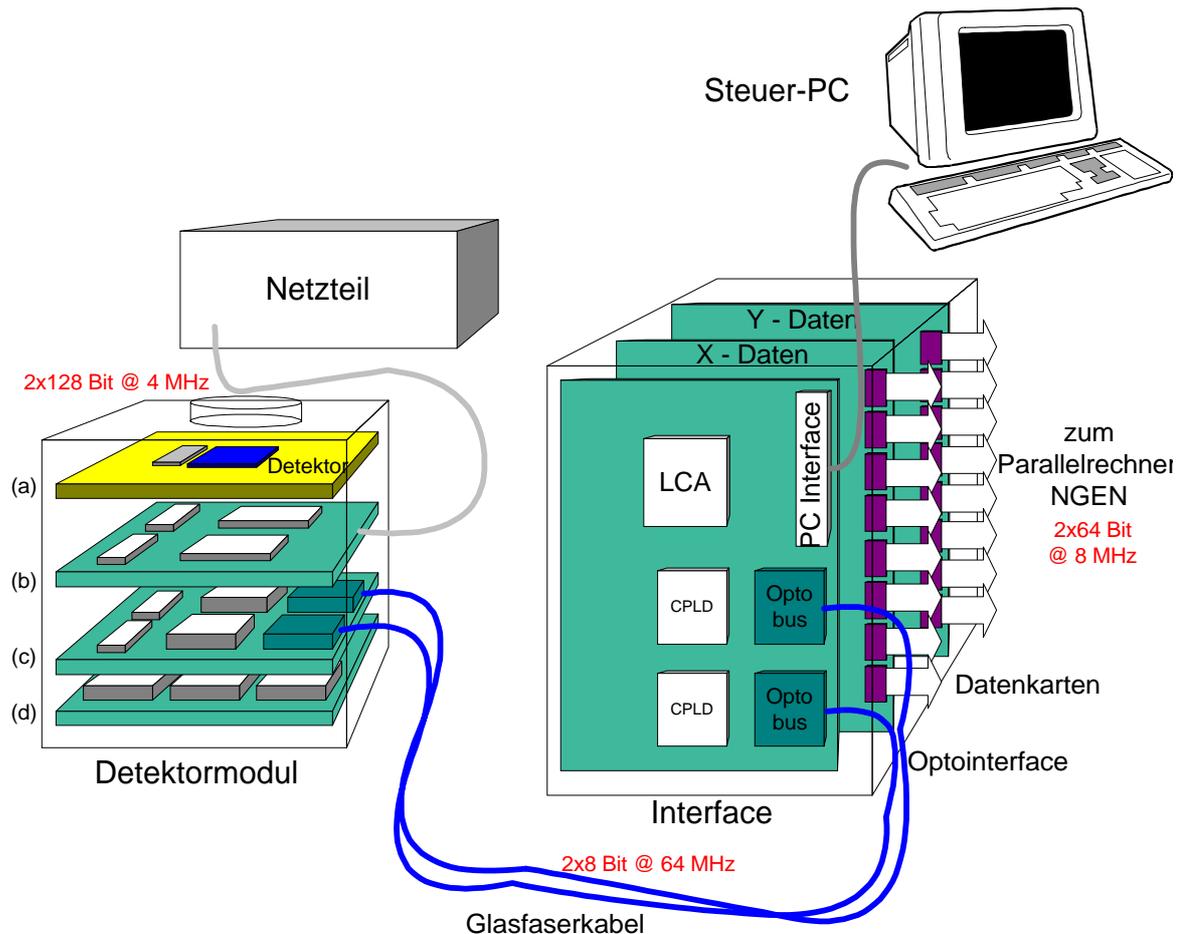


Abbildung 3.21: Baugruppen des Photoskop Detektorsystems. Das Detektormodul umfasst das Detektorhybrid (a), die Platine zur Stabilisierung der Versorgungsspannungen (b), die Steuerelektronik mit den CPLD und OPTOBUS-Systemen (c) und die Depletionsspannungsversorgung (d).

### 3.5 Bioreaktoren und Molekülsortierer

Der einfachste Probenträger, der auch für die ersten Testmessungen mit dem Gesamtsystem verwendet wurde, ist ein Objektträger mit Deckplättchen, wie er auch bei normalen Standardmikroskopen verwendet wird. Zur Herstellung einer Testprobe wird auf dem Träger  $7 \mu\text{l}$  einer stark verdünnten Lösung einer fluoreszenzmarkierten Substanz pipetiert. Das Deckplättchen, mit dem der Lösungstropfen abgedeckt wird, hat eine Größe von  $24 \times 24 \text{ mm}$ , so daß sich zwischen Objektträger und Glas ein Flüssigkeitsfilm mit einer Dicke von etwa  $12 \mu\text{m}$  ausbildet. Diese Testproben werden mit einem Immersionsöl an das Mikroskopobjektiv angekoppelt, und der Anregungsfokus wird auf die Mitte des Lösungsfilms justiert. Für molekularbiologische Untersuchungen ist diese Art von Probenträger jedoch nicht ausreichend. Die Reaktionssysteme, bei denen die Einzelmoleküldetektion zum Einsatz kommen soll, basieren allesamt auf wässrigen Lösungen. Für die meisten molekularbiologischen Experimente ist es daher notwendig, die Reaktionen in geschlossenen Systemen ablaufen zulassen, damit die Lösungen nicht verunreinigt werden und nicht eintrocknen. Gleichzeitig muß die Zufuhr, Entnahme und Vermischung von Reaktionslösun-

gen möglich sein. Für die verschiedensten molekularbiologischen Experimente sind eine ganze Vielzahl von unterschiedlich strukturierten Reaktionsgefäßen vorgeschlagen und realisiert worden<sup>12</sup>. Diese Reaktionsgefäße, auch Bioreaktoren genannt, bestehen aus verschiedenen Anordnungen von in ein Siliziumsubstrat geätzten Mikrokanälen und Volumina. Diese Strukturen sind mit einem dünnen Glas verschlossen und können durch entsprechend angebrachte Öffnungen befüllt und gespült werden. Zur Manipulation des Stofftransports können diese Strukturen zusätzlich mit Mikroventilen ausgestattet werden. Die unterschiedlichen Strukturen und die darin ablaufenden Reaktionen sind in der Arbeit der Projektpartner detailliert beschrieben [KAL98]. Exemplarisch soll jedoch Aufbau und Funktionsweise eines einfachen 1D-Reaktors und des vom IPHT Jena entwickelten Molekülsortierers erläutert werden.

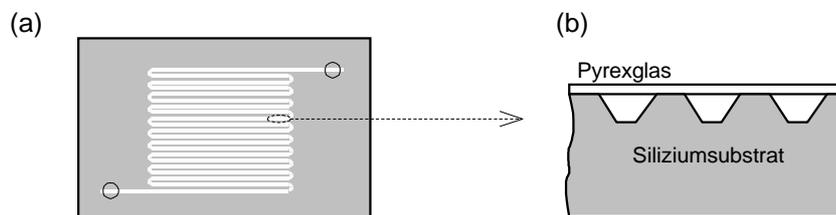


Abbildung 3.22: Einfacher mikrostrukturierten Bioreaktor. (a) Aufsicht auf einen 1D-Reaktor mit einer mäanderförmigen Kapillarstruktur. (b) Querschnitt aus dem Verbund von Siliziumwafer und Pyrexglas. Die Kanäle sind 40 - 60  $\mu\text{m}$  breit, max. 20  $\mu\text{m}$  tief und haben eine Länge von bis zu einem Meter.

Bei der Replikation (Amplifikation) von DNS/RNS in einem nicht bewegten räumlichen Medium, wie z.B. in Kapillaren oder dünnen Schichten, kann es zu örtlich unterschiedlichen Wachstumsraten kommen. Die Beobachtung der Zonen schnellsten Wachstums, der sogenannten Wanderwellen, gibt Aufschluß über die Amplifikationsraten des DNS/RNS Systems. Für die Herstellung eines eindimensionalen (1D) Reaktors, in dem solche Wanderwellen beobachtet werden sollen, wird eine lange Kapillarstruktur mäanderförmiger in ein Siliziumsubstrat geätzt. Die Abdeckung der Kapillaren erfolgt durch das anodische Bonden einer Glasschicht auf die Oberfläche des Siliziumwafers. Bei diesem Vorgang wird eine dünne Platte aus elektrisch leitendem Pyrexglas auf die Oberfläche des Siliziumwafers gelegt und unter Temperatureinwirkung und elektrischem Strom mit dem Siliziumwafer verbunden. Die Verbindung erfolgt dabei durch den Austausch von Ionen an der Grenzschicht zwischen Silizium und Pyrexglas. An den Enden der Kapillarstruktur wird das Pyrexglas durchbohrt, so daß die Kanäle von außen befüllt werden können. Zum Befüllen kann man den Kapillareffekt ausnutzen, der die Lösung von allein in die Kapillare einziehen läßt. Die Öffnungen der Kapillaren werden nach dem Befüllen versiegelt, um das Austrocknen zu verhindern. Um Reaktionslösungen im Durchfluß zu beobachten oder die

<sup>12</sup> Diese Strukturen wurden von der Arbeitsgruppe Mikrostrukturierung am IMB Jena und dem Institut für Physikalische Hochtechnologie, IPHT Jena im Rahmen des Gesamtprojekts entwickelt und hergestellt.

Reaktionsprodukte nach einer stationären Reaktion zurückzugewinnen, können Zu- und Abfluß mit Mikroschläuchen an Peristaltik- oder andern Mikropumpen angeschlossen werden, die dann die Befüllung kontrollieren.

Der Molekülsortierer, wie er in Abbildung 3.23 schematisch dargestellt ist, besteht aus einer Anordnung von mehreren parallel zueinander verlaufenden Mikrokanälen, einem zentralen Sortierkammer und vier Mikroventilen. Die Kanäle sind typisch  $100\ \mu\text{m}$  breit und  $60\ \mu\text{m}$  tief. Auf der rechten Seite der Struktur befinden sich drei Zuflußkanäle. Durch die äußeren beiden Kanäle *A* und *B* wird ein Lösungsmittel gepumpt, so daß sich ein gleichmäßiger, laminarer Flüssigkeitsstrom innerhalb der Sortierkammer ausbildet. Wenn alle vier Ventile in den Kanälen *A*, *B*, *C* und *D* offen sind, fließt das Lösungsmittel durch die Kanäle *C* und *D* gleichmäßig wieder ab. Der Flüssigkeitsstrom durch die Sortierkammer ist dabei symmetrisch zur Mittellinie. Die zu untersuchende Probensubstanz wird durch den weiteren Kanal *E* in das Volumen eingeleitet, der in der Mitte zwischen *A* und *B* liegt. Durch den symmetrischen Fluß bewegen sich dabei die Moleküle der Probensubstanz entlang der Mittellinie des Volumens – man spricht in diesem Fall auch von einer hydrodynamischen Fokussierung. Zentral innerhalb des Volumens wird der Anregungsfokus des Einzelmoleküldetektors justiert. Wenn nun markierte Moleküle durch das Volumen driften und vom Detektor erkannt werden, kann der Flüssigkeitsstrom mit Hilfe der Mikroventile asymmetrisch gemacht werden. Durch schließen der Ventile *A* und *D* wird der zentrale Flüssigkeitsstrom in den Kanal *C* geleitet; umgekehrt führt das Schließen der Ventile *B* und *C* den Strömung in Kanal *D*. Damit ist die Grundmechanismus zum Sortieren von einzelnen Molekülen aus einem kontinuierlichen Flüssigkeitsstrom heraus realisiert.

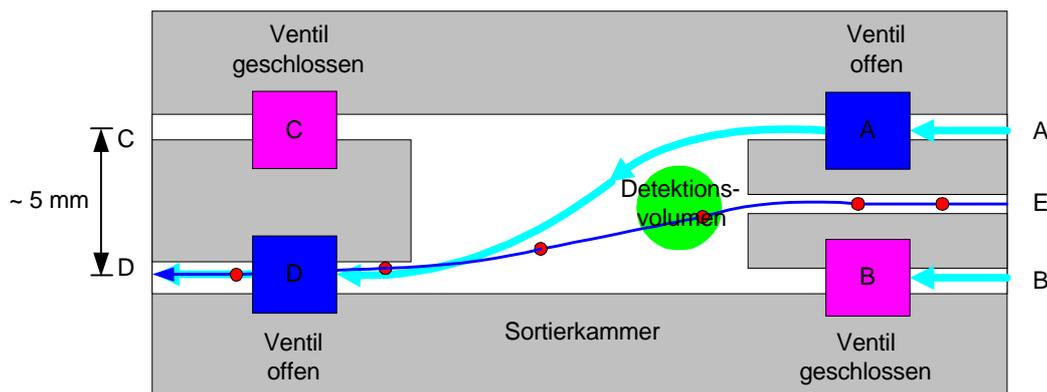


Abbildung 3.23: Schematische Darstellung der funktionalen Elemente des Molekülsortierers. Die Kanäle und das Sortiervolumen (weiß dargestellt) sind geätzte Mikrostrukturen auf einem Siliziumsubstrat (grau). Das gesamte Substrat ist mit einem dünnen Pyrexglas abgeschlossen. Die Zu- und Abführungen zu den Kanälen erfolgt über Bohrungen im Deckglas.

