

Grenzflächenuntersuchungen an biologischen Proben mit einem optischen Nahfeldsensor

Julia Hahn, Jürgen Petter, Theo Tschudi

Institut für Angewandte Physik, Technische Universität Darmstadt
<mailto:julia.hahn@physik.tu-darmstadt.de>

Optische Nahfeldtechniken eignen sich zur hochaufgelösten Charakterisierung von Grenzschichtprozessen [1,2]. Vorgestellt werden Anwendungsbeispiele in Strömungslehre und Biologie eines integriert-optischen Evaneszentfeldsensors aus Lithiumniobat.

1 Motivation

Um Austauschprozesse von Impuls, Wärme oder Stoff zwischen zwei Systemen zu verstehen, sind räumlich hochaufgelöste Untersuchungen dieser Prozesse an den Grenzflächen von großem Interesse für Ingenieurs- und Naturwissenschaften.

Mit dem verwendeten optischen Nahfeldsensor sind Untersuchungen innerhalb einer Grenzschicht von einigen 10 nm Dicke möglich. Hierzu wird das evaneszente Feld einer in einem optischen Wellenleiter geführten Lasermode verwendet. Strukturen von einigen μm Breite, die durch Eindiffusion von Titan in einen Lithiumniobatkristall geschrieben werden, dienen als wellenleitende Kanäle. Wird nun eine Probe auf dieser Struktur platziert, können fluoreszierende Moleküle, mit denen die Probe angefärbt wurde, an der Grenzschicht angeregt werden, wie in Abb. 1 dargestellt. [3]

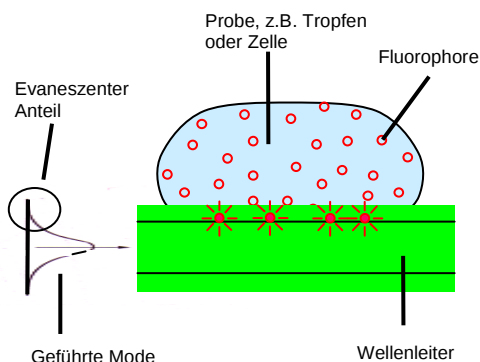


Abb. 1 Anregung fluoreszenter Moleküle in der Grenzschicht durch den evaneszenten Anteil der im Wellenleiter geführten Lichtmode.

Das exponentiell abklingende evaneszente Feld wird charakterisiert durch seine Eindringtiefe d_p , die als der Wert definiert ist, bei dem die Feldstärke auf $1/e$, bzw. die Intensität auf $1/e^2$ abgefallen ist. Für die von uns verwendeten Geometrien liegt dieser Wert in der Größenordnung von $d_p \sim 40 - 50 \text{ nm}$. (Zur Berechnung wurde die erste TE-Mode ($\lambda = 532 \text{ nm}$) für

einen in Lithiumniobat titaneindiffundierten Wellenleiter von 2-4 μm Tiefe und 5-6 μm Breite zugrunde gelegt, sowie Wasser als Medium, in das die evaneszente Welle eindringt.)

2 Evaneszentfeldanregung von Fluoreszenz in der Grenzschicht

Um die Evaneszentfeldanregung von Fluoreszenz in der Grenzschicht zu demonstrieren, wurde der Farbstoff DCM in einem Tropfen Ethanol gelöst und über einem 6 μm breiten Wellenleiter platziert. Die Grenzschicht wurde auf eine sich über dem Wellenleiter befindliche CCD-Kamera abgebildet. Der Tropfen wurde in Richtung des Wellenleiters mit Druckluft angetrocknet, wie in Abb. 2 links skizziert. Beim Trocknen erhöhte sich die Konzentration des Farbstoffes in der Grenzschicht, wo er durch das evaneszente Feld der im Wellenleiter geführten Mode bei $\lambda = 532 \text{ nm}$ angeregt wurde. Eine zeitliche Sequenz der Fluoreszenzanregung des im verdampfenden Tropfen gelösten Farbstoffs ist in Abb. 2 rechts dargestellt. Die Bilder wurden jeweils im Abstand von $\Delta t = 0,33 \text{ s}$ aufgenommen.

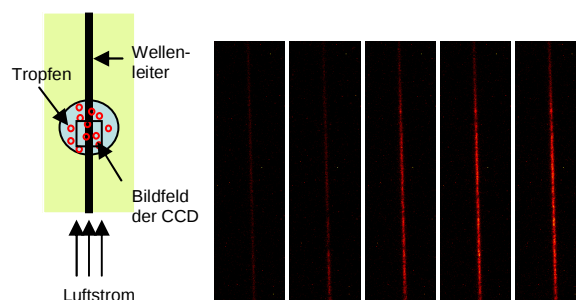


Abb. 2 Links: Versuchsaufbau zur Beobachtung der Fluoreszenzanregung über dem Wellenleiter beim Verdampfen des Lösungsmittels. Rechts: Mit der CCD-Kamera aufgenommene Sequenz der Fluoreszenzanregung.

