



**FAKULTÄT FÜR PHYSIK**  
**PHYSIKALISCHES PRAKTIKUM FÜR FORTGESCHRITTENE**  
**PRAKTIKUM MODERNE PHYSIK**

Gruppe Nr. 14

Kurs: **Mo**

**WS 13/14**

Versuch: Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie (FCS)

Namen: Fleig, Georg

Krause, Marcel

Assistent: Michael Horn

durchgeführt am: 28. Oktober 2013

Protokollabgabe am: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Note gesamt

+

-

0

Datum: \_\_\_\_\_

anerkannt: \_\_\_\_\_

Bemerkung:

# **Physikalisches Fortgeschrittenenpraktikum**

## **P3**

Versuch:

**Fluoreszenzkorrelationspektroskopie (FCS)**

aus dem Teilgebiet

**Atomphysik**

Versuchsprotokoll

von

Georg Fleig (georg.fleig@student.kit.edu)

Marcel Krause (marcel.krause@student.kit.edu)

**Gruppe: 14**

Datum der Versuchsdurchführung:

28.10.13

# **I. Vorbereitung**

# Theoretische Grundlagen

Die Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie (FCS) ist eine optische Messmethode, welche auf der Anregung und Beobachtung von Fluoreszenzlicht sowie dessen Fluktuationen basiert. Sie bietet unter anderem die Bestimmung von Diffusionskoeffizienten, Konzentrationen von Lösungen oder eine Abschätzung der Größe von Proteinen. Ziel des Versuchs ist es, die Funktionsweise eines FCS sowie dessen Handhabung kennenzulernen.

## Klassische Lichtmikroskopie

Mit Hilfe von Mikroskopen ist die vergrößerte Beobachtung von Objekten möglich. Im Falle der Lichtmikroskopie wird das Objekt beleuchtet und die reflektierten Strahlen über ein Linsensystem aus Objektiv und Okular vergrößert. Da es sich um eine optische Methode der Vergrößerung handelt, ist das Auflösungsvermögen von der Wellenlänge  $\lambda$  des Lichts abhängig.

Sobald die aufzulösenden Strukturen von derselben Größenordnung sind wie die Wellenlänge des Lichts, mit welchem mikroskopiert wird, treten starke Beugungseffekte auf, welche das Objektiv unscharf erscheinen lassen. Die Abbe'sche Auflösungsgrenze  $\Delta d$  lässt sich über die numerische Apertur NA berechnen:

$$\Delta d = \frac{0,61\lambda}{NA} = \frac{0,61\lambda}{n \sin \alpha} . \quad (1)$$

Dabei ist  $n$  der Brechungsindex des Immersionsmaterials zwischen Objektiv und Fokus und  $\alpha$  der halbsseitige Öffnungswinkel des Objektivs.

## Konfokale Mikroskopie

Die FCS basiert häufig auf konfokaler Mikroskopie. Dabei wird, anders als bei einem gewöhnlichen Durchlichtmikroskop, nicht das gesamte Objekt auf einmal beleuchtet, sondern nur kleine Teile davon. Durch Abrasterung erhält man viele einzelne, zeitlich versetzte Abbildungen, die anschließend zu einem Gesamtbild zusammengesetzt werden können. Mit Hilfe eines Systems aus Blenden und Linsen wird der Fokus außerdem nicht nur auf einen einzigen Abschnitt des Objekts gesetzt, sondern zugleich auch verhindert, dass Licht aus anderen Ebenen des Objekts außer der zu interessierenden Schärfeebene aufgenommen wird. Dies ist hinsichtlich der FCS besonders wichtig, da eine Fluoreszenzanregung mehrerer Ebenen nicht verhindert werden kann und das Bild sonst sehr unscharf dargestellt werden würde.

## FCS

Bei einem auf FCS basierenden Mikroskop wird Licht (häufig von einem Laser) über einen Strahlteiler auf das Objektiv gelenkt, wo es durch eine Blende auf einen Punkt in der Schärfeebene des Objekts fokussiert wird. Als Strahlteiler dient dabei ein halbdurchlässiger Spiegel, welcher das Laserlicht reflektiert. Fluoreszenzlicht, welches vom Objekt nach Anregung durch das Laserlicht emittiert wird, kann den Strahlteiler hingegen passieren. Schematisch ist dies in Abbildung 1 dargestellt. Das FCS basiert auf Beobachtung von Fluoreszenzlichts, daher können nur Proben untersucht werden, die entweder selbst fluoreszierend sind oder aber mit Fluoreszenzmarkern versetzt werden können. Da sich entweder aufgrund der Brown'schen Bewegung oder durch Diffusionsprozesse Moleküle in wässriger Lösung stets in Bewegung befinden, durchlaufen sie die Schärfeebene auf willkürlichen Bahnen, wie es in der Abbil-

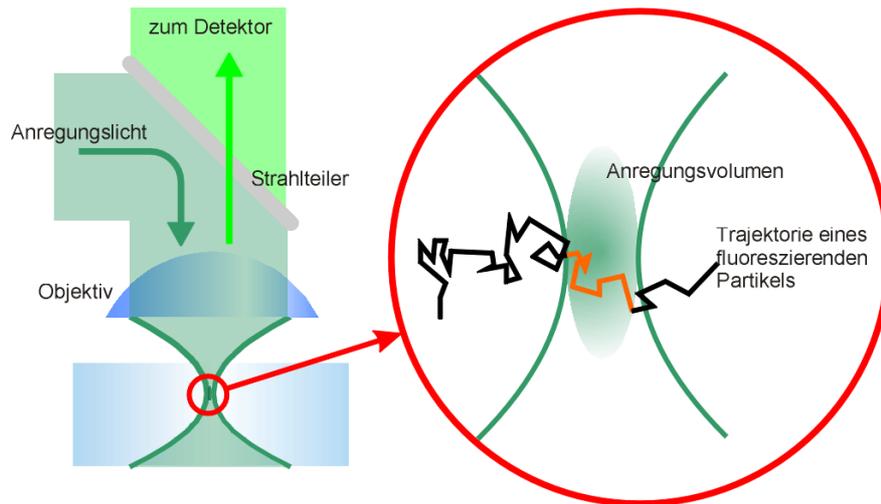


Abbildung 1: Schematischer Aufbau eines auf FCS basierenden Mikroskops (Quelle: [2]).

ung gezeigt ist. Bei Eintritt in das Anregungsvolumen werden die Moleküle zu Fluoreszenz angeregt. Das emittierte Licht wird dann detektiert. Da die Abtastrate des Photodetektors recht groß ist, passiert es häufig, dass von einem einzelnen Molekül mehrfach Signale ausgesandt werden, bis es das Anregungsvolumen vollständig passiert hat. Diese Signale sind dann zeitlich korreliert.