### 3.6 Zusammenfassung

Der experimentelle Aufbau zum orts aufgelösten Nachweis von Einzelmolekülen baut auf dem nulldimensionalen konfokalen Mikroskop auf, bei dem die Einkopplung des Laserlichts und die Abbildung der Fluoreszenzphotonen über das Mikroskopobjektiv erfolgt. Für die Untersuchung von fluoreszenzmarkierten molekularbiologischen Proben wurden verschiedene Mikrostrukturen, die von einfach strukturierten Bioreaktoren bis hin zu einem mit Mikroventilen versehenen Molekülsortierer reichen, am IMB und IPHT in Jena hergestellt. Um die Fluoreszenzphotonen mit hoher Rate detektieren zu können, wird als Sensor eine Kombination aus Mikrokanalplatten-Bildverstärker und Silizium-Streifendetektor verwendet. Beide Komponenten mußten aufgrund der hohen Anforderungen des Experiments speziell entwickelt und aufeinander abgestimmt werden. Beim Mikrokanalplatten-Bildverstärker, der von der Firma Proxitronic entwickelt und gebaut wurde, war die Forderung nach einer extrem schnelle modulation des Öffnungsverhaltens bei gleichzeitig hoher Verstärkung das hauptsächliche Entwicklungsziel. Die Quanteneffizienz des doppelseitigen Silizium-Streifendetektors für optische Photonen wurde durch eine Entspiegelungsschicht und einer optimierten Strukturierung der Detektoroberfläche verbessert. Die Entwicklung des Detektordesigns wurde am Physikalischen Institut in Bonn und am Halbleiterlabor des MPI in München vorgenommen. Die Detektorelektronik für den Silizium-Streifendetektor wurde komplett neu entwickelt und auf das Datenformat des Parallelrechners abgestimmt. Das Photoskop Detektorsystem, bestehend aus dem eigentlichen Detektormodul, einer Glasfaserstrecke zur Datenübertragung und einem Interfacemodul zum Parallelrechner, erreicht damit die geforderte Datenübertragungsrate von  $4 \times 10^6$  Bildern à 256 Bit pro Sekunde.

## 4 Messungen

Während der dreijährigen Projektlaufzeit wurden an den Komponenten der Prototyp Detektormodule und des Photoskop Detektorsystem in allen Entwicklungsstadien Messungen vorgenommen. Speziell der Silizium-Streifendetektor und die verschiedenen in den Detektorsystemen eingesetzten Elektronikchips wurden ausgiebig getestet und charakterisiert. Die Messungen an den Elektronikkomponenten der Prototyp Detektormodule sind in der Diplomarbeit von J. Treis [TRE98] beschrieben worden und eine detaillierte Charakterisierung der elektrischen und optischen Eigenschaften des Silizium-Streifendetektors wurde von L. Reger im Rahmen einer Diplomarbeit vorgenommen [REG97]. Auch wurden immer wieder verschiedenen Entwicklungsmuster des Mikrokanalplatten-Bildverstärkers in Zusammenarbeit mit dem IMB in Jena charakterisiert. Die folgenden Abschnitte beschränken sich auf die Darstellung der Messungen, die an und mit den Komponenten des Photoskop Detektorsystems gemacht worden sind.

Nachdem die einzelnen Komponenten charakterisiert und das Photoskop Detektorsystem in Bonn getestet worden war, wurde das System am IMB in Jena installiert und erfolgreich in Betrieb genommen. Daraufhin konnten die ersten orts aufgelösten Aufnahmen von fluoreszenzmarkierten Strukturen mit dem Gesamtsystem gemacht werden.

### 4.1 Charakterisierung der Systemkomponenten

Der folgende Abschnitt stellt einige Messungen vor, die am Silizium-Streifendetektor, der Detektorelektronik und am modulierbaren Mikrokanalplatten-Bildverstärker gemacht wurden und deren Ergebnisse maßgeblich Einfluß auf die Nachweiseffizienz bzw. das Signal zu Untergrund Verhältnis des Gesamtaufbaus haben.

#### 4.1.1 Quanteneffizienz des Detektors

Die Nachweisempfindlichkeit der verschiedenen Prototypen des Silizium-Streifendetektors wurde für verschiedene Lichtwellenlängen bestimmt. Dazu wurde mit einem Mikroskopaufbau die Lichtquelle auf den Detektor fokussiert und der in einem Detektorstreifen generierte Photostrom gemessen. Gleichzeitig konnte der Detektor mit einem computergesteuerten x/y-Motortisch unter dem Mikroskop verfahren werden, um so die Quanteneffizienz ortsabhängig zu messen.

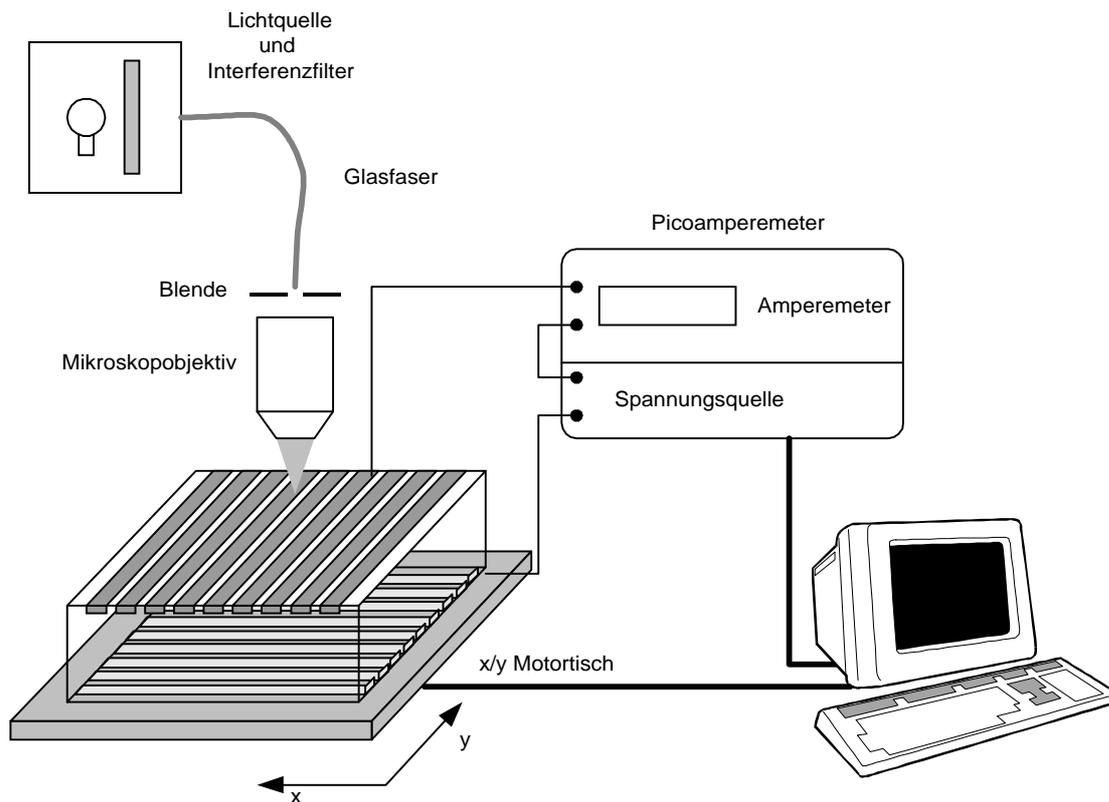


Abbildung 4.1: Meßaufbau zur ortsabhängigen Bestimmung der Quanteneffizienz der Silizium-Streifendetektoren. Bei vollständig depletiertem Detektor wird der Photostrom eines Detektorstreifens in Abhängigkeit von der Position des x/y Motortisches mit einem Picoamperemeter gemessen.

Der in Abbildung 4.1 schematisch dargestellte Mikroskopaufbau mit Motortisch ist mit einer automatischen Probe-Station (PA 200, Fa. Karl Süss) realisiert worden. Die Probe-station befindet sich zur Abschirmung gegen Licht und elektromagnetische Störungen in einer Aluminiumbox, Motortisch und Picoamperemeter werden von außen über eine GPIB-Schnittstelle von einem PC aus gesteuert bzw. ausgelesen. Das Picoamperemeter (Keithley 617) stellt neben einem hochempfindlichen Amperemeter eine Spannungsquelle zur Verfügung, mit der der Detektor für die Messung mit 120 V verarmt wird. Bei der Messung des Photostroms eines Streifens wird der jeweilige Nachbarstreifen und der Guard- und Biasring der beleuchteten Detektorseite auf Massepotential gelegt und die Depletionsspannung von der Rückseite her an den Detektor angeschlossen. Dadurch wird sichergestellt, daß nur der Photostrom des angeschlossenen Streifens gemessen wird und nicht etwa der Detektorleckstrom die Messung verfälscht. Die Lichtquelle wird mit einer Glasfaser in eins der beiden Okulartuben des Binokular-Mikroskops eingekoppelt. Durch die Verwendung einer Blende in der Zwischenbildebene des Mikroskopobjektivs (Mitutojo WF,  $\times 100$ ) wird ein Durchmesser des Lichtpunkts auf dem Detektor von  $4 \mu\text{m}$  erreicht [REG97]. Als Lichtquelle wird eine Weißlichtquelle verwendet, die mit verschiedenen Interferenzfiltern ausgestattet werden kann.

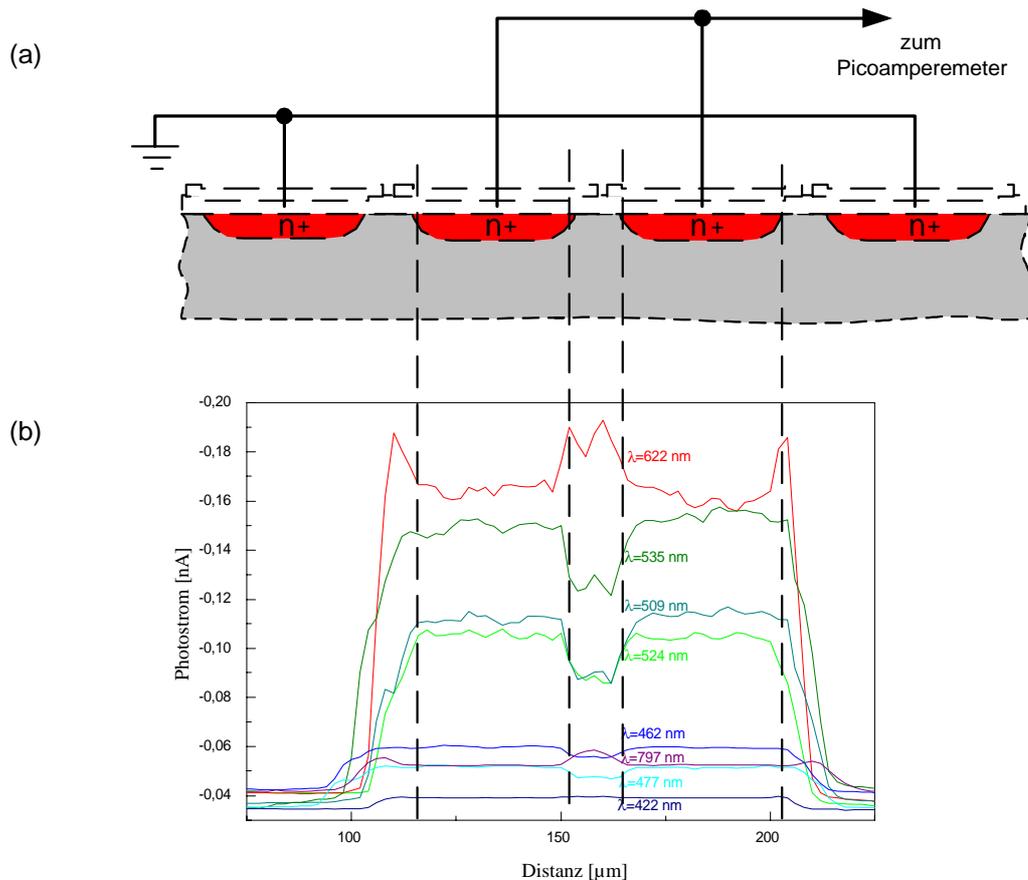


Abbildung 4.2: Messung des Photostroms auf der n-Seite von BONNDET 4. a) Querschnitt durch den Detektor an der beleuchteten Detektorseite. b) Gemessener Photostrom in Abhängigkeit von der Orstkoordinate senkrecht zur Streifenrichtung für verschieden Lichtwellenlängen.

Um den Einfluß der verschiedenen Beschichtungen zur Entspiegelung des Detektors zu charakterisieren, wird der Detektor senkrecht zur Streifenrichtung mit dem Lichtpunkt abgefahren. In Abbildung 4.2.a) sind die verschiedenen Bereiche der Detektoroberfläche von BONNDET 4 gezeigt. Man erkennt in den Photostromkurven in Abbildung 4.2. b) die verschiedenen Zonen des Detektors anhand ihrer unterschiedlichen Quanteneffizienz wieder. Die relativen Unterschiede in der Quanteneffizienz sind auf die unterschiedlichen Schichtdicken der Entspiegelungsschicht und den Einfluß der Streifenimplantation zurückzuführen (siehe Abschnitt 3.4.1.3). Um die absolute Quanteneffizienz zu bestimmen, wie sie in Abbildung 4.2 für den Bereich der Streifenimplantation dargestellt ist, wurde die auf den Detektor einfallende Lichtmenge für jede benutzte Lichtwellenlänge mit einer PIN-Diode mit bekannter spektraler Empfindlichkeit geeicht. Neben den gemessenen Werten ist in Abbildung 4.3 die theoretische Quanteneffizienz angegeben, die sich aus der Transmission des Schichtsystems und der teilweisen Absorption von Photonen in der nicht-sensitiven Implantation des Detektorstreifens ergibt [REG97].

