

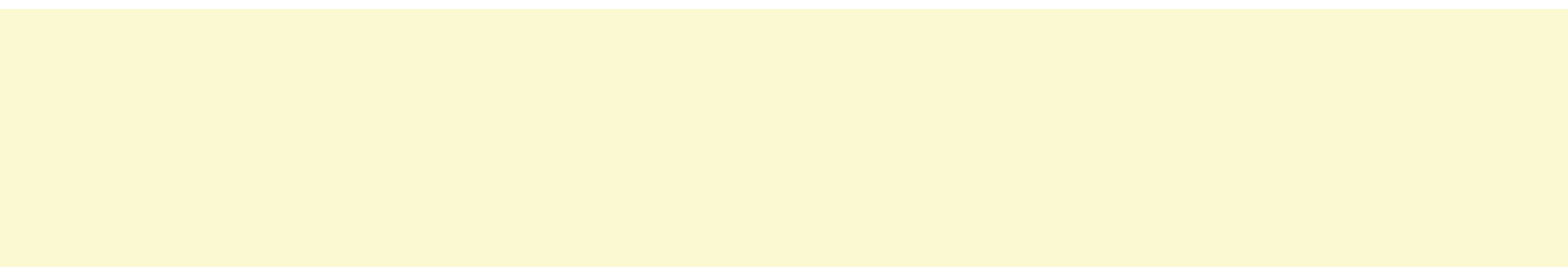


Forschungsergebnisse

Optische Technologien

der Baden-Württemberg Stiftung gGmbH

**Nanostrukturierte GRIN-Linsen
als kompakte optische Sensoren**



Nanostrukturierte GRIN-Linsen als kompakte optische Sensoren

Für Anwendungen in der markierungsfreien optischen Bio-Sensorik wurden metallische Nanostrukturen auf der Oberfläche von Gradienten-Index-Linsen hergestellt, charakterisiert und mit Erkennungsstrukturen versehen, welche die spezifische Anbindung bestimmter Target-Moleküle ermöglichen. Die strukturierten Linsen wurden direkt in mikrofluidische Flusszellen integriert. Die Anbindung wurde durch die spektrale Verschiebung der Plasmonenresonanz der Nanostrukturen detektiert. Die Anordnung ermöglicht eine kompakte miniaturisierte Sensorumgebung.

Im Rahmen des Projektes „Hybride GRIN-Resonatoren und plasmonisch strukturierte GRIN-Linsen als kompakte Sensoren zur Spektro-Mikroskopie von Einzelpartikeln“ im Forschungsprogramm „Optische Technologien“ der Baden-Württemberg-Stiftung wurden optische Hybridsysteme aus Gradienten-Index-Optiken (GRIN-Linsen) und metallischen Nanostrukturen hergestellt. Ein zweiter Ansatz des Projektes, in welchem eine verspiegelte GRIN-Linse als Teil eines optischen Resonators eingesetzt wurde, wurde bereits vorgestellt [1].

Ziel des Gesamtprojektes war es, die kleine und kostengünstige Bauform der GRIN-Linsen für die Analytik nutzbar zu machen und so eine optische Plattform für die patientennahe Diagnostik zu entwickeln. Der Ansatz soll ermöglichen, komplexe und kostenintensive optische Laboraufbauten, die bisher für den Nachweis von Stoffwechselprodukten oder Viren notwendig sind, zu vereinfachen. Point-of-Care (POC) Diagnosesysteme ermöglichen die Messung wichtiger klinischer Parameter eines Patienten direkt am Krankenbett oder gar zu Hause [2]. Sie können sich aber nur durchsetzen, wenn sie eine ausrei-

chende klinische Nachweisgrenze und Selektivität zeigen, wenig Probenmaterial benötigen, kostengünstig, leicht bedienbar und transportierbar sind. Zur Detektion werden meistens fluoreszenzbasierte oder elektrochemische Sensoren verwendet [3]. Im Rahmen dieses Projektes wurde der Fokus auf eine einfache, kleine Variation eines Marker-freien Detektionssystems gelegt.