Um nun Aussagen über beispielsweise den Diffusionskoeffizienten oder die Struktur der zu untersuchenden Objekte machen zu können, wird an die am Photodetektor ankommenden Signale, genauer an der Fluoreszenzintensität  $F(t)$ , eine Autokorrelation durchgeführt. Für freie dreidimensionale Diffusion lautet die Autokorrelationsfunktion nach [1] beispielsweise

$$G(\tau) = \frac{1}{V \langle C \rangle} \cdot \frac{1}{1 + \frac{\tau}{\tau_D}} \cdot \frac{1}{\sqrt{1 + \left(\frac{r_0}{z_0}\right)^2 \cdot \frac{\tau}{\tau_D}}} \quad (2)$$

mit dem lateralen respektive radialen Auflösungsvermögen  $z_0$  und  $r_0$ , dem Anregungsvolumen  $V$ , der mittleren Konzentration  $\langle C \rangle$  der fluoreszierenden Teilchen und der Diffusionszeit  $\tau_D$ , welche gegeben ist durch

$$\tau_D = \frac{r_0^2}{4D} \quad (3)$$

Die Autokorrelationsfunktion beschreibt, wie abhängig zwei zeitlich durch  $\tau$  voneinander getrennte Intensitätssignale voneinander sind. In modernen FCS-Mikroskopen ist die Aufnahme der Intensität und die Durchführung der Autokorrelation automatisiert. Durch eine genaue Analyse der Funktion und fiten an die aufgenommenen Daten ist es möglich, die interessierenden Konstanten aus Gleichung (2) zu bestimmen.

## Hydrodynamischer Radius

In Diffusionsprozessen ist die Beschreibung der diffundierenden Teilchen unter Berücksichtigung von Elektronenwolken, Polarisationsprozessen und anderen wichtigen Effekten hochgradig nichttrivial. Häufig beschreibt man die Teilchen daher als hypothetische feste Kugeln mit hydrodynamischen Radien  $R$ , wel-

che dieselben Diffusionseigenschaften haben sollen wie die realen Teilchen. Der Radius lässt sich aus der Stokes-Einstein-Gleichung

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R} \quad (4)$$

gewinnen. Dabei ist  $D$  die Diffusionskonstante,  $T$  die Temperatur,  $k_B$  die Boltzmann-Konstante und  $\eta$  die Viskosität der Flüssigkeit.

## **II. Auswertung**

# Aufgabe 1: Reflexionsmikroskopie an nicht fluoreszierenden Objekten

Ziel der ersten Aufgabe war das Kennenlernen des Versuchsaufbaus sowie die genaue Bedienung des FCS-Mikroskops. Zunächst sollten Objekte untersucht werden, welche nicht zur Emission von Fluoreszenzlicht angeregt werden können. Im Gegensatz zu wässrigen Lösungen, die in späteren Aufgaben untersucht werden, bieten diese Objekte ein gutes optisches Feedback, da in der Vergrößerung anschaulich Details von beispielsweise einem Speicherchip oder einer CD dargestellt werden.

## Aufgabe 1.1: EPROM

Das erste zu untersuchende Objekt war ein EPROM (Erasable Programmable Read-Only Memory), ein Silizium-Speicherchip, welcher durch UV-Licht gelöscht werden kann. Dieser besteht neben dem eigentlichen Chip aus einem UV-durchlässigen Quarzfenster, welches über dem löschbaren Teil des Chips angebracht ist. Zur Übung wurde der Fokus des Mikroskops zunächst auf das Glas eingestellt und anschließend auf den eigentlichen Speicherchip. In Abbildung 2 ist die Oberfläche des EPROM in starker

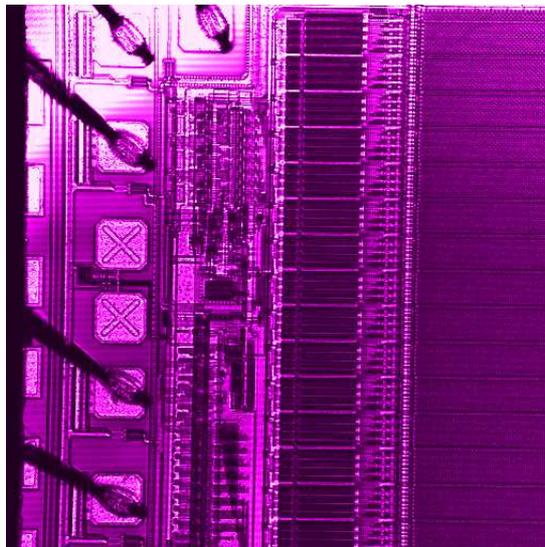


Abbildung 2: Aufnahme der Oberfläche des EPROM in Falschfarben. Als Farbpalette wurde dabei violett gewählt, um den Kontrast zu erhöhen.

Vergrößerung in Falschfarben zu sehen. Das Bild wurde automatisch von der Software des Mikroskops erstellt. Dabei ist neben der Wahl der Falschfarben-Palette (im Bild beispielhaft violett) auch die Abtastrate, die Vergrößerung und weitere Parameter des Mikroskops einstellbar. Um uns mit diesen Einstellungen näher vertraut zu machen, haben wir weitere Vergrößerungsstufen in einer kontrastverstärkenden Falschfarben-Einstellung eingestellt. Die daraus resultierenden Aufnahmen sind in Abbildung 3 zu sehen.