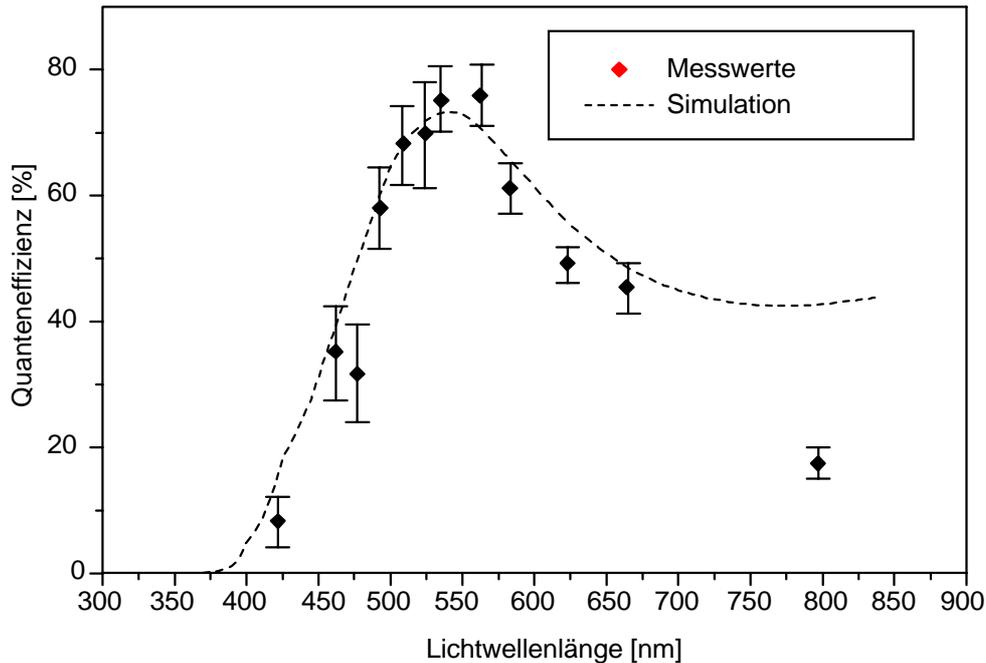


Abbildung 4.3: Gemessene und berechnete Quanteneffizienz für den Bereich der *n*-Streifenimplantation von BONNET 4 (Beschichtung: 150 nm  $\text{SiO}_2$  / 90 nm  $\text{Si}_3\text{N}_4$ ).

Bei einer Wellenlänge von 523 nm, die im Bereich des Emissionsmaximums des verwendeten Mikrokanalplatten-Bildverstärkers liegt, mißt man die in Tabelle 4.1 aufgeführten Werte für die Quanteneffizienz der verschiedenen Zonen des Detektors (*n*-Seite, Typ BONNET 4). Selbst bei einer optimalen Entspiegelung (100 % Transmission, siehe Abbildung 3.11) liegt die Quanteneffizienz des Detektors unterhalb von 100%, da ein Teil der Photonen in der ineffizienten Implantationsschicht an der Detektoroberfläche absorbiert wird. Es ist hier noch anzumerken, daß diese Art von Messung der Quanteneffizienz den dynamischen Vorgang der Ladungssammlung im Detektor nicht berücksichtigt. Der Detektor wird kontinuierlich beleuchtet und ein statischer Photostrom wird gemessen. Um den Einfluß der Ladungssammlungszeit – und damit den Einfluß der Feldgeometrie des Detektors – messen zu können, muß eine gepulste Lichtquelle verwendet werden, deren Pulsbreite kleiner als die typische Ladungssammlungszeit im Detektor ist ( $\approx 10$  ns). Gleichzeitig muß die im Detektor erzeugte Ladungsmenge für jeden einzelnen Lichtpuls mit der dafür vorgesehenen Detektorelektronik verarbeitet und gemessen werden. Leider standen in der Anfangsphase 1997, in der der Silizium-Streifendetektor charakterisiert wurde, weder eine gepulste Lichtquelle mit einem entsprechenden Emissionsspektrum noch die geeigneten Elektronikchips zu Verfügung. Die Feldgeometrie des Silizium-Streifendetektors wurde deshalb für die weitere Produktion so gewählt, daß man eine effiziente Ladungssammlung erwarten sollte (siehe Abschnitt 3.4.1.1). Damit kann angenommen werden, daß beim dynamischen (gepulsten) Betrieb des Detektors die Quanteneffizienz nicht signifikant von den Werten für den statischen Fall, wie sie in Tabelle 4.1 angegeben sind, abweicht. Wenn man die Werte der Quanteneffizienz für die verschiedenen Bereiche mit der jeweiligen Detektorfläche gewichtet, erhält man eine mittlere Quanteneffizienz des gesamten Detektors von 72 %.

Bereich der Detektoroberfläche	Schichtsystem SiO <sub>2</sub> / Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> [nm]	Quanteneffizienz [%]
Streifenimplantation	150 / 90	76,4 ± 9,4
Zwischenstreifenbereich	230 / 90	51,7 ± 6,5
Mittellinie zw. Streifen	230 / 0	57,4 ± 7,2

Tabelle 4.1: Gemessene Quanteneffizienz der n-Seite von BONNDET 4 für eine Lichtwellenlänge von 523 nm. Die mittlere, gewichtete Quanteneffizienz liegt bei 72%

#### 4.1.2 Charakterisierung der Detektorelektronik

Um die elektrischen Eigenschaften des CA1 Verstärkerchips zu charakterisieren, wurden in einem Testaufbau an einigen Exemplaren des Chips, die in eine IC-Gehäuse ('chip carrier') montiert wurden, Messungen durchgeführt. Mit diesem Testaufbau können die verschiedenen Steuerströme und -spannungen des Chips computergesteuert eingestellt werden und so deren Einfluß auf die Komparatorschwelle, das Rauschen und andere Eigenschaften des Chips bestimmt werden.

Um das Rauschen zu messen, wird über den Kalibrationseingang des Chips ein Ladungssignal bekannter Größe  $\bar{Q} = U_{Pulser} \cdot C_{Cal}$  auf den Eingang eines Kanals gepulst (siehe Abbildung 4.4). Für den Fall eines idealen (rauschfreien) Verstärkers ist das Pulshöhenspektrum  $P(Q)$  am Ausgang des Verstärkers eine Delta-Funktion, deren Amplitude gleich der Anzahl  $N$  der Eingangspulse ist. Bei einem realen (rauschenden) Verstärker geht die Delta-Funktion in eine Gauss-Funktion

$$P(Q) = \frac{N}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \exp\left(-\frac{(Q - \bar{Q})^2}{2\sigma^2}\right) \quad (4.1)$$

über, deren Standardabweichung  $\sigma$  das Maß für das Rauschen ist. Die Standardabweichung  $\sigma$  ausgedrückt in Anzahl von Elektronen ist der ENC-Wert des Verstärkers (siehe Abschnitt 2.5.1). Da der CA1 aber keinen direkten analogen Verstärkerausgang hat, kann man das Pulshöhenspektrum und damit die Standardabweichung nur indirekt messen. Im CA1 wird das verstärkte Analogsignal in einem Komparator mit einer von außen einstellbaren, festen Schwellenspannung verglichen. Solange die Schwelle oberhalb der Amplitude des Signals ist, zeigt der Komparator kein Ausgangssignal. Wenn man die Schwelle verkleinert und in den Bereich der Signalladung kommt, erzeugt der Komparator ein Ausgangssignal. Bei einem idealen Verstärker würde man einen plötzlichen Anstieg der Zählrate auf 100 Prozent der Eingangspulse erwarten. Der rauschende Verstärker macht jedoch aus dieser Stufenfunktion eine Gauss'sche Fehlerfunktion, wie sie exemplarisch in Abbildung 4.5 wiedergegeben ist. Mit der Anpassung der normierten Fehlerfunktion an die gemessenen Werte wird die Komparatorschwelle (in Ladungseinheiten)  $\bar{Q}$  und das Rauschen  $\sigma$  ermittelt:

$$G(Q) = \frac{1}{N} \int_0^Q P(Q') dQ' = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \int_0^Q \exp\left(-\frac{(Q' - \bar{Q}')^2}{2\sigma^2}\right) dQ' \quad (4.2)$$

Aus der Steigung der Fehlerfunktion im Wendepunkt ermittelt man die Standardabweichung und damit den ENC-Wert. Der 50% Wert gibt die eingestellte Komparatorschwelle wieder. Wenn man diesen sogenannten Schwellenscan für verschieden Signalladungsmengen macht, kann man den Verstärkungsfaktor des Chips in mV Ausgangsspannung pro fC Eingangsladung bestimmen. Bei Standardeinstellungen für die Steuerströme und -spannungen des CA1 Chips erhält man eine Verstärkung von 21 mV/fC.

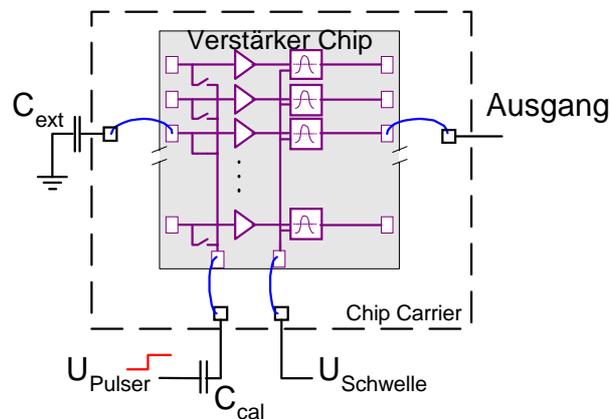


Abbildung 4.4: Beschaltung des in einen IC-Gehäuse montierten CA1 Chip zur Messung von ENC-Wert und Verstärkungsfaktor.

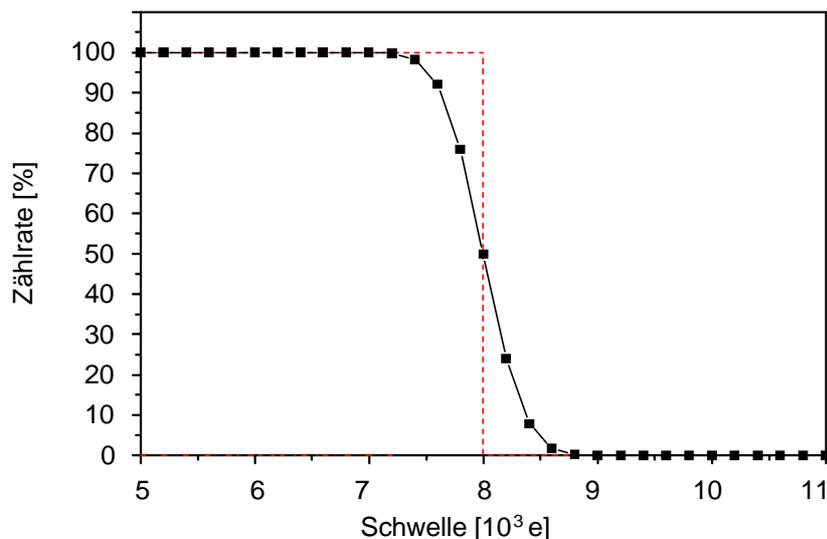


Abbildung 4.5: Zählrate am Ausgang des Komparators für einen idealen, rauschfreien Verstärker (gestrichelte Linie) und für einen realen, rauschenden Verstärker in Abhängigkeit von der Komparatorschwelle (Simulation).

Eine maßgebliche Größe zur Beschreibung des Rauschverhaltens ist der Einfluß der Eingangskapazität (Detektorkapazität) auf den ENC Wert (siehe Abschnitt 2.5.1). Um diesen Einfluß zu bestimmen, wurden an einem Verstärkereingang verschiedene externe Kondensatoren angeschlossen und jeweils der ENC-Wert gemessen (siehe Abbildung 4.6). Ohne externe Kapazität hat der CA1 Chip ein Rauschen von  $639 (\pm 20)$  Elektronen. Die Zunahme des Rauschens für zusätzliche Eingangskapazität beträgt  $42 (\pm 4)$  Elektronen pro pF.

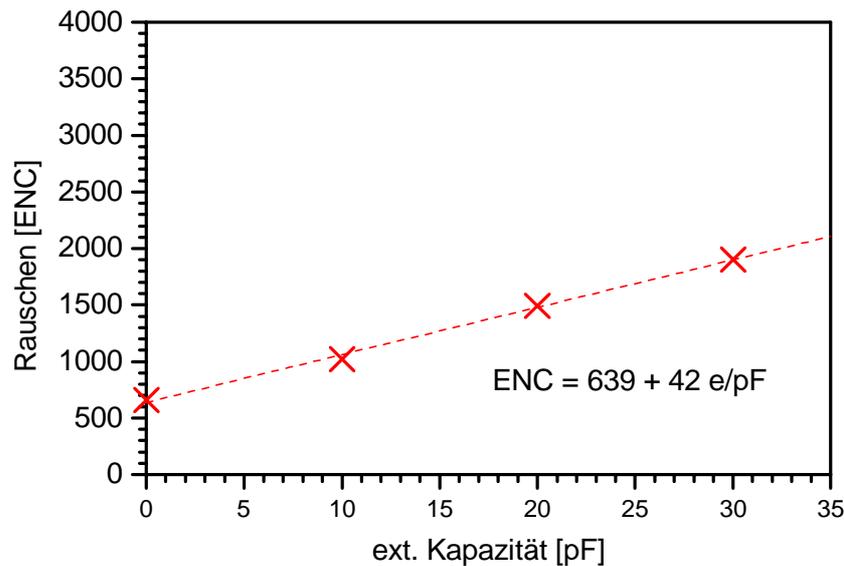


Abbildung 4.6: Rauschen des CA1 Chips in Abhängigkeit von der kapazitiven Last am Eingang des Verstärkers.

Dadurch, daß der CA1 Chip für diesen Meßaufbau in einem IC-Gehäuse montiert worden ist, konnte immer nur eine begrenzte Anzahl von Kanälen eines Chips getestet werden, da für diesen Aufbau nur 40 polige IC-Gehäuse zur Verfügung standen. Messungen mit den Werten für alle 128 Kanäle konnten an dem mit CA1 und MUX128 bestückten Detektorhybrid vorgenommen werden. Mit dem kompletten Aufbau der Detektorelektronik wurden Schwellenscans für jeden Kanal gemacht, um die Funktion zu testen und Schwelle und Rauschen jedes Kanals zu messen. Mit Messung der Schwellen aller Kanäle kann deren Variation um den Mittelwert – die Schwellendispersion – gemessen werden. Diese kommt dadurch zustande, daß die Prozessparameter bei der Chipherstellung innerhalb gewisser Grenzen schwanken und so die Verstärkungsfaktoren der einzelnen Kanäle variieren.