Optische Sensoren durch Verschiebung der Plasmonenresonanz

Unter direkt-optischen Bio-Sensoren versteht man im weitesten Sinne Systeme, die als direkte Folge einer biologischen Wechselwirkung eine optisch nachweisbare Änderung erfahren. Die Biofunktionalisierung der Oberflächen ist dabei ein wesentlicher Schritt, um aus einem sensitiven System auch ein selektives zu schaffen. Häufig erfolgt der Bindungsnachweis über Wechselwirkungen zwischen Rezeptoren und Antikörpern [4]. Ein Konzept zur Realisierung sind Sensoren, die auf der lokalisierten Oberflächenplasmonenresonanz (localized surface plasmon resonance, LSPR) von metallischen Nanostrukturen beruhen [5, 6].

Unter plasmonischen Nanostrukturen versteht man Partikel, deren Leitungselektronen durch Einstrahlung von Licht zu kohärenten Schwingungen (Plasmonen) angeregt werden, siehe Abb. 1(a). Bei geeigneter Wahl der Wellenlängen-abhängigen dielektrischen Funktion $\epsilon_m(\lambda)$ der Metallpartikel und der Permittivität ϵ_d des umgebenden Dielektrikums wird eine Plasmonen-Resonanz mit einem hohen optischen Streuquerschnitt beobachtet. Die Intensität und Resonanzfrequenz hängen stark von Größe, Form und Material der Struktur ab und können so auf die jeweilige Anwendung zugeschnitten werden. Durch die Kombination solcher Strukturen mit herkömmlichen optischen Detektionsverfahren lassen sich sehr niedrige Nachweisgrenzen realisieren. Das Detektionsprinzip von LSPR-Sensoren beruht darauf, dass sich bei Anlagerung von Analyt-Molekülen auf einer Nanostruktur, die eine bestimmte Plasmonen-Resonanz aufweist, der lokale effektive Brechungsindex erhöht. Damit erhöht sich auch ϵ_d , und die Resonanzbedingung verschiebt sich zu längeren Wellenlängen (Abb. 1(b,d)).

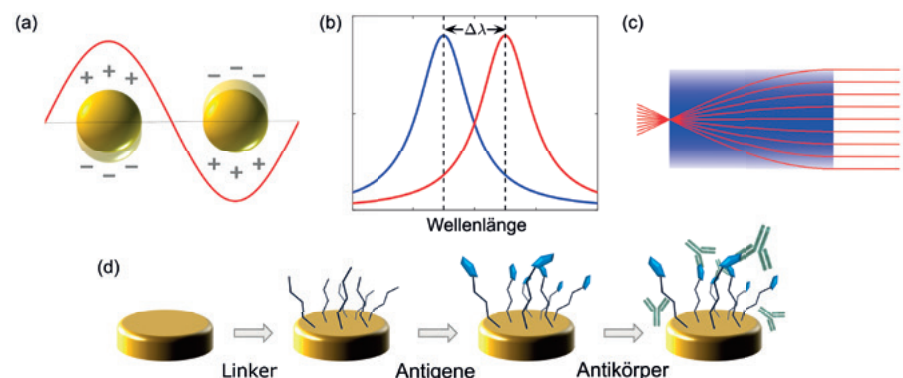


Abb. 1: (a) Bei Beleuchtung mit einer elektromagnetischen Welle werden Plasmonen (Oszillationen der Leitungselektronendichte) in metallischen Nanostrukturen angeregt; (b) normierte Intensität in Abhängigkeit von der Wellenlänge: Verschiebung der Plasmonen-resonanz bei Erhöhung des lokalen Brechungsindex durch die Anbindung von Analyt-Molekülen, blau: Resonanz vor Anbindung, rot: nach Anbindung; (c) Strahlengang durch eine GRIN-Linse; (d) Gold-Nanostruktur, Belegung mit Erkennungsstruktur (Rezeptor) und spezifische Anlagerung von Antikörper (Analyt)

Diese Verschiebung kann sehr exakt bestimmt werden. Da sie auch von der Menge der angelagerten Moleküle abhängt, lässt sich über eine Kalibrierkurve näherungsweise die Analyt-Konzentration bestimmen.