## Aufgabe 1.2: CD

Anschließend wurde eine CD mit Hilfe des Mikroskops untersucht. Bei ausreichender Vergrößerung sind dabei die Rillen der Datenspuren gerade noch so zu erkennen. Mit Hilfe der Software können die

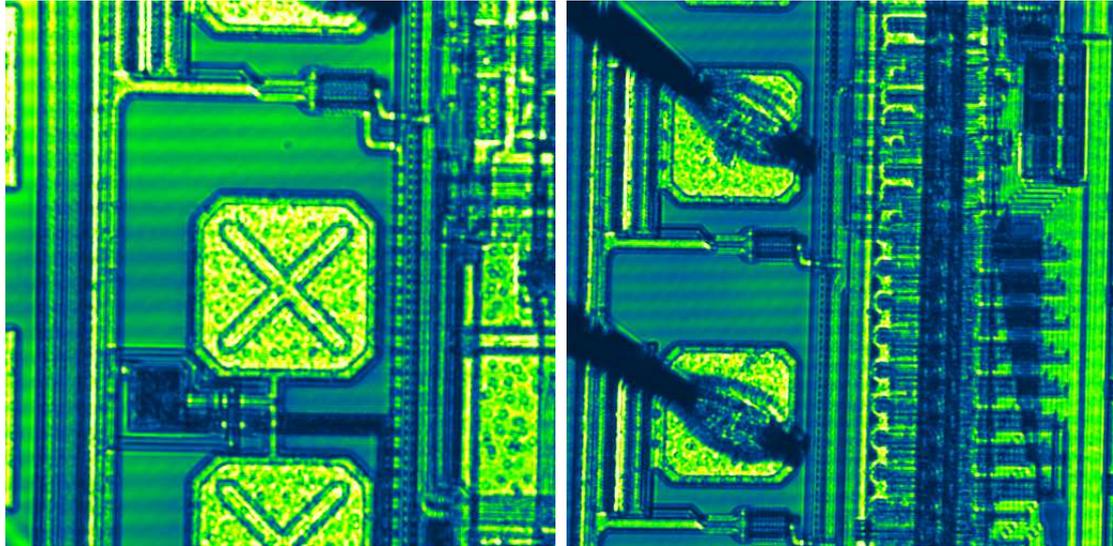


Abbildung 3: Vergrößerte Aufnahme des vorigen Bildes mit einer anderen Falschfarben-Palette. Neben weiteren Details des Chips ist an den Leiterbahnen im rechten Bild auch die Auflösungsgrenze des Mikroskops zu erahnen.

Messbalken	Messlänge in $\mu\text{m}$	Anzahl Datenspuren	Datenspurabstand in $\mu\text{m}$
1	7,3	5	1,46
2	21,0	14	1,50
3	15,0	10	1,50
4	13,0	9	1,44
5	18,0	12	1,50

Tabelle 1: Ergebnisse der Vermessung der Datenspuren einer CD. Zur Kontrasterhöhung wurde wieder eine Falschfarbendarstellung gewählt. Die Abstände wurden direkt von der Software geliefert, die Anzahl der Datenspuren manuell ausgezählt.

Abstände von beliebig vielen Rillen vermessen werden. In Abbildung 4 ist dies exemplarisch für einige Datenspuren dargestellt. Anhand der Darstellung können nun durch Abzählen der Datenspuren zusammen mit den jeweiligen Abständen leicht der Spurabstand bestimmt werden. In Tabelle 1 sind zunächst die aus Abbildung 4 erkennbaren Abstände zusammen mit der Anzahl der Datenspuren abgedruckt. Mittelt man über die fünf erhaltenen Werte, so erhält man einen mittleren Spurabstand von

$$d_{\text{balken}} \approx 1,48 \mu\text{m} . \quad (5)$$

Zur alternativen Bestimmung des Spurabstands wurde ein Linienprofil aufgenommen. Dabei gibt einem die Software automatisch über einen gewissen Bereich die Intensität in Abhängigkeit von der Position auf der (willkürlich zu wählenden)  $x$ -Achse. In Abbildung 5 ist die Breite des aufgenommenen Linienprofils zu sehen. Die Intensität  $I(x)$  in Abhängigkeit von der Position ergibt ein Bild von sechs voneinander verschobenen Gauß-Peaks. Führt man nun eine Regression der Form

$$I(x) = \sum_{i=1}^6 I_i \exp\left(-\frac{(x - x_i)^2}{2\omega_i}\right) \quad (6)$$