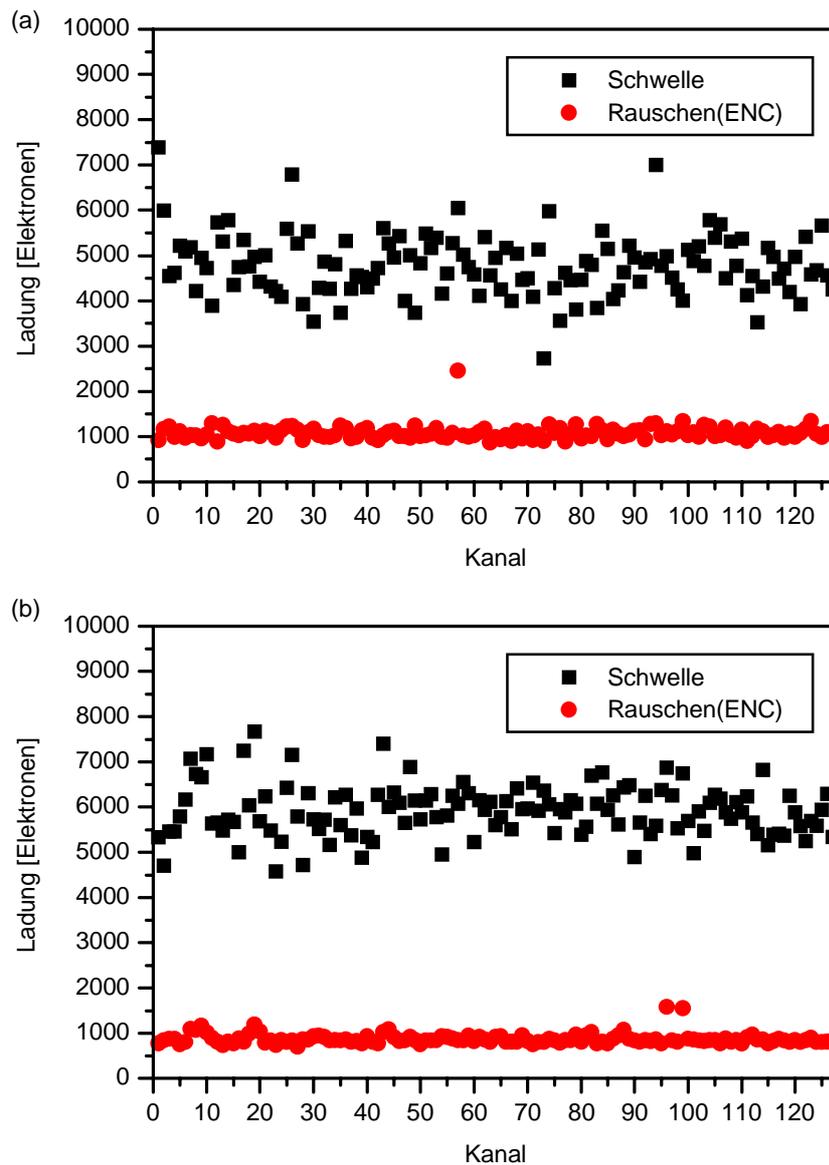


Abbildung 4.7: Schwellenscans für (a) n- und (b) p-Seite des Detektormoduls. Schwellenspannung für die n-Seite =  $-16\text{ mV}$  (entspricht 4755 Elektronen) und die p-Seite =  $20\text{ mV}$  (entspricht 5944 Elektronen)

Parameter	Einheit	Wert
Rauschen (ENC)	Elektronen	$639 + 42\text{ pF}^{-1}$
Verstärkung	mV/fC	21
Schwellendispersion	Elektronen	530

Tabelle 4.2: Rauschen und Verstärkung des CA1 Chips

Die Schwellenscans des komplett mit allen Chips bestückten Detektormoduls (aber noch ohne Detektor) in Abbildung 4.7 geben für jeden Kanal Rauschen und Schwelle an. Alle der 128 Kanäle auf jeder Detektorseite sind voll funktionsfähig. Es gibt nur auf der n-

Seite einen und auf der p-Seite zwei Kanäle die etwas stärker rauschen. Auffällig ist allerdings, daß das mittlere Rauschen aller Kanäle auf beiden Detektorseiten nun bei etwa 1000 Elektronen liegt, wobei die Messung an einem einzelnen CA1 Chip einen ENC-Wert von nur 639 Elektronen zeigt. Die Zunahme an Rauschen ist wahrscheinlich durch die in dem kompakten Detektormodul aktive digitale Elektronik zu erklären, deren Signale teilweise auf die analoge Verstärkerelektronik übersprechen. Um die Nachweisempfindlichkeit, bzw. das Signaltreffer zu Rauschtreffer Verhältnis des gesamten Systems zu optimieren, muß die Schwellenspannung so eingestellt werden, daß sie einerseits weit genug vom Rauschen entfernt ist aber andererseits noch kleine Detektorsignale nachgewiesen werden können. Der Zusammenhang zwischen Rauschtrefferrate  $NHR$ , Schwelle  $Q$ , ENC-Wert und der Zeitkonstanten  $\tau$  des Verstärkersystems wird in [RIC45] mathematisch analysiert. In [OVE98] wird eine Näherung für den auch im CA1 verwendeten CR-RC impulsformenden Verstärker angegeben:

$$NHR = \frac{1}{4\sqrt{3}\tau} \exp\left(-\frac{Q^2}{2 \cdot ENC^2}\right) \quad (4.3)$$

Damit ergibt sich für den CA1 (mit  $\tau = 250$  ns) bei einem Verhältnis von Schwelle zu Rauschen von 4 eine theoretische Rauschtrefferrate von 194 Hz die bei einem Verhältnis von 5 (6) auf 2,2 Hz (0,009 Hz) sinkt. Es war jedoch nicht möglich die Abhängigkeit der Rauschrate von der eingestellten Schwelle verlässlich zu messen. Für hohe Schwellenspannungen ( $Q = 4000$  bis  $6000$  Elektronen) ist die Rauschrate sehr gering und kaum quantitativ zu bestimmen. Wenn man die Schwellenspannung senkt, um die Rauschrate ansteigen zu lassen, kommt der Verstärkerchip plötzlich in einen Zustand, in dem alle Kanäle gleichzeitig anfangen zu schwingen. Vermutlich wird dieses Verhalten durch das Übersprechen innerhalb des Chips vom digitalen Teil des CA1 (Komparator, Monoflop, Ausgangsstufe) auf seinen Eingang bedingt<sup>13</sup>. Dieses Verhalten ist für unterschiedlich eingestellte Polarität des CA1 Chips unterschiedlich stark ausgeprägt, was man beim Übersprechen des immer mit gleicher Polarität arbeitenden Digitalteil auch erwarten würde. Während der Chip für negative Polarität kaum Neigung zur Oszillation zeigt, ist es bei Einstellung auf positive Polarität nicht möglich, eine Schwelle unterhalb von 4000 Elektronen einzustellen, ohne daß der Chip zu oszillieren beginnt. Damit wird die effektive Nachweisempfindlichkeit praktisch auf etwa 5000 bis 6000 Elektronen begrenzt, um im Betrieb einen ausreichenden Sicherheitsabstand zur Oszillationsschwelle zu haben. Rauschtreffer für eine typische Schwelleneinstellung von 5800 Elektronen konnten nicht festgestellt werden (die theoretische Rauschrate wäre 0,03 Hz). Bei einer mittleren Quanteneffizienz des Detektors  $QE_{\text{Detektor}}$  von 72 % (siehe Tabelle 4.1) liegt die Nachweisschwelle des Detektorsystems bei etwa  $8 \times 10^3$  Photonen. Die effektive Empfindlichkeit liegt jedoch höher, wenn man bedenkt, daß Signale, deren Amplitude genau der Schwellenspannung entspricht, nur zu 50 % nachge-

<sup>13</sup> Es besteht der Verdacht, daß durch das Substrat des Chips ein Teil des unipolaren Ausgangssignals auf den großflächigen Koppelkondensator am Eingang zurückgekoppelt wird. Das Phänomen tritt sowohl im Detektormodul als auch im Testaufbau auf und ist daher offenbar unabhängig von der sonstigen Detektorelektronik.

wiesen werden. Um auf über 95 % zu kommen, muß das Signal mindestens zwei Standardabweichungen (zweimal der ENC-Wert) oberhalb der Schwelle liegen. Da die Photonen-schauer auf dem Streifendetektor etwa einen Durchmesser von 20 µm bis 35 µm haben, wird die von ihnen erzeugte Signalladung mit großer Wahrscheinlichkeit auf zwei benachbarte Streifen aufgeteilt. Um auch diese Ereignisse nicht zu verlieren, muß die mit 95 % nachweisbare Signalladung doppelt so groß sein. Damit ergibt sich die effektive minimale Nachweisgrenze  $N_{eff}$  zu:

$$N_{eff} = 2 \frac{Q_{Schwelle} + 2 \cdot ENC}{QE_{Detektor}} = 2 \frac{5800 e + 2 \cdot 1000 e}{0,72 e / ph} = 2,2 \cdot 10^4 \text{ Photonen}$$

Das Ausgangssignal des MCP-Bildverstärkers (Einzelphotonverstärkung  $N_{ph}$ ) ist mit  $10^6$  Photonen spezifiziert. Mit den Verlusten der Tandemoptik zwischen MCP-Bildverstärker und Streifendetektor reduziert sich das Signal auf der Detektoroberfläche auf etwa  $10^5$  Photonen. Damit ist trotz der Einschränkung durch den Verstärkerchip die Empfindlichkeit des Systems mehr als ausreichend. Um die Empfindlichkeit des Detektorsystems für optische Photonen direkt zu messen, müßten die oben gezeigten Schwellenscans mit echten Detektorsignalen einer gepulsten Lichtquelle anstatt der Kalibrationssignale wiederholt werden. Die dafür benötigte Lichtquelle muß in dem relevanten Spektralbereich von 520 nm emittieren und eine Pulslänge aufweisen, die kleiner als die Zeitkonstante des Verstärkerchips von 250 ns ist. Ein frequenzverdoppelter Argon-Ionen-Laser, wie er am IMB in Jena benutzt wird, stand in Bonn nicht zu Verfügung. Mit einer gepulsten grünen LED konnten dennoch erste Messungen mit optischen Photonen gemacht werden. Es hat sich jedoch als schwierig erwiesen, eine LED effektiv in die Glasfaser des optischen Meßaufbaus einzukoppeln. Die LED mußte aufgrund der hohen Einkoppelverluste mit starker Überspannung betrieben werden. Die damit verbundenen thermischen Probleme und der beschleunigten Alterung der LED machten es nicht möglich, die Photonenmenge in den LED Pulsen reproduzierbar zu bestimmen.

#### 4.1.3 Test des Detektormoduls

Nach Bestückung und erfolgreichem Test der Detektorelektronik auf dem Detektormodul wurde der Silizium-Streifendetektor montiert und an die CA1 Verstärkerchips angeschlossen. Um die Funktion aller Detektorkanäle des Detektorsystems nach diesem letzten Aufbauschnitt zu überprüfen, wurde das komplette Photoskop Detektormodul in einem optischen Meßaufbau installiert. Dieser Meßaufbau entspricht dem Prinzip nach dem Mikroskopaufbau wie er für die Messung der statischen Quanteneffizienz des Silizium-Streifendetektors verwendet wurde (siehe Abbildung 4.1). Hier wurde jedoch als Lichtquelle eine gepulste grüne LED verwendet. Die LED wurde mit einem 200 kHz Rechteckimpuls mit einer 10 V Amplitude und einer Pulsbreite von 100 ns betrieben. Um die in jedem Lichtpuls auf dem Detektor ankommende Photonenmenge zu bestimmen, wurde zur Kalibration statt des Detektormoduls eine PIN-Diode mit bekannter spektraler Empfindlichkeit be-

leuchtet, der Photostrom gemessen und durch die Pulsfrequenz geteilt. Dabei zeigte sich, daß die Messungen des Photostroms nicht gut reproduzierbar waren, was vermutlich an dem Überspannungsbetrieb der LED lag. Die Quantenausbeute der verwendeten LED zeigte eine starke Temperaturabhängigkeit und wurde während des mehrstündigen Betriebs immer geringer (Alterung der LED). Dadurch war es nicht möglich die Photonenmenge pro Puls während einer Messung konstant zu halten. Die Abschätzung der Photonenmenge mit den oben angegebenen Parametern der LED Ansteuerung führt auf etwa  $1,2 \times 10^4$  Photonen und ist mit einer großen Unsicherheit behaftet. Die im Folgenden vorgestellte Messung ist daher nicht geeignet, eine quantitative Aussage über die Effizienz der Detektors zu machen. Vielmehr ist sie aber ein wichtiger Test des Detektorsystems, mit dem die gesamte Signalkette überprüft wird.

Für den optischen Test aller Detektorkanäle wurde das Detektormodul auf einen computergesteuerten x/y-Motortisch montiert und unter dem auf etwa  $25 \mu\text{m}$  fokussierten Lichtpunkt der gepulsten LED verfahren. Während der Messung wurde das Photoskop Detektorsystem im normalen Betriebsmodus betrieben. Das bedeutet, daß die Daten vom Detektor mit einer Rate von 4 MHz zum Interface übertragen werden. Der PC, der das Detektorsystem steuert, kann dabei nur eine Bildrate von 2 kHz verarbeiten, so daß etwa nur jedes 2000. Bild ausgewertet wird. Bei einem Scandurchgang werden für jede Position des x/y-Motortisches ein feste Anzahl von aufgenommenen Bildern (hier 10000) aufintegriert und die gezählten Pulse in ein Histogramm aller Kanäle eingetragen. Dabei wird der Detektor einmal senkrecht zur x-Streifenrichtung und einmal senkrecht zur y-Streifenrichtung verfahren, so daß man jeweils eine Projektion der Detektorsignale für x- und y-Koordinaten erhält (siehe Abbildung 4.8). Die LED wird unabhängig vom 4 MHz Takt der Detektorelektronik mit 200 kHz gepulst, so daß man im Mittel in jedem 20. Bild ein Signalereignis erwartet. Bei jeweils 10000 ausgewerteten Bildern liegt damit die Zahl der Signale bei 500. Das Emissionsmaximum der verwendeten (handelsüblichen) grünen LED liegt bei ca. 500 nm, der Fokus auf der Detektoroberfläche wurde mit  $25 \mu\text{m}$  gemessen. Die Signalintensität pro Puls beträgt etwa  $1,2 \times 10^4$  Photonen und die Schwelle des Detektors ist auf 5800 Elektronen eingestellt, was einer Photonenmenge von etwa  $8 \times 10^3$  entspricht (72 % Quanteneffizienz). Damit liegt das Signal deutlich oberhalb der Schwelle, so daß alle Kanäle sicher ansprechen, wenn der Lichtfokus zentral auf einem Streifen liegt. Für den Fall, daß der Fokus genau zwischen zwei Streifen fällt, halbiert sich die Signalladung und liegt dann mit  $6 \times 10^3$  Photonen unterhalb der Nachweisgrenze. Dementsprechend gibt es in Abbildung 4.8 auch keine Positionen zwischen zwei Streifen, in denen gleichzeitig zwei Kanäle antworten. Die Stellen, an denen immer gleichzeitig zwei oder sogar drei Kanäle feuern, weisen auf Kurzschlüsse zweier benachbarter Streifen hin, die beim Verbinden von Detektor und CA1 Chip aufgetreten sind.