3 Steigerung der Anregungseffizienz durch Beschichtung

Um die Intensität des evaneszenten Feldes zu verstärken, wurden die Strukturen mit hochbrechendem Rutil n_o ($\lambda = 532 \text{ nm}$) $\sim 2,66$ beschichtet (Dicke $d = 80 \text{ nm}$). Hierdurch wurde eine effizientere Anregung bei gleicher Tiefenauflösung ermöglicht. In Abb. 3 ist die gemessene Fluoreszenz eines verdunstenden Tropfens über der Zeit aufgetragen. Als blaue Kurve (Kreise) sind die Messwerte im unbeschichteten Bereich aufgetragen, als rote Kurve (Quadrate) die im beschichteten Bereich. Die Messungen wurden simultan mit einem Sensor durchgeführt, dementsprechend sind Anregungswellenlänge und -intensität sowie die Geometrie des Wellenleiters identisch.

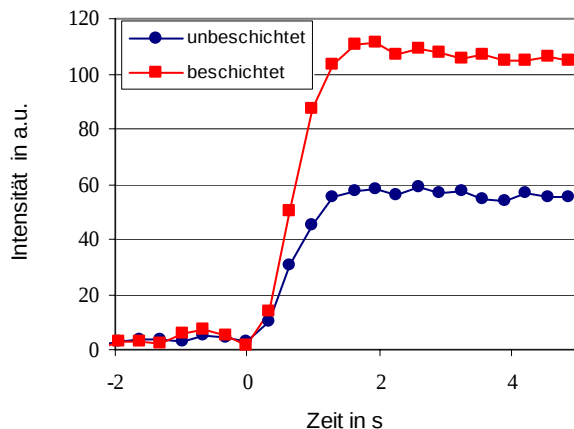


Abb. 3 Zeitliches Verhalten der Fluoreszenzanregung beim Verdampfen eines Tropfens auf einem teilbeschichteten Wellenleiter.

Das zeitliche Verhalten des Verdampfungsprozesses ist in beiden Bereichen identisch, die gemessene Intensität ist im beschichteten Bereich etwa doppelt so hoch wie im unbeschichteten.

4 Grenzflächenuntersuchungen an biologischen Proben

Verwendet wurden mit dem Farbstoff „Mitotracker“ der Firma Invitrogen angefarbte Mäusefibroblasten, angeregt wurde mit $\lambda = 488 \text{ nm}$. Im Vergleichsbild im Durchlicht in Abb. 4 links sind zwei Zellen sichtbar, von denen sich nur eine (Zelle 1) auf dem Wellenleiter befindet. Wird nun die Fluoreszenz des Farbstoffs mit dem evaneszenten Feld angeregt, wird diese nur in Zelle 1 sichtbar, Zelle 2 bleibt dunkel. Entscheidend hierbei ist die Auflösung senkrecht zur Kristallfläche: Durch die Evaneszenzfeldanregung stammt die sichtbare Fluoreszenz ausschließlich aus der einige 10 nm dicken Grenzschicht der Zelle oberhalb des Wellenleiters.

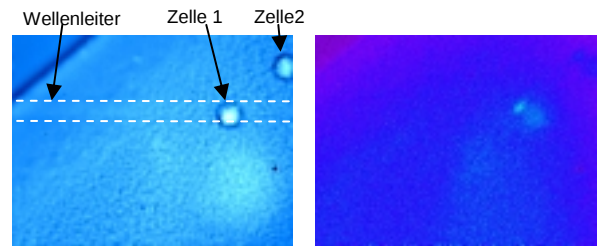


Abb. 4 Links: Vergleichsbild zweier Zellen im Durchlicht. Rechts: Angeregte Fluoreszenz von Zelle 1 über dem Wellenleiter

5 Diskussion

Die evaneszenten Felder einer in einem Wellenleiter geführten Mode konnten zur Anregung fluoreszierender Farbstoffe in der Grenzschicht von einigen 10 nm Dicke verwendet werden. Durch Beschichtung der Wellenleiterstrukturen mit hochbrechenden Materialien konnte eine Verdopplung der Anregungsintensität erzielt werden.

6 Zusammenfassung

Zur Untersuchung von Grenzschichtprozessen in Strömungslehre und Biologie wurde ein integriert-optischer Nahfeldsensor verwendet. Mit diesem konnte die Fluoreszenzanregung in der Grenzschicht der Proben durch das evaneszente Feld realisiert werden. Somit konnten Untersuchungen mit höchster Tiefenauflösung durchgeführt werden.

7 Dank

Bedanken möchten sich die Autoren bei Christian Rüter von der AG Prof. Kip, TU Clausthal für die Zusammenarbeit bei der Herstellung der Wellenleiter sowie beim Graduiertenkolleg 1114 der DFG: „Optische Messtechniken für die Charakterisierung von Transportprozessen an Grenzflächen“ für die finanzielle Unterstützung der Arbeiten.

Literatur

- [1] Boisdé, Harmer, *Chemical and Biochemical Sensing With Optical Fibers and Waveguides*, Artech House (1996)
- [2] R. E. Kunz: "Miniature integrated optical modules for chemical and biochemical sensing" in *Sensors and Actuators B* **38-39**: 13-28 (1997)
- [3] J.Hahn, J.Petter, T.Tschudi: „Messung der evaneszenten Felder wellenleitender Strukturen in Lithiumniobat“ in *DGaO-Proceedings (2006)*, ISSN: 1614-8436