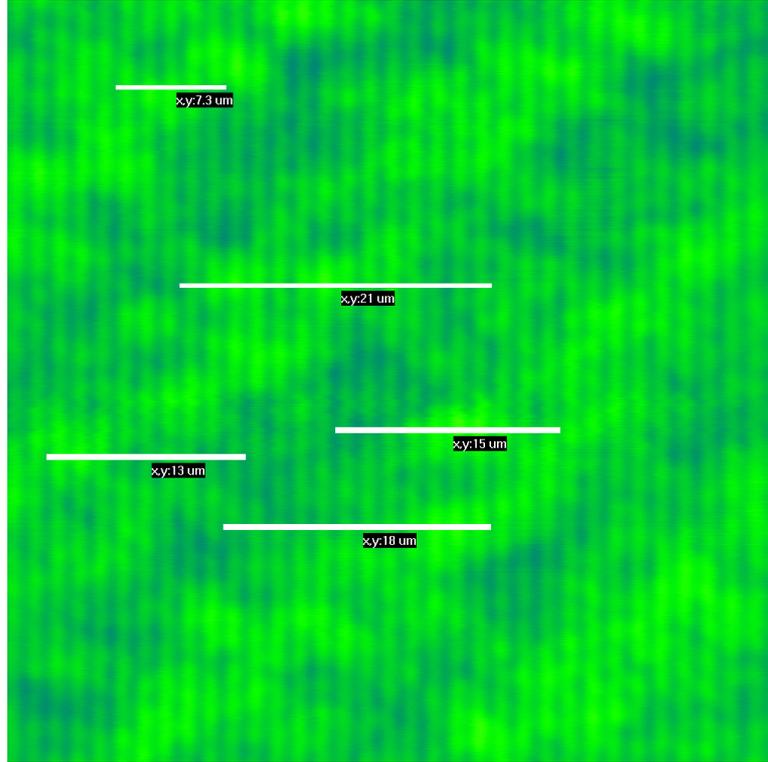


Abbildung 4: Aufnahme der Datenspuren einer CD (dunkle scharfe Linien) zusammen mit Messbalken inklusive der vermessenen Abstände aus der Software. Die blaugrünen, diagonalen Streifen stammen von Interferenzeffekten und gehören nicht zur eigentlichen Substruktur der CD.

an die Messdaten durch, so erhält man die in Tabelle 2 abgedruckten Fit-Parameter. Dabei wurden nur die für die Auswertung relevanten Parameter  $x_i$  inklusive Standardabweichung dargestellt. Die eigentlichen Fits sind in Abbildung 6 dargestellt. Aus den sechs Gauß-Peaks erhält man fünf verschiedene Abstände zwischen zwei Datenspuren, indem man die Differenz  $\Delta x_j = |x_j - x_{j+1}|$  zweier benachbarter Peak-Positionen für  $j = 1, 2, \dots, 5$  bildet. Dabei werden die Fehler mit der Gauß'schen Fehlerfortpflanzung vermöge

$$\sigma_{\Delta x_j} = \sqrt{\sum_i \left( \frac{\partial F}{\partial x_i} \sigma_i \right)^2} = \sqrt{\sigma_j^2 + \sigma_{j+1}^2} \quad (7)$$

Fit i	$x_i$ in $\mu\text{m}$
1	$-29,197 \pm 0,003$
2	$-27,783 \pm 0,003$
3	$-26,485 \pm 0,003$
4	$-25,066 \pm 0,003$
5	$-23,551 \pm 0,002$
6	$-22,168 \pm 0,002$

Tabelle 2: Fit-Parameter der Peak-Positionen inklusive Standardabweichungen des Multi-Gauß-Fits, wie sie von Origin geliefert wurden.

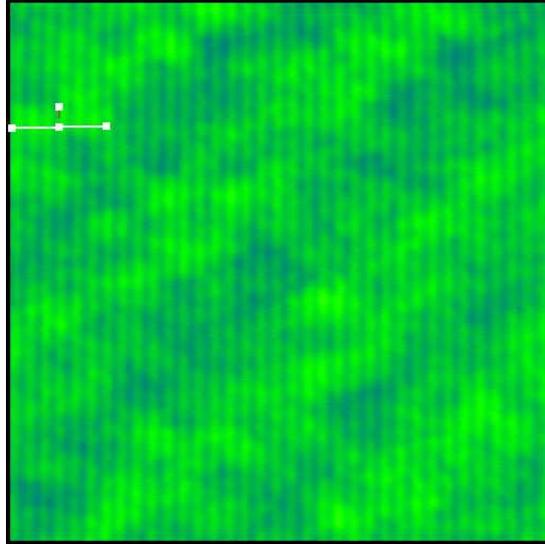


Abbildung 5: Gewählte Breite des Linienprofils. Mit Hilfe mehrerer Regressionen ist so der Abstand der Datenspuren bestimmbar.

Abstand j	$\Delta x_j$ in $\mu\text{m}$
1	$1,414 \pm 0,004$
2	$1,298 \pm 0,004$
3	$1,419 \pm 0,004$
4	$1,515 \pm 0,004$
5	$1,383 \pm 0,003$

Tabelle 3: Aus den Fit-Parametern errechnete Abstände inklusive Standardabweichungen.

berechnet. Auf diese Weise erhält man die in Tabelle 3 abgedruckten Abstände inklusive der Fehler. Mittelt man über alle erhaltenen Abstände, so ergibt sich letztlich der mittlere Abstand der Datenspuren zu

$$d_{\text{linie}} = (1,406 \pm 0,004) \mu\text{m} , \quad (8)$$

wobei die Standardabweichung erneut mit der Gauß'schen Fehlerfortpflanzung berechnet wurde. Ein Vergleich mit (5) zeigt eine gute Übereinstimmung der erhaltenen Spurabstände mit dem Messbalken- und Linienprofilverfahren.

Da in Abbildung 4 zu erkennen ist, dass die Datenspuren leicht verschwommen dargestellt werden, ist davon auszugehen, dass man mit der Linienbreite aus Gleichung (8) auch die Auflösungsgrenze des Mikroskops erreicht hat. Zum Vergleich soll das theoretische Auflösungsvermögen  $\Delta d$  aus Gleichung (1) bestimmt werden, wenn ein Laser der Wellenlänge  $\lambda = 633 \text{ nm}$  und einer numerischen Apertur des Objektivs von  $NA = 0,25$  (nach Herstellerangabe) verwendet wird. Man erhält dann

$$\Delta d \approx 1,545 \mu\text{m} \quad (9)$$

als Abbe'sche Auflösungsgrenze, was in der selben Größenordnung wie die Abstände der Datenspuren liegt.