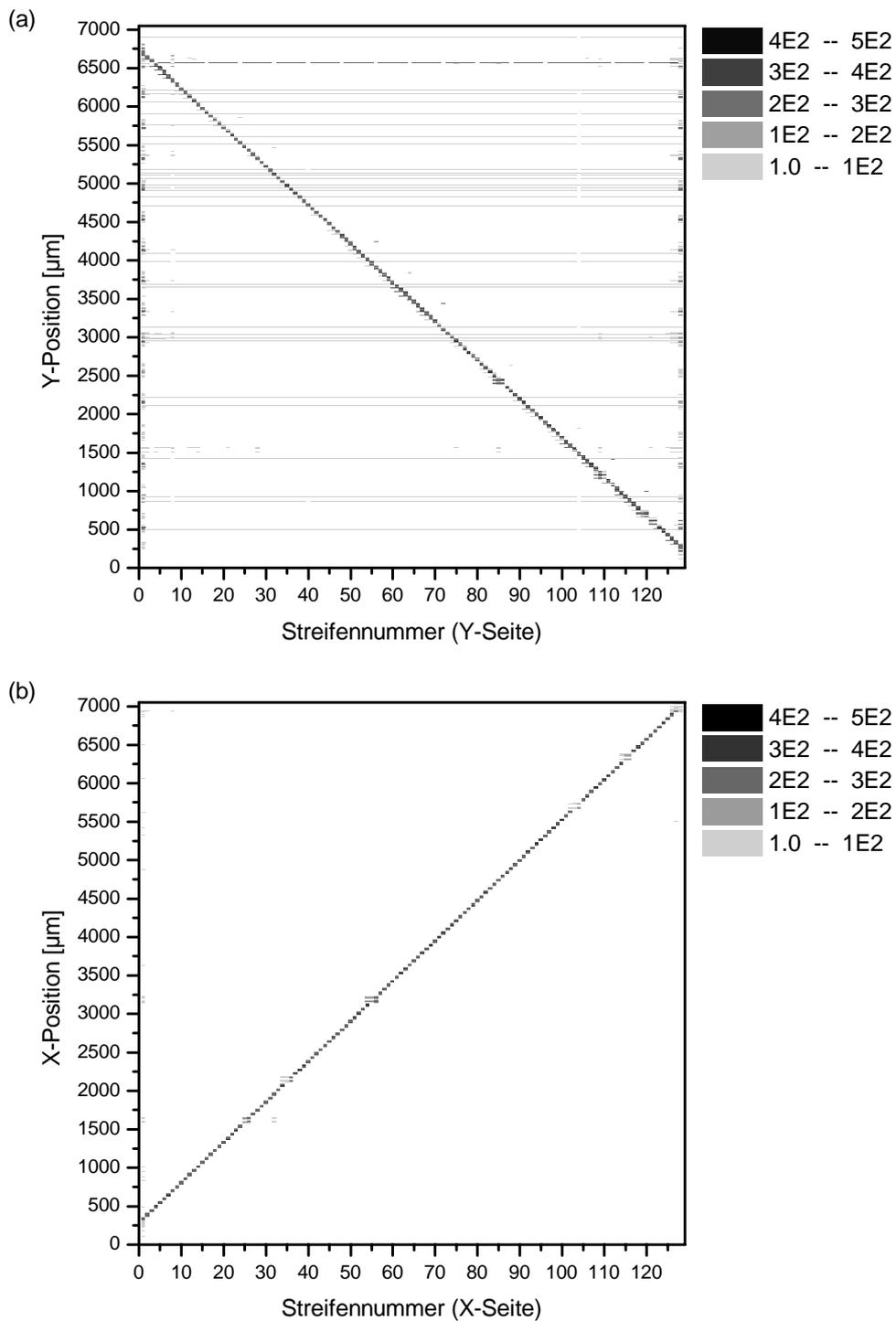


Abbildung 4.8: Scan über den Detektor mit gepulster Lichtquelle für  $y$ -Koordinaten (a) und  $x$ -Koordinaten (b). Die Ordinate gibt die Position des Lichtfokus über dem Detektor an während auf der Abszisse die Streifennummer aufgetragen ist. Die Querstreifen in (a) sind Störungen die durch Oszillation des CAI Chips bei positiver Polarität ( $n$ -Seite des Detektors) herrühren. Kurzschlüsse beim Anschluß des Detektors führen zu den Clustern von gleichzeitig ansprechenden Kanälen bei ein paar Streifennummern.

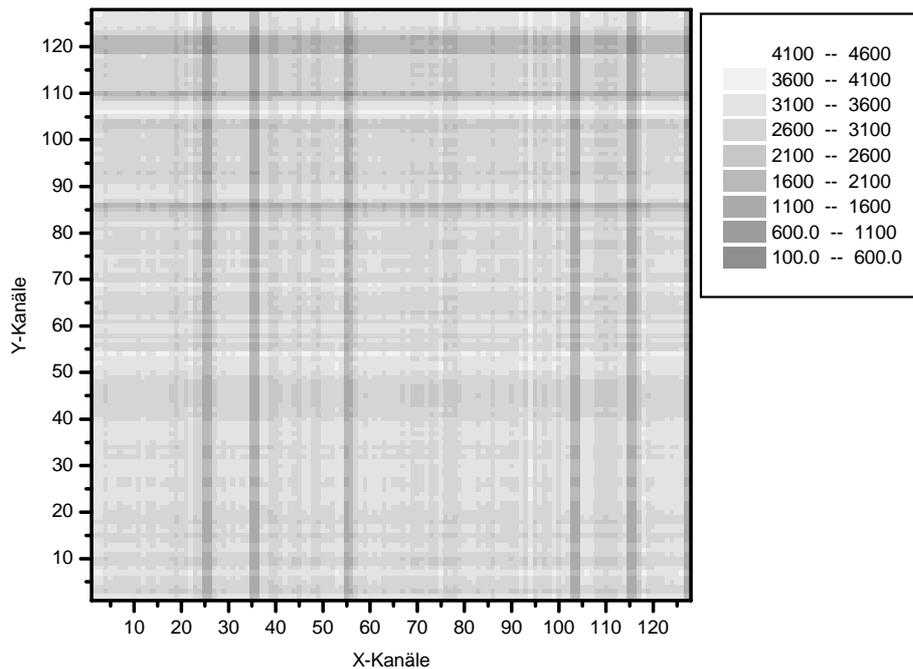


Abbildung 4.9: Antwortverhalten des Detektors beim Abscannen mit einer gepulsten LED. Die zweidimensionale Darstellung wurde aus jeweils einem Scandurchgang mit  $10\ \mu\text{m}$  Schrittweite in  $x$ - und  $y$ -Richtung zusammengesetzt. Die Summe der gezählten Pulse eines einzelnen Kanals wurde jeweils aufintegriert, so daß bis zu 4500 Pulse pro Bildelement gezählt werden.

Die Kombination der beiden Datensätze aus Abbildung 4.8 führt auf eine zweidimensionale Darstellung des Antwortverhaltens des Detektors in Abbildung 4.9. Diese Messungen zeigen, daß in dem Detektormodul bis auf wenige Kurzschlüsse zwischen benachbarten Streifen (die lokal die Nachweisgrenze und Ortsauflösung verschlechtern) jeder Kanal voll funktioniert. Die Signalladung verteilt sich auf die Streifen, die miteinander kurzgeschlossen sind. Bei diesen Streifen ist die Zählrate niedriger als erwartet, da die Photonenmenge dann nicht mehr ausreicht um beide Streifen mit 100 % Effizienz anzusprechen. Gleichzeitig wurde mit dem Abscannen jedes einzelnen Kanals die komplette Detektorelektronik getestet und die Datenübertragung bei 4 MHz Bildrate erfolgreich verifiziert.

#### 4.1.4 Öffnungsverhalten des Bildverstärkers

Eine wesentliche Anforderung an den modulierbaren Bildverstärker ist die Steilheit seiner Öffnungsflanke. Um das Signal von Farbstoffen, deren Fluoreszenzlebensdauer einige Nanosekunden beträgt (siehe Tabelle 2.1), effizient nachweisen zu können, muß die Öffnung des MCP-Bildverstärkers deutlich schneller erfolgen. Um die zeitliche Transferfunktion des modulierbaren MCP-Bildverstärkers innerhalb eines einzelnen Öffnungsvorgangs direkt messen zu können, muß man einen Photodetektor verwenden, dessen zeitliches

Auflösungsvermögen deutlich besser ist als die zu messende Öffnungsflanke des Bildverstärkers (1 bis 2 ns). Schnelle Photomultiplier oder APDs mit entsprechender Meßelektronik ('time to digital converter', TDC oder Transientenrekorder) bieten diese Zeitauflösung. Um aber mit geringerem meßtechnischem Aufwand und herkömmlichen Photodetektoren (CCD-Kamera oder Photodiode) das Öffnungsverhalten messen zu können, wird nicht die Intensität eines einzelnen Öffnungsvorgangs ausgewertet, sondern die Intensität mehrerer Zyklen für eine feste Verzögerungszeit zwischen Laserpuls und Triggersignal des MCP-Bildverstärkers integriert. Die Funktion der Intensität für verschiedene Verzögerungszeiten gibt dann die zeitliche Transferfunktion des MCP-Bildverstärkers wieder. Das Triggersignal für die Modulation wird synchron zu der gepulsten Lichtquelle erzeugt und über eine variable Verzögerungseinheit an den Impulsgenerator des MCP-Bildverstärkers angeschlossen. Für eine Messung wird die Verzögerung im Bereich der Periode des Anregungslichts variiert und die Lichtintensität am Ausgang des Leuchtschirms gemessen (Abbildung 4.13 und Abbildung 4.14). Als Lichtquelle dient der mit 4 MHz gepulste Argon-Ionen-Laser, dessen Lichtstrahl stark abgeschwächt und aufgeweitet wird, so daß der Eingang der Photokathode homogen mit geringer Intensität beleuchtet wird. Die Lichtintensität wird soweit abgeschwächt, bis der MCP-Bildverstärker in dem Arbeitsbereich ist, in dem er Einzelphotonen verstärkt. Auf dem Leuchtschirm werden in diesem Moment die einzelnen Leuchtpunkte der Photonenschauer deutlich sichtbar (siehe Abbildung 4.12).

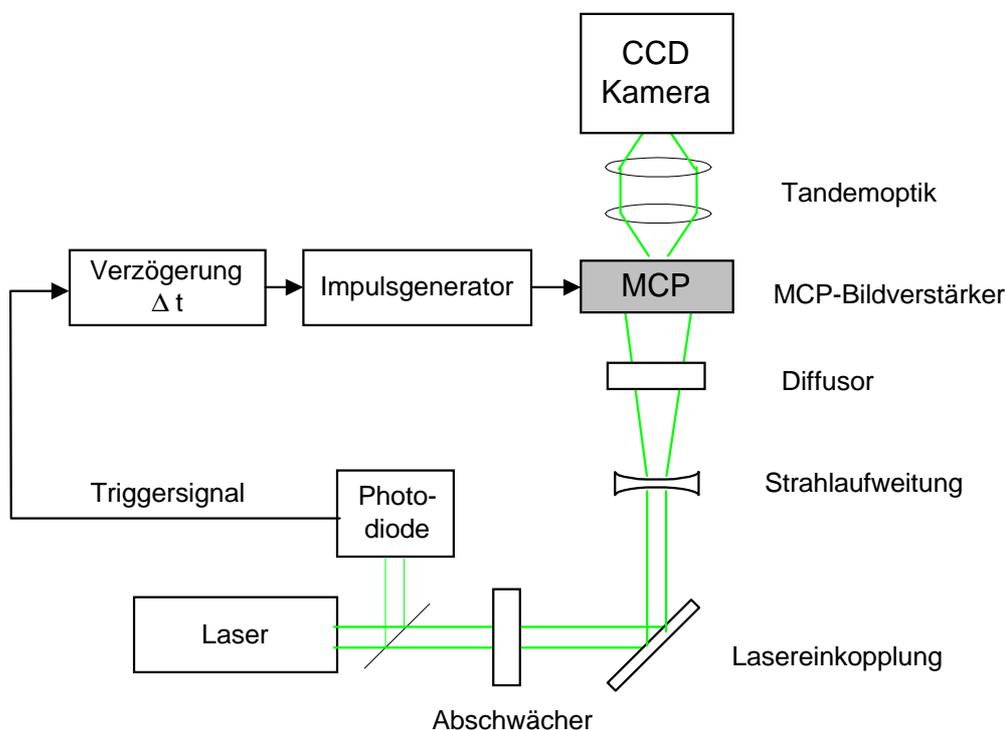


Abbildung 4.10: Meßaufbau für die Messung des Öffnungsverhaltens des MCP-Bildverstärkers.