Nanostrukturierte Gradienten-Index-Linsen (GRIN-Linsen) in einem Mikrofluidik-Kanal

Das zentrale Element des hier entwickelten optischen Hybridsystems sind GRIN-Linsen mit hoher numerischer Apertur (siehe Abb. 2(a)). Diese kostengünstigen Linsen werden millionenfach zur Miniaturisierung und Integration faseroptischer Systeme eingesetzt. Die Linsenwirkung einer GRIN-Linse entsteht – im Gegensatz zu einer konventionellen Linse – durch ein definiertes radiales Brechzahlprofil im Material. Damit lassen sich gewölbte Oberflächen durch ebene optische Grenzflächen ersetzen, was ermöglicht, die Objektebene direkt auf die plane Oberfläche zu legen (Abb. 1(c)) [7]. So befinden sich Nanostrukturen auf der Oberfläche per se im Fokus, womit eine aufwändige Justierung der Optiken entfällt.

Zunächst wurden mit gängigen Nanostrukturierungs-Verfahren plasmatische Goldscheibchen auf der Stirnfläche von GRIN-Linsen hergestellt (Abb. 2). Die Abmessungen der Nanoscheibchen wurden mit einem Rasterelektronen-Mikroskop (REM) bestimmt (Abb. 2(d)). Ihre optischen Eigenschaften wurden in einem inversen Dunkelfeld-Mikroskop mit Spektrometer untersucht. Dazu wurde die Probe unter einem hohen Winkel beleuchtet, so dass nur das Streulicht der Strukturen vor einem dunklen Hintergrund detektiert wird (Abb. 2(b, c)). Zusätzlich wurden die Resonanzkurven der Goldscheibchen in Form von Extinktionsspektren aufgenommen.

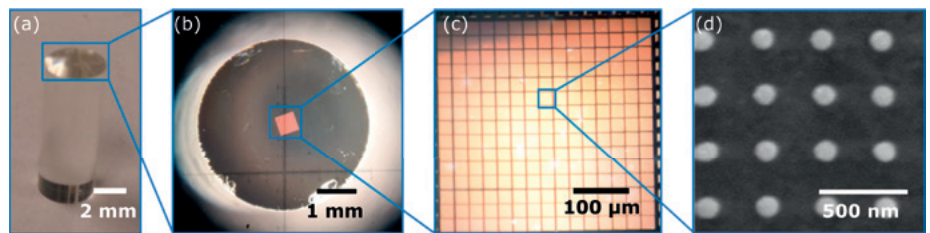
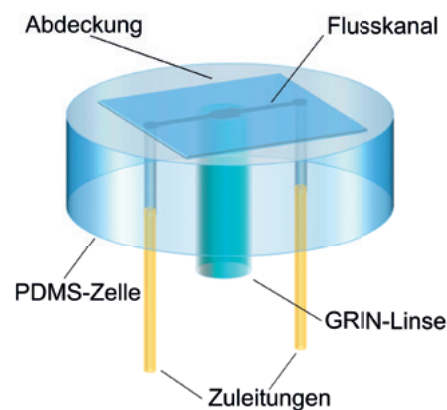


Abb. 2: (a) Zylinderförmige GRIN-Linse, (b,c) Dunkelfeld-Abbildungen von Feldern aus Gold-Nanoscheibchen auf der Stirnfläche einer GRIN-Linse, (d) REM-Bild der mit Elektronenstrahl-Lithografie und Lift-Off hergestellten Goldscheibchen

Für das Sensor-Setup wurden Flusszellen aus Polydimethylsiloxan (PDMS) konstruiert, die es ermöglichen, verschiedene Lösungen kontrolliert über die Nanostrukturen auf der Linsen-Oberfläche fließen zu lassen. Dazu wurde die nanostrukturierte GRIN-Linse in eine PDMS-Form eingegossen, die einen durch optische Lithografie hergestellten Mikrofluidik-Kanal sowie Zuleitungen zu diesem Flusskanal enthält. Somit befand sich die Stirnfläche mit den Goldscheibchen im Kanal, welcher durch ein Glasplättchen verschlossen wurde (Abb. 3).