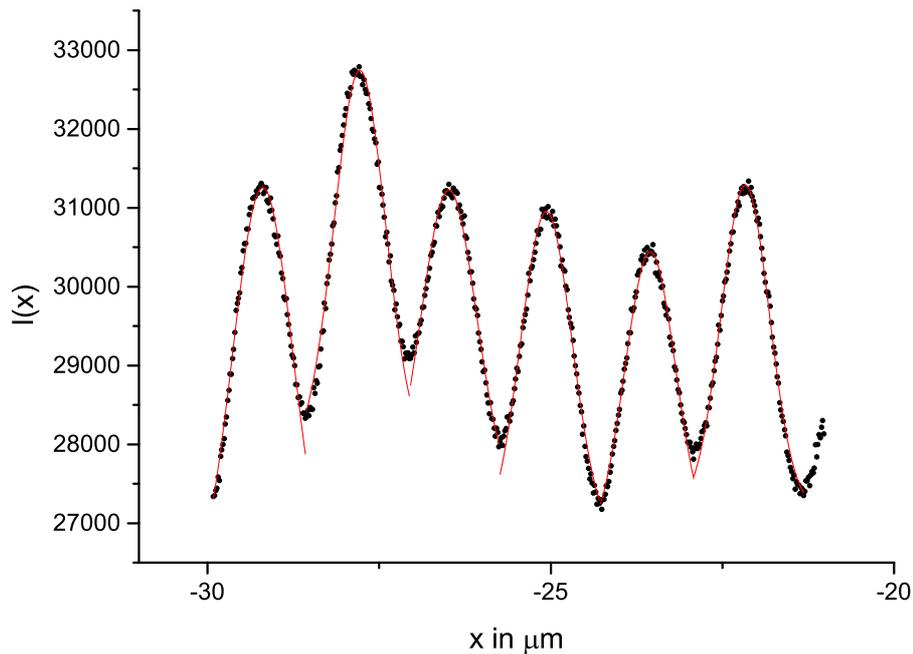


Abbildung 6: Intensität  $I(x)$  über der Position  $x$ , wie es als Linienprofil von der Software geliefert wurde. An die sechs Peaks wurde jeweils eine Gauß-Verteilung angepasst.

## Aufgabe 2: Mikroskopie an fluoreszierenden Kugeln

Im zweiten Aufgabenteil werden mittels FCS fluoreszierende Kugeln mit 100 nm Durchmesser untersucht. Da als Immersionsmedium Öl verwendet wurde, stieg die numerische Apertur und die Auflösungsgrenze wurde geringer, sodass solch feine Strukturen aufgelöst werden konnten. Da die Kugeln nach häufigem Anregen zu Fluoreszenz ihre Leuchtkraft verlieren, war das Auffinden einer solchen sehr schwierig. In Abbildung 7 ist eine Kugel in Falschfarbendarstellung zur Kontrasterhöhung dargestellt. Es wurde nun ein Linienprofil von dieser Kugel aufgenommen und an die Intensitätsverteilung  $I(x)$  über der Position  $x$  eine Regression in Form einer Gauß-Verteilung nach Gleichung (6) durchgeführt, wobei hier nur ein einziger Gauß-Peak auftrat. Das Linienprofil ist zusammen mit den Parametern der Regression in Abbildung 8 dargestellt. An der großen Streuung der Intensitäten sieht man zum einen, dass die Kugel nicht mehr ganz scharf abgebildet werden kann, zum anderen, dass die Fluoreszenzintensität der Kugeln bereits stark nachgelassen hat. Aus der Standardabweichung  $\omega$  erhält man die Halbwertsbreite  $\text{FWHM}_{\text{mess}}$  vermöge

$$\text{FWHM}_{\text{mess}} = 2\sqrt{2 \ln 2} \omega = (852, 845 \pm 32, 379) \text{ nm} \quad (10)$$

woraus sich mit der Kugel-Größe  $\text{FWHM}_{\text{kugel}} = 100 \text{ nm}$  das Auflösungsvermögen ergibt:

$$\text{FWHM}_{\text{aufl}} = \sqrt{\text{FWHM}_{\text{mess}}^2 - \text{FWHM}_{\text{kugel}}^2} = (846, 962 \pm 32, 604) \text{ nm} . \quad (11)$$



Abbildung 7: Fluoreszierende Kugel in Falschfarbendarstellung als heller Fleck in der Bildmitte. Die horizontalen Streifen sind Interferenzeffekte, die durch das Abrastern auftreten.

Dieser Wert liegt weit über der erwarteten Auflösungsgrenze, was sich auch durch den Vergleich mit dem theoretisch erreichbaren Wert bestätigt. Das Objektiv hat mit Öl als Immersionsmedium eine numerische Apertur von  $NA = 1,4$ , womit sich nach Gleichung (1) das Auflösungsvermögen

$$\Delta d \approx 275.807 \text{ nm} \quad (12)$$

ergibt. Die starke Abweichung des Messergebnisses könnte daran liegen, dass die Leuchtkraft der Kugeln bereits zu schwach war, um sie scharf auflösen zu können. Des Weiteren ist es denkbar, dass wir nicht eine einzelne Kugel, sondern mehrere aneinander klebende Kugeln vermessen haben, was den erhöhten Wert erklären könnte. Aufgrund der stark abweichenden Ergebnisse wurde in Absprache mit unserem Betreuer darauf verzichtet, das axiale Auflösungsvermögen oder den Durchmesser des Laserstrahls zu bestimmen.

### **Aufgabe 3: Fluoreszenzkorrelationspektroskopie an Partikeln in wässriger Lösung**

In dieser Aufgabe wird zum ersten Mal tatsächliche Fluoreszenzkorrelationspektroskopie betrieben. Zunächst wird eine bekannte Standardprobe untersucht und anschließend mit den daraus gewonnenen Informationen Parameter einer unbekanntenen Probe bestimmt.