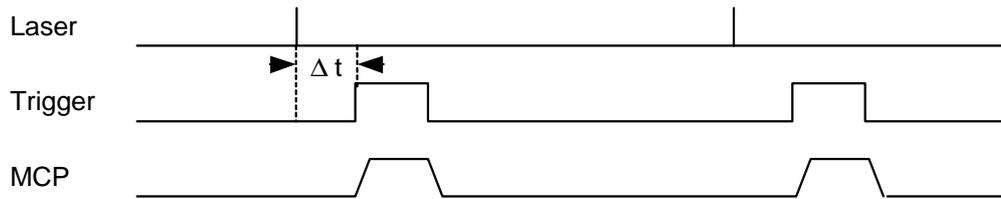


Abbildung 4.11: Zeitdiagramm für die Messung des Öffnungsverhaltens des MCP-Bildverstärkers. Die Lichtintensität wird in Abhängigkeit von der Verzögerungszeit  $\Delta t$  zwischen Laserpuls und Triggersignal gemessen

Bei dem Meßaufbau in Abbildung 4.10 mußte besonders darauf geachtet werden, daß das verzögerte Triggersignal zeitlich stabil ist. Um Öffnungszeiten in der Größenordnung von 1 ns messen zu können, muß die zeitliche Instabilität der Ansteuerung des MCP-Bildverstärkers deutlich geringer sein. Dafür wurde ein spezieller Photodiodenverstärker entwickelt und gebaut, dessen zeitliche Instabilität kleiner als 200 ps ist. Als Verzögerungseinheit wurde ein Pulsgenerator mit Delay-Funktion (HP 81400) verwendet. Die Lichtintensität am Ausgang des MCP-Bildverstärkers wurde mit einer Tandemoptik (50 mm, 1:1,2 und 105 mm, 1:2,5, Abbildungsmaßstab 1:2) auf eine CCD-Kamera (Photometrics, 1/2"-CCD Chip) abgebildet. Um den Öffnungszustand des MCP-Bildverstärkers zu bestimmen, wird für jede eingestellte Verzögerungszeit  $\Delta t$  die mit der CCD-Kamera aufgenommene Lichtintensität über die Fläche des Leuchtschirms integriert (siehe Abbildung 4.11). Jeder Wert für die Intensität wird mit der maximal gemessenen Intensität normiert und mit einem Dunkelwert korrigiert, in den das Dunkelrauschen der CCD-Kamera und das noch hinter der Abschirmung des Meßaufbaus auftretende Streulicht eingehen.

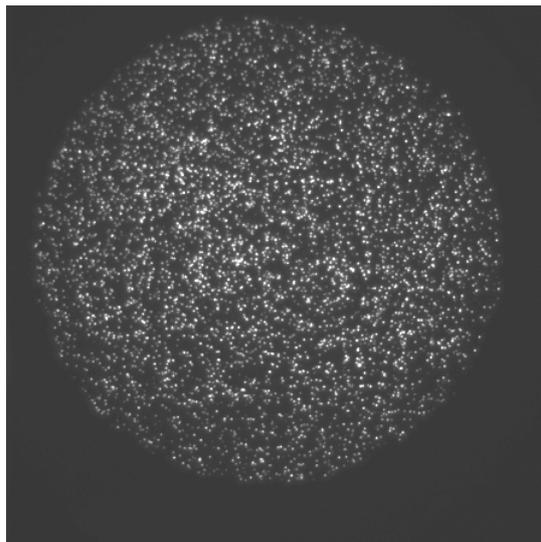


Abbildung 4.12: Leuchtschirm des MCP-Bildverstärkers (Durchmesser 25 mm) mit den Leuchtpunkten der verstärkten Einzelphotonereignisse. Die Modulation des MCP-Bildverstärkers erfolgte mit 4 MHz und 12,5 ns Pulsbreite, Einstellung der Triggerverzögerung auf maximale Transmission. (LaVision MCP-Bildverstärker, Aufnahme mit 1/2" CCD-Kamera bei einer Belichtungszeit von 1 s, Abbildungsmaßstab 1:2).

Die ersten Entwicklungsmustern des von Proxitronic gelieferten MCP-Bildverstärkers zeigten noch deutliche Schwierigkeiten die geforderten Spezifikationen zu erfüllen. Der erste modulierbare MCP-Bildverstärker, der getestet werden konnte, hatte eine Abfallzeit der Öffnungsflanke von mehr als 20 ns und eine Modulationstiefe von weniger als 35 %. Erst kurz vor Ende der Projektlaufzeit konnte ein weiteres Entwicklungsmuster getestet werden, welches vom Öffnungsverhalten in die Nähe der geforderten Spezifikationen kam (Abbildung 4.13). Aber auch dieses Exemplar des MCP-Bildverstärkers war für den direkten Einsatz im Gesamtsystem nur bedingt geeignet, da er nur eine einstufige MCP enthielt und die damit erreichbare Photonverstärkung von etwa  $10^4$  zu gering ist. Gleichzeitig waren durch Fehler auf der Photokathode größere Zonen des aktiven Gesichtsfelds deutlich abgeschattet. Die dadurch bedingte Inhomogenität der Verstärkung machte den Bildverstärker für den Einsatz im Gesamtsystem unbrauchbar.

In den letzten Wochen der am IMB zu Verfügung stehenden Meßzeit konnte ein modulierbarer MCP-Bildverstärker der Firma LaVision (Typ XX1023MH/L01 mit HRI Impulsgenerator) eingesetzt werden, dessen Öffnungsflanke mit 800 ps die geforderte Spezifikation erfüllt (Abbildung 4.14). Die Meßreihen scheinen darauf hinzuweisen, daß der MCP-Bildverstärker nicht vollständig geschlossen werden kann, da die gemessene Intensität nicht auf bis null abfällt. Es hat sich aber gezeigt, daß die im geschlossenen Zustand gemessene Restintensität von der Breite des Öffnungsfensters abhängt. Die Hauptmeßreihe in der Abbildung 4.14 links wurde mit einer Pulsbreite von 12,5 ns gemacht und zeigt eine Restintensität von 20 %, während die Messung der Ausschnittsvergrößerung mit 5 ns Pulsbreite gemacht wurde und eine Restintensität von 10 % aufweist. Diese Restintensität hat demnach ihren Ursprung in dem zum Laserpuls unkorrelierten Streulicht, welches entlang des Strahlengangs des Lasers auf die Photokathode gelangt und daher nicht durch eine Dunkelmessung zu korrigiert werden kann.

Leider ist die Photonverstärkung dieses MCP-Bildverstärkers mit  $5 \times 10^5$  trotz doppelstufiger MCP und maximaler MCP-Spannung (1800 V) geringer als spezifiziert. Um den MCP-Bildverstärker trotzdem im Gesamtaufbau einsetzen zu können, wurde direkt auf den Fasertaper des Leuchtschirms ein weiterer, nicht-modulierter Bildverstärker angekoppelt. Mit diesem einfachen Bildverstärker (Bildverstärkerdiode: Kombination aus Photokathode und Leuchtschirm ohne Mikrokanalplatte, Typ BV 2504 EX18, Proxitronic) erreicht man eine weitere Photonverstärkung von etwa  $10^2$ . Mit diesem zusätzlichen Verstärkungsgewinn kann man den MCP-Bildverstärker mit geringerer MCP-Spannung (1500 V) betreiben, was sich positiv seine Lebensdauer und die Regenerationszeit der MCP auswirkt. Mit dieser Kombination von MCP-Bildverstärker und Bildverstärkerdiode konnten die geforderten Spezifikationen hinsichtlich Öffnungsverhalten, Photonverstärkung und Homogenität erfüllt werden.

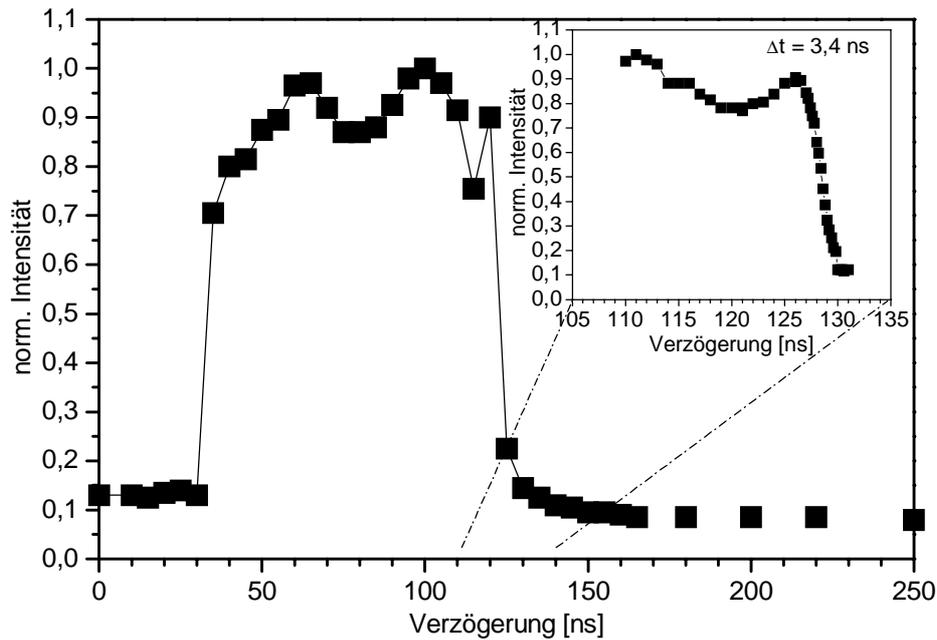


Abbildung 4.13: Messung des Öffnungsverhaltens des einstufigen Proxitronic MCP-Bildverstärkers. Die Intensität wurde über die gesamte Fläche des Leuchtschirm gemittelt. Die Öffnung des Bildverstärkers erfolgt innerhalb von 3,4 ns, das Öffnungsfenster ist etwa 100 ns breit.

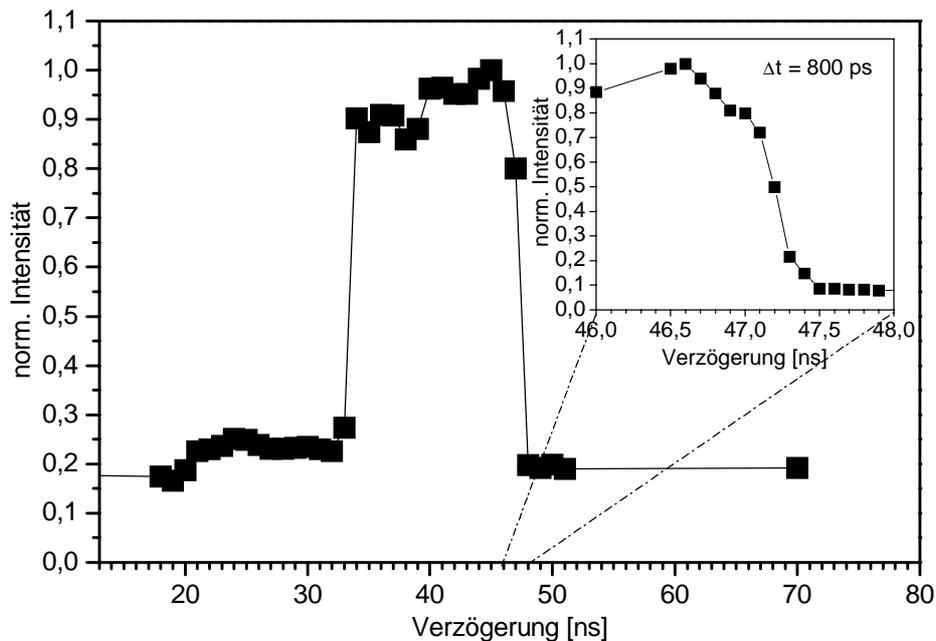


Abbildung 4.14: Messung des Öffnungsverhaltens des LaVision MCP-Bildverstärkers. Die Öffnung des Bildverstärkers erfolgt innerhalb von 850 ps. Der MCP-Bildverstärker öffnet innerhalb von 800 ps, das Öffnungsfenster hat eine Breite von 12,5 ns.

## 4.2 Erste Messungen mit dem Gesamtaufbau

Der Aufbau des Gesamtsystems mit dem Detektorsystem am IMB fand innerhalb eines zeitlich eng begrenzten Rahmens statt. Durch Schwierigkeiten bei der Produktion eines geeigneten MCP-Bildverstärkers konnte der Aufbau nur mit Verzögerungen vorgenommen werden. Gleichzeitig konnte die zu Verfügung stehende Meßzeit nicht verlängert werden, da die Arbeitsgruppe am IMB kurz vor dem Umzug in ein neues Institut stand. Das Gesamtsystem konnten dementsprechend innerhalb der Meßzeit nicht vollständig charakterisiert werden. Vielmehr lag das primäre Ziel darin, zu zeigen, daß das Detektionssystem prinzipiell in der Lage ist, einzelne fluoreszenzmarkierte Moleküle bzw. Teststrukturen orts aufgelöst nachweisen zu können.

Als erstes wurde nach dem Einbau des Detektorsystems in den Gesamtaufbau kontrolliert, ob der Silizium-Streifendetektor in der Lage ist, die vom MCP-Bildverstärker und Bildverstärkerdiode verstärkten Einzelphotonereignisse nachzuweisen. Dazu wurde das Eintrittsfenster des Bildverstärkers lichtdicht abgeklebt, so daß nur noch die thermisch ausgelöste Dunkelelektronen in der MCP verstärkt wurden. Bei dem verwendeten S 20 Material der Photokathode erwartet man eine Dunkelrate von  $1500 \text{ Hz/cm}^2$  (siehe Tabelle 2.2). Diese Dunkelrauschereignisse erzeugen auf dem Leuchtschirm die gleiche Photonenmenge wie verstärkte Einzelphotonensignale, wie man sie bei der Detektion von einzelnen Fluoreszenzphotonen erwartet. Der Leuchtschirm wird durch eine Tandemoptik mit einem Abbildungsmaßstab von 1:2 auf den Detektor abgebildet. Die Tandemoptik besteht aus einer Kombination zweier Fotoobjektive 105 mm/2,5 und 50 mm/1,2 (Brennweite / Blendenzahl). Mit dieser Anordnung erreicht man eine Transmission von 15 % der vom Leuchtschirm emittierten Photonen [PCO93]. In Abbildung 4.15 sind die Dunkelrauschereignisse für verschiedene Aufnahmezeiten dargestellt. Links in Bild (a) wurde über ein kurzes Zeitintervall integriert. In jedem Bildpunkt wurden maximal ein bis zwei Ereignisse gezählt, so daß sich die einzelnen Ereignisse voneinander trennen lassen. Im Bild (b) wurde über einen entsprechend längeren Zeitraum integriert, um eine gleichmäßige Ausleuchtung des Detektors mit Einzelphotonereignissen zu erreichen. Die dunkleren Streifen entstehen dort, wo Kanäle miteinander kurzgeschlossen sind. An diesen Stellen teilt sich die Signalladung auf zwei Kanäle auf und die Nachweiseffizienz wird entsprechend vermindert (siehe auch Abbildung 4.9). Man erkennt auch, daß die Ausleuchtung des Detektors zum Rand hin schlechter wird, was an der Inhomogenität des Gesichtsfelds der Tandemoptik (Vignettierung) liegt. Mit diesen ersten Messungen konnte gezeigt werden, daß das System aus MCP-Bildverstärker, Bildverstärkerdiode und Silizium-Streifendetektor empfindlich genug ist, um orts aufgelöst Einzelphotonen nachzuweisen zu können.