Der GRIN-LSPR-Sensor wurde hier zum Nachweis von Testosteron-Antikörper aus einer Lösung eingesetzt. Zur Minimierung unspezifischer Bindungen und Immobilisierung der Antikörper wurde die Oberfläche der Goldscheibchen mit einer spezifischen Erkennungsstruktur aus einem Linker-Molekül und einem Rezeptor für den Analyten versehen (Abb. 1(d)) [6].



Nanostrukturierte GRIN-Linsen als Brechungsindex-Sensoren

Als nächstes wurde die Sensitivität der Nanostruktur-Eigenschaften auf Änderungen in ihrer Umgebung untersucht. Dazu wurden Flüssigkeiten mit verschiedenen Brechungsindizes durch den Kanal gepumpt. Gleichzeitig wurden die Spektren des durch die GRIN-Linse transmittierten Lichts aufgenommen und die Maxima der Resonanzkurven für jeden gemessenen Zeitpunkt aufgezeichnet. Im Beispiel Abb. 4(a) wurden abwechselnd Wasser und Wasser/Glycerin-Gemische mit wachsendem Glycerin-Anteil durch die Flusszelle gepumpt, sodass der Brechungsindex jeweils um $\Delta n = 0,01$ anstieg. Die Index-abhängige Verschiebung und jeweilige Rückkehr zur Basislinie sind deutlich zu erkennen. Die Verschiebung in Abhängigkeit von der Brechungsindex-Änderung erfolgt näherungsweise linear. Mit der Sensor-Anordnung ist es somit möglich, Brechungsindex-Änderungen deutlich unter 0,01 zu detektieren.

Abb. 3: Schema der PDMS-Flusszelle mit integrierter strukturierter GRIN-Linse

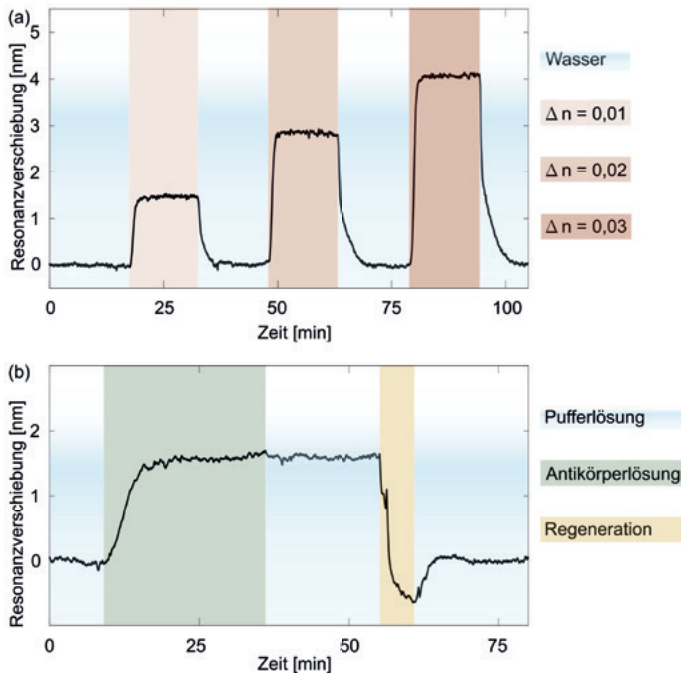


Abb. 4: Sensitivitätsmessung von Gold-Nanoscheibchen auf der Oberfläche einer GRIN-Linse. (a) Zeitlicher Verlauf der Messung mit Wasser/Glycerin; (b) Messung zum Testosteron-Antikörper-Nachweis durch die Verschiebung der Resonanz-Wellenlänge bei Anbindung von Antikörper (grüner Bereich, Konzentration 20 mg/L) und Regeneration (gelber Bereich)

Die Anwendung als Biosensor wurde mit Testosteron-Antikörper als Testsystem gezeigt. In Abb. 4(b) sieht man einen Zyklus mit Anbindung des Antikörpers und Regeneration. Die Empfindlichkeit der Nanostrukturen auf Brechungsindexänderungen reicht aus, um auch kleinste Änderungen nachzuweisen, wie sie z.B. von der Anbindung weniger Biomoleküle hervorgerufen werden.