#### **Aufgabe 3.1: Konfokales Anregungsvolumen des Mikroskops**

Als Referenzmessung für den nachfolgenden Versuchsteil sollte die Autokorrelationsfunktion von Atto655-Farbstoffmolekülen aufgenommen werden. Da es sich um eine dreidimensionale Diffusion handelt, kann Gleichung (2) für den Fit an die Messdaten verwendet werden. In Abbildung 9 ist die aufgenommene Autokorrelationsfunktion und die daran angepasste Kurve zu sehen. Der Fit beginnt erst ab einem Wert von  $\tau = 0,001 \text{ ms}$ , da die Daten zu noch früheren Zeitpunkten durch Aufnahmeeffekte gestört sind. Für

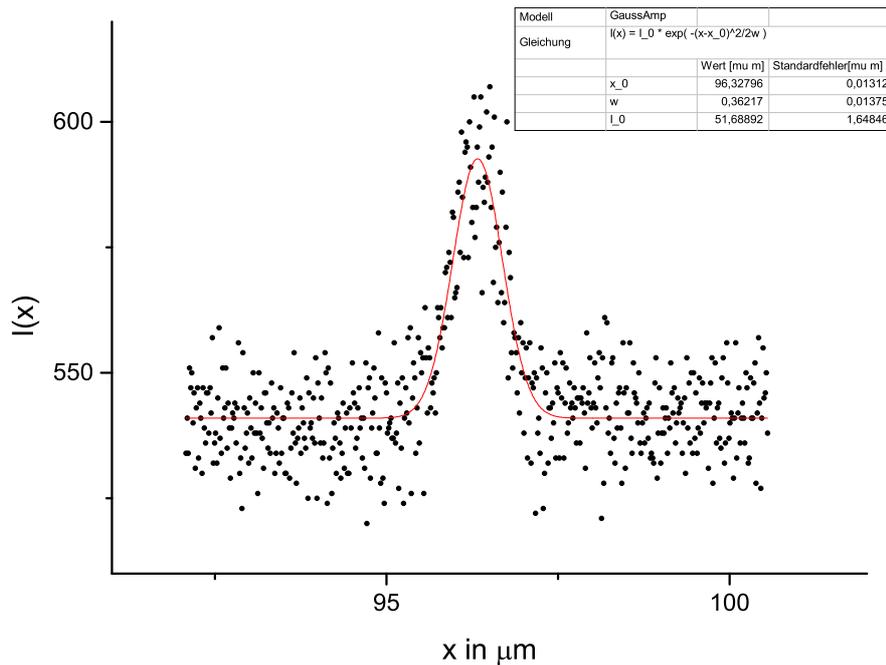


Abbildung 8: Linienprofil einer fluoreszierenden Kugel zusammen mit einer Gauß-Regression.

die drei freien Parameter in der Fit-Funktion ergeben sich

$$1/N = 0,0825 \pm 0,0019$$

$$\tau_D = (0,6692 \pm 0,2495) \text{ ms}$$

$$S = 6,230 \pm 1,556$$

Es gilt  $1/N = \frac{1}{V \langle C \rangle}$  und  $S = \frac{r_0}{z_0}$ . Für die verwendeten Farbstoffmoleküle kann der Diffusionskoeffizient aus der Vorbereitungsmappe entnommen werden. Für diesen gilt  $D(25^\circ\text{C}) = (426,0 \pm 5,0) \frac{\mu\text{m}^2}{\text{s}}$ , wobei der Fehler durch den Ablesefehler der Temperatur zustande kommt. Zusammen mit  $\tau_D$  und Gleichung (3) kann der Konfokalradius  $r_0$  zu

$$r_0 = \sqrt{4\tau_D D} = (1067 \pm 199) \text{ nm}$$

bestimmt werden. Mit diesem und dem Parameter  $S$  aus dem Fit erhält man schließlich auch

$$z_0 = S r_0 = (6651 \pm 2054) \text{ nm} .$$

Die Fehler wurden analog zu den vorigen Aufgaben über die Gaußsche Fehlerfortpflanzung berechnet.

### Aufgabe 3.2: Diffusionskoeffizient von FePt-Partikeln

Mit dem eben bestimmten Parameter  $r_0$  kann nun der Diffusionskoeffizient einer FePt-Probe gemessen werden. Dazu nahmen wir wieder das Autokorrelationsspektrum auf uns führten analog zum vorigen

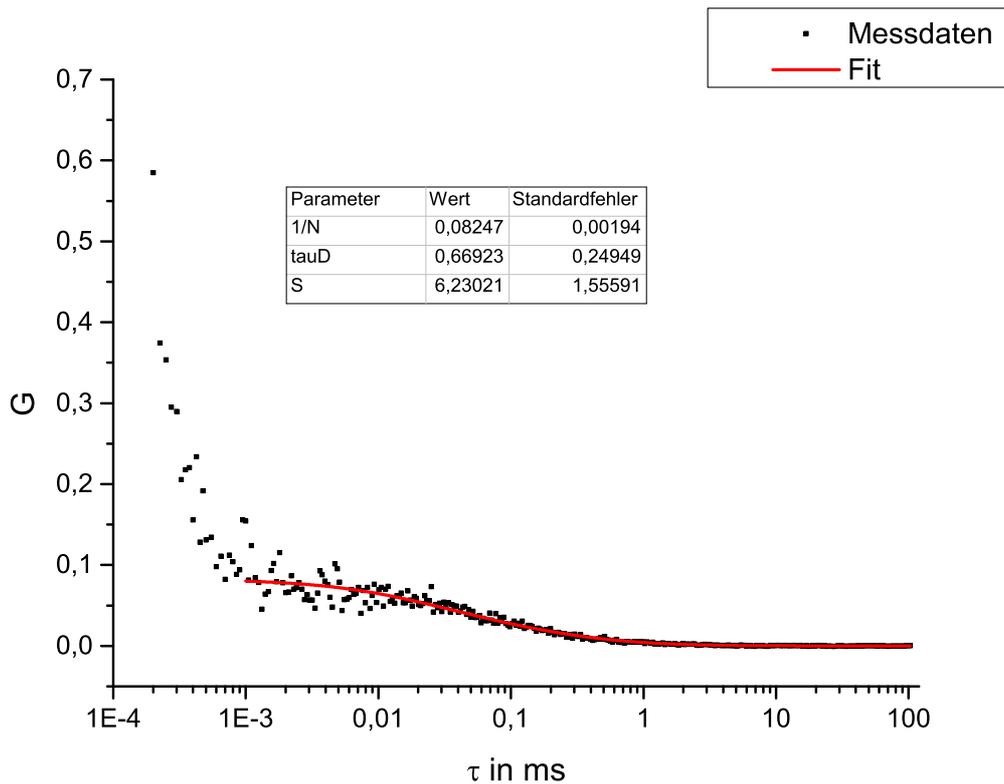


Abbildung 9: Autokorrelationsfunktion der Atto655-Farbstoffmoleküle.