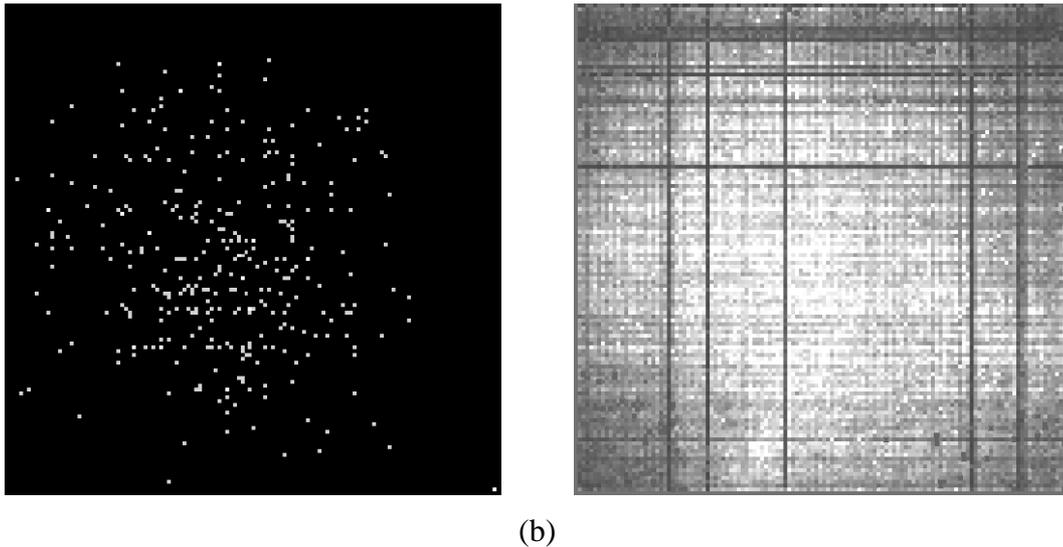


Abbildung 4.15: Aufnahmen des Dunkelrauschens des MCP-Bildverstärkers für verschiedene Aufnahmezeiten. Abbildungsmaßstab der Tandemoptik 1:2, Gesichtsfeld des Detektors:  $6,4\text{mm} \times 6,4\text{mm}$

Bevor mit dem Gesamtsystem Aufnahmen von fluoreszenzmarkierten Strukturen gemacht werden können, muß die eine sorgfältige Justierung des optischen Strahlengangs zwischen Laser, Mikroskop, Probevolumen, MCP-Bildverstärker und Detektormodul durchgeführt werden (siehe Abbildung 3.4). Besonders muß darauf geachtet werden, daß der Laser das Anregungsvolumen homogen ausleuchtet und gleichzeitig ein möglichst großer Querschnitt dieses Volumens auf das Eintrittsfenster des MCP-Bildverstärkers scharf abgebildet wird. Für die ersten Messungen wurden fluoreszenzmarkierte Mikrosphären (fluoreszierende 'Beads', siehe Tabelle 2.1) bekannter Konzentration auf einen Objektträger pipetiert und in den Anregungsfokus des Lasers gebracht. Diese Beads haben als Teststrukturen gegenüber fluoreszenzmarkierten Biopolymeren (z.B. DNS oder RNS) den Vorteil, daß sie biochemisch stabil sind und sich daher bei der Justage und Kalibration des Aufbaus besser handhaben lassen. Die Anzahl der Fluoreszenzfarbstoffe, die auf der Oberfläche eines Beads angelagert sind, ist von seiner Größe abhängig. Bei einem Durchmesser von  $100\text{ nm}$  sind  $7,4 \times 10^3$  Farbstoffe an jedes Bead gebunden, bei einem Durchmesser von  $10\text{ nm}$  etwa  $1,2 \times 10^2$  [MOL97]. Im Vergleich dazu erreicht man bei der Markierung von DNS-Molekülen eine Anlagerung von einem Farbstoffmolekül pro zehn Basenpaare [KAL98]. Dementsprechend ist die Fluoreszenzintensität eines  $100\text{ nm}$  Beads mit einem  $7,4 \times 10^4$  Basenpaar DNS-Molekül zu vergleichen und Fluoreszenzintensität eines  $10\text{ nm}$  Beads mit einem  $10^3$  Basenpaar DNS-Molekül.

Die ersten verwendeten Bead-Proben wurden in einer 10 %-igen Glycerinlösung auf den Objektträger pipetiert. Damit wird ihre Diffusionsbewegung stark verlangsamt, so daß eine einfachere Justage des Aufbaus möglich war. In Abbildung 4.16 sind zwei verschiedene Aufnahmen von  $100\text{ nm}$  großen Beads wiedergegeben wie der Parallelrechner sie während des Betriebs des Detektorsystems darstellt. Links sind jeweils die Detektordaten über  $1\text{ s}$  (entspricht  $4 \times 10^6$  Bilder) integriert dargestellt. Innerhalb dieses Zeitintervalls sind die

Beads durch die verlangsamte Diffusionsbewegung praktisch ortsfest. Bei den Bildern auf der rechten Seite werden ausschließlich die Bildpunkte eingetragen, die ein Burst-Ereigniss (das Auftreten einer Mindestrate innerhalb eines bestimmten Zeitintervalls) registriert haben. Man erkennt deutlich, wie die in der Hardware des Parallelrechners implementierten Filteralgorithmen das Streulicht reduzieren. Die Rohdaten und die gefilterten Daten werden vom Steuerprogramm des Parallelrechners gleichzeitig in Echtzeit dargestellt, so daß eine direkte Kontrolle der Einstellungen des Systems möglich ist.

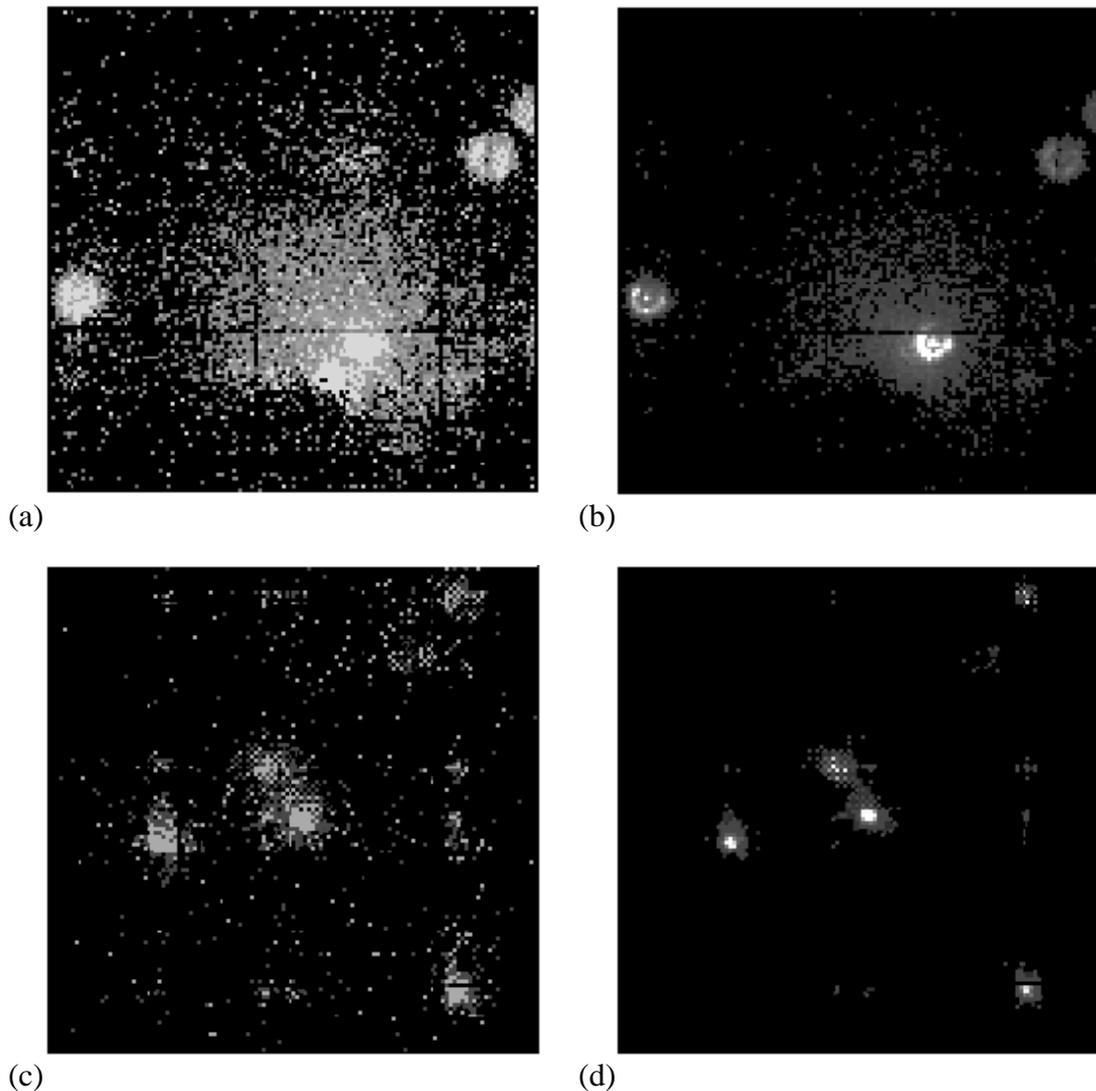


Abbildung 4.16: 'On-line' Darstellung von 100 nm großen fluoreszenzmarkierten Mikrosphären (Beads) in Lösung. Die Bilder bestehen aus  $128 \times 128$  Bildpunkten mit einer Größe von jeweils  $50 \mu\text{m}$ . Die Vergrößerung des optischen Aufbaus beträgt  $\times 300$ . Die Aufnahmen (a) und (c) zeigen jeweils die über 1 s ( $4 \times 10^6$  Einzelbilder) integrierten Rohdaten. Die Bilder (b) und (d) sind die aus den Rohdaten gefilterten Burst-Ereignisse.

Nachdem das System soweit justiert war, daß die fluoreszierenden Beads mit 100 nm und 10 nm sicher nachgewiesen werden konnten, wurden als nächstes verschiedene Lösungen mit fluoreszenzmarkierten DNS-Molekülen vorbereitet. Dazu wurden verschiedene Konzentrationsreihen von DNS mit jeweils 16000, 2700, 106 und 61 Basenpaaren herge-

stellt. Die Verdünnungen von  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$  und  $10^{-11}$  mol/l wurden daraufhin mit dem Interkallatorfarbstoff TO-PRO (siehe Tabelle 2.1) gesättigt. In den Proben mit 106 Basenpaar DNS konnten mit der 'on-line' Darstellung des Parallelrechners deutlich Signale der diffundierenden Moleküle festgestellt werden. Damit war das angestrebte Ziel der Einzelmoleküldetektion erreicht. Aufgrund der hohen Diffusionsgeschwindigkeit (kleine Moleküle in Lösung ohne Glyzerinzusatz) war es jedoch schwierig das System optisch zu justieren. Bevor mit dem Parallelrechner Aufnahmen der DNS-Probe gemacht werden konnten, mußte sie erneuert werden, da die Probe auf dem Objektträger eingetrocknet war. Bei einer neu angesetzten Verdünnungsreihe war es jedoch nicht mehr möglich ein definiertes Signal aus dem Streulichtuntergrund zu trennen. Wie sich herausstellte war die DNS mittlerweile zum größten Teil abgebaut, d.h. sie war durch Verunreinigung des Lösungsmittels mit Enzymen in kurze Bruchstücke aufgespalten worden. Diese kurzen DNS Bruchstücke zeigten eine zu geringe Fluoreszenzintensität, um mit dem noch nicht optimal justierten optischen Aufbau nachgewiesen werden zu können. Für eine Wiederholung der Messungen mit markierter DNS gab es vor Abschluß dieser Arbeit leider keine Möglichkeit mehr.

### 4.3 Zusammenfassung

Der Silizium-Streifendetektor erreicht mit der abgestimmten Entspiegelungsschicht eine Quanteneffizienz von 72 % bei einer Wellenlänge von 523 nm. Damit stimmt das Maximum seiner Quanteneffizienz mit dem Maximum des Emissionsspektrums des MCP-Bildverstärkers überein. Die an den Streifendetektor angeschlossenen Verstärkerchips lassen sich mit einer Schwelle von 5800 Elektronen stabil betreiben. Um mit dieser Schwelleneinstellung eine Nachweiseffizienz von über 99,5 % über den gesamten Detektor zu erreichen, ist ein Signal von mindestens  $2,2 \times 10^4$  Photonen notwendig. Damit ist das Detektorsystem empfindlich genug, um Signale von  $10^6$  Photonen des Bildverstärkers mit einer Tandemoptik (Wirkungsgrad 5 % - 15 %) sicher nachzuweisen zu können.