Zusammenfassung

Kleine zylinderförmige GRIN-Linsen wurden als Oberfläche und fokussierendes Element für die Spektroskopie plasmonischer Nanostrukturen eingesetzt. So konnten miniaturisierte Flusszellen zur optischen Detektion geringer Brechungsindex-Änderungen in der Umgebung der Nanostrukturen realisiert werden. Damit können sowohl makroskopische Eigenschaften von Flüssigkeiten als auch die spezifische Anlagerung von Analyt-Molekülen nachgewiesen werden. Durch den allgemeinen Charakter dieses Detektions-Prinzips hat die Methode Potenzial für zahlreiche Anwendungen,

in welchen hohe Empfindlichkeiten bei gleichzeitig geringen Testvolumina erwünscht sind.

Referenzen

[1] M. Metzger, A. Konrad, T. Menold, H. Go, A. Horrer, S. Rau, G. Gauglitz, M. Fleischer, D.P. Kern, D. Zhang, A.J. Meixner, A. Modler, M. Brecht, Kompakter optischer Sensor für raum aufgelöste Echtzeitmessungen des Brechungsindexes, Photonik 1, 40 (2014)

[2] C.P.Y. Chan, W.C. Mak, K.Y. Cheung, K.K. Sin, C.M. Yu, T.H. Rainer, R. Renneberg: Evidence-based point-of-care diagnostics: Current status and emerging technologies, Annu. Rev. Anal. Chem. 6, 191-211 (2013)

[3] K.N. Han, C.A. Li and G.H. Seong: Microfluidic chips for immunoassays, Annu. Rev. Anal. Chem. 6, 119-141 (2013)

[4] P. Fechner, G. Gauglitz, J.A. Gustafsson: Nuclear receptors in analytics - a fruitful joint venture or a wasteful futility? Trends Anal. Chem. 29(4), 297-305 (2010)

[5] E. di Fabrizio, S. Schlücker, J. Wenger, R. Regmi, H. Rigneault, G. Calafiore, M. West, S. Cabrini, M. Fleischer, N. van Hulst, M.F. Garcia-Parajo, A. Pucci, D. Cojoc, C.A.E. Hauser, M. Ni: Roadmap on biosensing and photonics with advanced nano-optical methods, J. Opt. 18, 063003 (2016)

[6] A. Horrer, K. Krieg, S. Rau, G. Gauglitz, D.P. Kern, M. Fleischer: Plasmonic vertical dimer arrays as elements for biosensing, Anal. Bioanal. Chem. 407(27), 8225-8231 (2015)

[7] C. Gomez-Reino, M.V. Perez, C. Bao, M.T. Flores-Arias: Design of GRIN optical components for coupling and interconnects, Laser & Photon. Rev. 2(3), 203-215 (2008)

Kontakt:

Andreas Horrer
andreas.horror@uni-tuebingen.de
Prof. Dr. Monika Fleischer
monika.fleischer@uni-tuebingen.de

Institut für angewandte Physik und Zentrum LISA+
Eberhard Karls Universität Tübingen
Auf der Morgenstelle 10
72076 Tübingen
Tel.: 07071 29-76336
www.uni-tuebingen.de/plasmonics

Prof. Dr. Marc Brecht

Institut für Physikalische und Theoretische Chemie
Eberhard Karls Universität Tübingen
Auf der Morgenstelle 18
72076 Tübingen
Tel.: 07071 29-76239
www.uni-tuebingen.de

Prof. Dr. Dieter Kern

Institut für Angewandte Physik
Eberhard Karls Universität Tübingen
Auf der Morgenstelle 10
72076 Tübingen
Tel.: 07071 29-76058
www.uni-tuebingen.de

Prof. Günter Gauglitz

Institut für Physikalische und Theoretische Chemie
Eberhard Karls Universität Tübingen
Auf der Morgenstelle 18
72076 Tübingen
Tel.: 07071 29-76927
www.uni-tuebingen.de