Aufgabenteil einen Fit durch. Allerdings wurde nun der Parameter  $S$  festgehalten, da wir den Aufbau nicht verändert haben. In Abbildung 10 sind die Messwerte und die Fit-Funktion zu sehen. Die durch den Fit bestimmten Werte lauten

$$1/N = 0,0964 \pm 0,0036$$

$$\tau_D = (0,9695 \pm 0,1559) \text{ ms}$$

Der Diffusionskoeffizient kann nun einfach mit dem zuvor bestimmten  $r_0$  und dem neuen  $\tau_D$  berechnet werden

$$D = \frac{r_0^2}{4\tau_D} = (0,17 \pm 0,07) \frac{\mu\text{m}^2}{\text{s}}$$

Über Gleichung (4) kann zudem der hydrodynamische Radius  $R$  der Partikel bestimmt werden. Hierfür wird die Viskosität von Wasser benötigt, welche ebenfalls der Vorbereitungsmappe entnommen werden kann und  $\eta(25^\circ\text{C}) = (890,2 \pm 10) \frac{\mu\text{Pa}}{\text{s}}$  beträgt. So ergibt sich

$$R = \frac{k_B T}{6\pi\eta D} = (121 \pm 50) \text{ nm} ,$$

wobei als Ablesefehler der Temperatur  $0,5^\circ\text{C}$  angenommen wurden.

Insgesamt wirkt der Wert für den Diffusionskoeffizienten nicht sehr genau, er liegt um 3 Größenordnungen unter dem der Atto655-Farbstoffmoleküle. Wir vermuten, dass dies durch die Schwierigkeiten beim Fit-ten zustande kommt. Je nach Startwerten der Parameter fluktuieren die Ergebnisse recht stark. Zudem ist

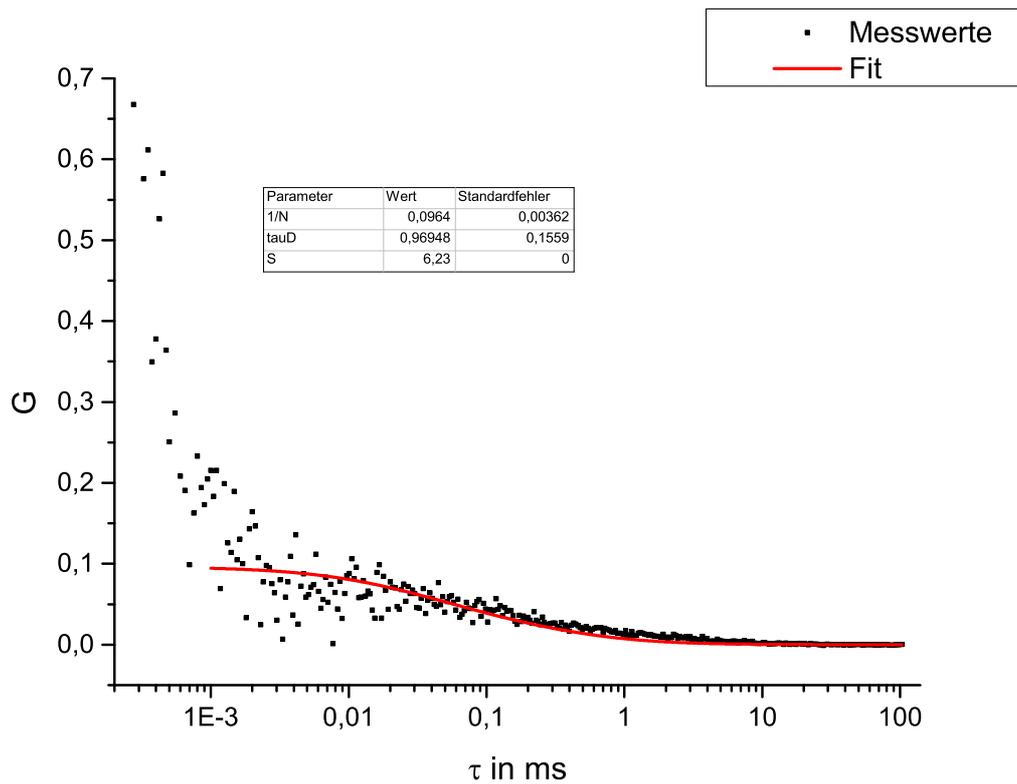


Abbildung 10: Autokorrelationsfunktion der FePt-Partikel.

die Streuung der Messpunkte im Anfangsbereich des Fits groß, was für eine unzureichende Genauigkeit der Messung spricht.

## Literatur

[1] Vorbereitungsmappe zum Versuch FCS

[2] [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:FCS\\_aufbau.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:FCS_aufbau.png)

# Korrektur

## Aufgabe 3.1: Konfokales Anregungsvolumen des Mikroskops

Vergrößerte Ansicht des interessanten Messbereichs.