Die Funktionalität aller Kanäle des Streifendetektors und der Detektor- und Systemelektronik wurden bei einer Datenrate von  $4 \times 10^6$  Bildern pro Sekunde (entspricht 1 Gbit/s) erfolgreich getestet. Dabei zeigten sich jedoch einige wenige Kurzschlüsse zwischen benachbarten Detektorstreifen, was lokal die Nachweisempfindlichkeit des Detektors herabsetzt.

Die ersten getesteten Entwicklungsmuster des Bildverstärkers konnten die geforderten Spezifikationen hinsichtlich Öffnungsverhaltens, Modulationstiefe und Verstärkung nicht erfüllen. Erst in der zweiten Phase konnte ein MCP-Bildverstärker in das Gesamtsystem integriert werden, dessen Eigenschaften einen erfolgreichen Betrieb möglich machte.

Das Photoskop Detektorsystem wurde Ende 1998 am IMB in den Meßaufbau zur zweidimensionalen Einzelmoleküldetektion integriert und in Betrieb genommen. Innerhalb der dort zu Verfügung stehenden Meßzeit konnte gezeigt werden, daß das Gesamtsystem in der

Lage ist, Einzelphotonsignale orts aufgelöst nachzuweisen. Die ersten Messungen mit fluoreszenzmarkierten DNS-Molekülen wurden durchgeführt. Zur weiteren Charakterisierung des Aufbaus und zur Kalibration des Gesamtsystem sind jedoch weitere Messungen notwendig, die bis zum Ende dieser Arbeit nicht abgeschlossen werden konnten.

## 5 Zusammenfassung und Ausblick

In diesem abschließendem Kapitel wird eine Resümee der Arbeit an dem interdisziplinären Projekt gegeben. Zur Realisierung des Aufbaus zur orts aufgelösten Detektion von Einzelmolekülen in den drei Jahren der Projektlaufzeit mußten unterschiedliche Teilprojekte eng aufeinander abgestimmt durchgeführt werden. Dabei war die Zusammenarbeit zwischen unserer Arbeitsgruppe und der Arbeitsgruppe am IMB in Jena, die für den optischen Aufbau zur Einzelmoleküldetektion und die molekularbiologischen Fragestellungen verantwortlich war, entscheidend für das Vorankommen des Projekts. Gleichzeitig war das Projekt von den Entwicklungsergebnissen des beteiligten Industriepartners abhängig. Neben der Abstimmung der technischen Spezifikationen war die Diskussion der erzielten Ergebnisse und der physikalischen und molekularbiologischen Fragestellungen Inhalt regelmäßiger gemeinsamer Treffen. Dabei konnte im Lauf der Zusammenarbeit die manchmal voneinander abweichenden Vorstellungen von der Vorgehensweise, die mitunter durch die verschiedenen beteiligten Fachrichtungen bedingt waren, immer besser aufeinander abgestimmt werden. Entsprechend wurde versucht, die Motivation des Vorhabens auch innerhalb der Arbeitsgruppe verstärkt zu vermitteln.

Die Herausforderung auf physikalisch-technischer Seite bestand in der Entwicklung eines Silizium-Streifendetektors zum effizienten Nachweis von optischen Photonen und dem Aufbau der Detektor- und Systemelektronik, die in der Lage, ist eine Bildrate von 4 MHz kontinuierlich zu übertragen. Die Entwicklung erfolgte in mehreren Stufen, so daß vor der Fertigstellung des endgültigen Photoskop Detektorsystems, Entwicklungsmuster der Systemkomponenten (Detektor, Elektronikchips und Systemelektronik) frühzeitig getestet und charakterisiert werden konnten. Der Quanteneffizienz des verwendeten doppelseitigen Silizium-Streifendetektors wurde für optische Photonen mit einer Wellenlänge um 500 nm optimiert und beträgt 72 %. Der Detektor hat einen aktiven Bereich von 6,4 mm  $\times$  6,4 mm mit jeweils 128 Streifen pro Seite bei einem Streifenabstand von 50  $\mu$ m.

Mit der speziell entwickelten Detektorelektronik (Verstärkerchip CA1 und digitaler Chip MUX128) kann man Detektorsignale bis zu einer Schwelle von  $2,2 \times 10^4$  Photonen nachweisen. Die Detektor- und weitere Systemelektronik verarbeitet die Bilddaten des Detektors (2 $\times$ 128 Bit) mit einer Rate von 4 MHz. Die dabei kontinuierlich anfallende Datenmenge von 1 GBit/s wird mit einer Glasfaserstrecke zur Verarbeitung an eine Parallelrechner übertragen. Mit einem einfachen optischen Meßaufbau konnte die Funktionalität der einzelnen Kanäle des Detektors und die Signalintegrität der gesamten Auslekette getestet werden, bevor das System in Jena am IMB aufgebaut und in Betrieb genommen wurde. Aufgrund der begrenzten am IMB zu Verfügung stehenden Meßzeit mußte auf eine weitergehende Charakterisierung des Detektorsystems verzichtet werden.

Für den erfolgreichen Nachweis von Einzelphotonen war die Verfügbarkeit eines geeigneten MCP-Bildverstärkers notwendig. Die Fertigung eines MCP-Bildverstärkers, der die geforderten Spezifikationen erfüllte, erwies sich als schwierig. Nach mehreren Entwicklungsmustern konnte jedoch ein MCP-Bildverstärkersystem beschafft werden, das erfolgreich in dem Gesamtaufbau integriert wurde.

Die ersten am IMB durchgeführten Messungen zeigten, daß das Gesamtsystem empfindlich genug ist, um orts aufgelöst Einzelphotonen mit einer Rate von 4 MHz nachzuweisen. Mit Messungen an fluoreszenzmarkierten Mikrosphären konnte demonstriert werden, daß deren Diffusion in wässriger Lösung orts aufgelöst und in Echtzeit verfolgt werden kann. Die ersten molekularbiologischen Proben (fluoreszenzmarkierten DNS Moleküle verschiedener Länge) wurden untersucht, und erstmals konnten Einzelmoleküle erfolgreich orts aufgelöst detektiert werden (106 Basenpaar DNS markiert mit TO-PRO). Dabei zeigte sich jedoch, daß die Proben sehr empfindlich gegenüber Verunreinigung waren, und deshalb eine Reproduktion der Messung der detektierten Molekülspuren innerhalb der zu Verfügung stehenden Meßzeit nicht möglich war.

Die ersten ermutigenden Ergebnisse zeigen, daß das Gesamtsystem in der Lage ist, fluoreszenzmarkierte Einzelmoleküle in Echtzeit nachzuweisen. Dabei ist die Nachweispemphindlichkeit des Gesamtsystems noch nicht vollständig ausgeschöpft, da die einzelnen Systemkomponenten durch eine weitergehende Charakterisierung und Abstimmung noch effizienter zu betreiben sind. Schritte zur Verbesserung sind: eine bessere Kontrolle des Strahlengangs der konfokalen Lasereinkopplung zur genaueren Bestimmung von Anregungsvolumen und Abbildungsebene, Verringerung der minimalen Nachweisschwelle des Vorverstärkerchips und damit eine Steigerung der Gesamtempfindlichkeit des Detektorsystems und zusätzliche Ressourcen im Parallelrechner, um verbesserte, benachbarte Bildzellen übergreifende Algorithmen implementieren zu können.

Abschließend kann aufgrund der erzielten Ergebnisse gesagt werden, daß mit der Entwicklung des Detektorsystems zum orts aufgelösten Nachweis von Einzelmolekülen, ein neues, leistungsfähiges Meßsystem für eine Vielzahl von Anwendungen in der Molekularbiologie zur Verfügung gestellt werden kann.

# Literaturverzeichnis

---

- [KÖL94] M. Köllner, P. Fischer, J. McCaskill, *Detector for two-dimensional time resolved photon counting*, SPIE Proceedings Biomedical Optics Europe, 2328, 112-119, 1994
- [ATL94] Technical Proposal for the ATLAS Experiment, CERN/LHCC/94-43, CERN, Genf, 1994
- [FIS95] P. Fischer et al., Performance of a beam telescope using double sided silicon strip detectors, Nucl. Inst. And Meth., A364 (1995), 114-230
- [DEM81] W. Demtröder, *Laser Spectroscopy*, Springer Verlag, 1. Auflage, 1981
- [GER93] C. Gerthsen, H. Vogel, Physik, Springer Verlag, 17. Auflage, 1993
- [TSI95] R.Y. Tsien, A.Waggoner, *Handbook of Biological Confocal Microscopy*, Plenum Press, New York, 2. Auflage, 1995
- [KAL98] G. Kalusche, Analyse von Drift- und Diffusionsbewegungen einzelner Moleküle in Lösung mittels laserinduzierter Fluoreszenz, Dissertation, Friedrich-Schiller-Universität Jena, 1999
- [KOP89] K. Kopitzki, Einführung in die Festkörperphysik, Teubner Verlag, 2. Auflage, 1989
- [SZE85] S. M. Sze, Semiconductor Devices, John Wiley & Sons, New York, 1985
- [LEO94] W. R. Leo, Techniques for Nuclear and Particle Physics, Springer Verlag, 2. Auflage, 1994
- [TRE98] J. Treis, Aufbau und Test von Prototypen eines Nachweissystems zur Einzelmoleküldetektion mittels Silizium-Streifendetektoren
- [RIE92] R. Riegler et al., Interactions and Kinetics of Single Molecules as Observed by Fluorescence Correlation Spectroscopy, Fluorescence Spectroscopy: New Methods and Applications, Kapitel 2, Springer Verlag, 1992
- [KEL96] R. A. Keller et al., Single-Molecule Fluorescence Analysis in Solution, Applied Spectroscopy, Volume 50, Number 7, 1996
- [PRO98] Proxitronic GmbH, High Performance Image Intensifiers, Overview, 1998

- 
- [GAL97] Galileo Corporation, Long Life Microchannel Plates, Datenblatt 6/97
- [PCO90] PCO Computer Optics, Dynamische Verhalten von MCP-Bildverstärkern, PCO interner Bericht, 30.7.1990
- [LUZ95a] G. Lutz, A. S. Schwarz, Silicon devices for charged-particle track and vertex detection, *Annu. Rev. Nucl. Sci.* 45 (1995) 295-335
- [WEI94] P. Weilhammer, Double-sided Si strip sensors for LEP vertex detectors, *Nucl. Inst. and Meth., A* 342 (1994) 1-15
- [OVE98] M. Overdick, Digital audiography using silicon strip detectors, Dissertation, Universität Bonn, 1998
- [KEM88] J. Kemmer, G. Lutz, New structures for position sensitive semiconductor detectors, *Nucl. Inst. and Meth., A* 273 (1988) 588-598
- [LUZ95b] G. Lutz, Silicon radiation detectors, *Nucl. Inst. and Meth., A* 367 (1995) 21-33
- [REG97] L. Reger, Ein Meßsystem zum Nachweis von optischen Photonen auf der Basis von Silizium-Streifendetektoren, Diplomarbeit, Universität Bonn, BONN-IB-97-16
- [STR94] J. Straver et al, One micron spacial resolution with silicon strip detektors, *Nucl. Inst. and Meth., A* 3348 (1994), 1-15
- [NYG91] E. Nygard, CMOS low noise amplifier for microstrip readout, *Nuc. Inst. and Meth., A* 301 (1991) 506-516
- [SAN91] W. Sansen, Z. Y. Chang, Low-noise wide-band amplifiers in bipolar and CMOS technologies, Kluwer Academic Publishers, 1991
- [KRÜ95] H. Krüger, Untersuchungen an einem Auslesechip für Silizium-Streifendetektoren für das ATLAS-Experiment, Diplomarbeit, Universität Bonn, BONN-IB-95-46
- [MAT97] H. P. Mathis, G. Kalusche, B. Wagner, J.S. McCaskill, Steps Towards Spatially Resolved Single Molecule Detection in Solution, *Bioimaging* 5, 1997
- [KNE82] F. Kneubühl, Repetitorium der Physik, Teubner Verlag, Stuttgart, 1992
- [PAL85] E.D. Palik, Herausgeber, Handbook of Optical Constants of Solids, Academic Press, 1985
- [LAN62] Landolt-Börnstein, Zahlenwerte aus der Physik, Chemie, Astronomie, Geophysik und Technik, Band II, Teil 8, Optische Konstanten, Springer Verlag, 1962

---

[JEL92] J.G.E.Jellison, Optical functions of Si determined by two channel polarization modulation ellipsometry, *Optical Material* 1, 1992

[FIS96] P.Fischer, An area efficient 128 channel counter chip, *Nucl. Inst. and Meth., A* 378, 297, 1996

[RIC45] S.A.Rice, Mathematical analysis of random noise, *Bell Systems Technical JouRNSI*, 23 (1944) 282-332 und 24 (1945) 46-156

[PCO93] PCO Computer Optics, *Optische Abbildung mit einer Tandemanordnung*, Interner Bericht 15, 1993

[MOL97] Molecular Probes, Produktkatalog 1997

# Danksagung

Ich möchte mich bedanken bei

- Prof. N. Wermes, der mir die Arbeit an diesem interessanten Projekt ermöglicht hat und mir stets sein vollstes Vertrauen entgegenbrachte
- Peter Fischer für seine Freundschaft über Jahre hinweg, und daß er den Grundstein für das Projekt gesetzt hat und es mit einer Vielzahl von Ideen bereicherte
- Lars Reger und Johannes Treis, die mit wichtigen Arbeitsergebnissen im Rahmen ihrer Diplomarbeiten zum Erfolg des Projekt beigetragen haben
- meinen ehemaligen Kollegen Boris Raith und Michael Overdick für ihre Freundschaft und großartige Zusammenarbeit
- allen Mitgliedern unserer FAUST-Gruppe, die zu der einmaligen Arbeitsatmosphäre beigetragen haben
- bei der Arbeitsgruppe von Prof. J. S. McCaskill am Institut für Molekulare Biotechnologie in Jena für die vielen interessanten Diskussionen und ihre Gastfreundschaft bei meinen zahllosen Reisen nach Jena

Hans Krüger, Oktober 1999