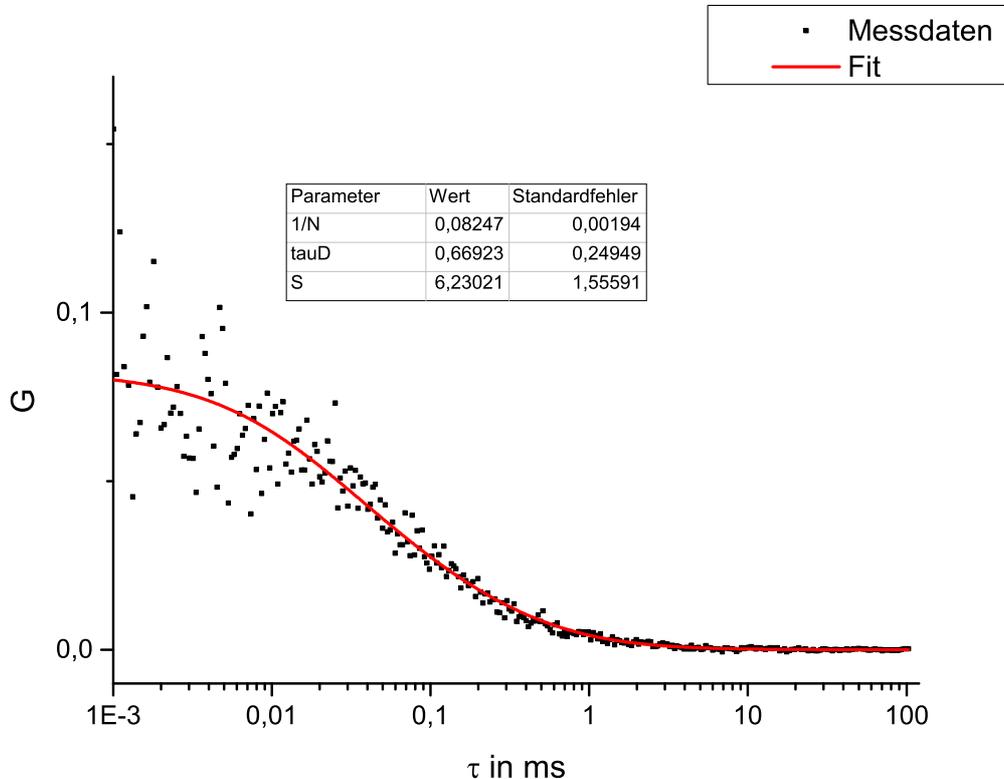


Abbildung 1: Autokorrelationsfunktion der Atto655-Farbstoffmoleküle.

## Aufgabe 3.2: Diffusionskoeffizient von FePt-Partikeln

Beim Diffusionskoeffizienten kam es zu einem Rechenfehler. Der korrekte Wert lautet

$$D = \frac{r_0^2}{4\tau_D} = (293 \pm 119) \frac{\mu\text{m}^2}{\text{s}} .$$

Entsprechend erhalten wir als neuen Wert für den hydrodynamischen Radius

$$R = \frac{k_B T}{6\pi\eta D} = (83 \pm 33) \text{ nm} ,$$

wobei als Ablesefehler der Temperatur  $0,5^\circ\text{C}$  angenommen wurden.

Wir haben beim Fitten auf den Blinking-Term verzichtet, da mit diesem keine brauchbaren Ergebnisse erzeugt werden konnten. Der Diffusionskoeffizient liegt nun in derselben Größenordnung wie der der Atto655-Farbstoffmoleküle. Da die Fehler der Fitkurve sowohl bei den Atto655-, als auch bei den FePt-Molekülen sehr groß sind, ist davon auszugehen, dass unsere Werte alles andere als genau sind.

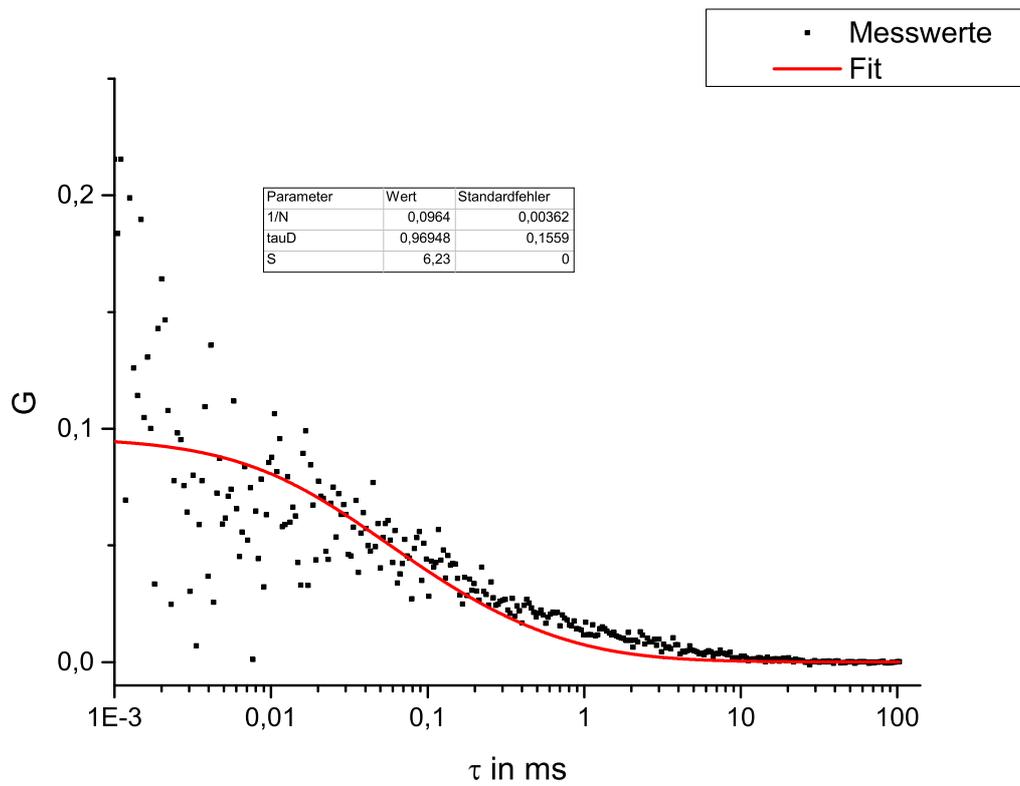


Abbildung 2: Autokorrelationsfunktion der FePt-Partikel.