



Norbert Danz

Einleitung

Die spontane Emission wird durch die Umgebung des Emitters beeinflusst. Dies wurde zuerst von Sommerfeld und Mitarbeitern am Anfang des Jahrhunderts genutzt, um die Strahlung von Antennen zur Funkübertragung zu verbessern. Das gleiche Phänomen ist bei spontanen optischen Emissionsvorgängen später ebenfalls beobachtet worden /1/, /2/. Heute ist in der physikalischen Optik die Wechselwirkung des Emitters mit seiner Umgebung aus zwei Gründen von großem Interesse: Erstens können die Effekte zur Untersuchung des Nahfelds des Emitters, z. B. in der optischen Nahfeldmikroskopie, genutzt werden. Zweitens modifizieren Strukturen im Nahfeld des Emitters dessen Strahlungseigenschaften /3/. Hier soll der Einfluss von planaren Grenzflächen nahe des Emitters ausgenutzt werden. Die Ergebnisse können bei der Optimierung von ebenen, dünnen, spontan emittierenden Quellen, wie z. B. auf Fluoreszenz basierenden Biosensoren oder elektrolumineszierenden Elementen, angewendet werden.

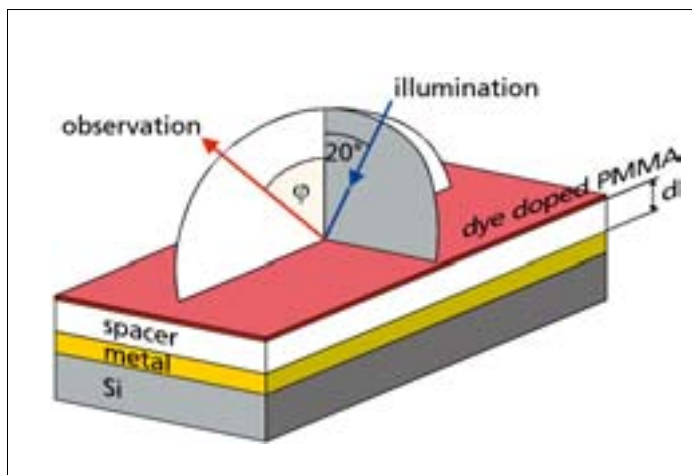
Prinzip

Die Fluoreszenzenergie eines isotrop orientierten, molekularen Ensembles wird in den gesamten Raum emittiert. Deshalb ist die Effizienz der Fluoreszenzdetektion eng mit der numerischen Apertur des optischen Beobachtungssystems verknüpft. Nachweise von Einzelmolekülen nutzen eine sehr große numerische Apertur, um das nachweisbare Signal zu maximieren. Alternativ kann die Energieemission in Richtung des beobachteten Raumwinkels verstärkt werden. Neben der Fluoreszenzanregung durch evaneszente Felder bzw. durch geführte Wellen werden meistens scannende oder abbildende Anordnungen eingesetzt, um DNA- bzw. Protein-Fluoreszenzchips auszuwerten. Dann wird die emittierte Fluoreszenzenergie in der Regel nur in einem kleinen Raumwinkelbereich senkrecht zur Chipoberfläche detektiert. Deshalb sollten die geforderten Strukturen die Energieabstrahlung senkrecht zur Chipoberfläche erhöhen.

Grenzflächen nahe dem Emitter verändern die Rate und das Strahlungsfeld, indem die Felder auf die Quelle zurückgekoppelt werden. Diese Effekte können für ebene Schichtsysteme analytisch beschrieben werden /4/, /5/, wodurch eine theoretische Optimierung möglich wird. Weiterhin beeinflusst die veränderte Oberfläche auch die Feldverteilung der kurzwelligen Anregungsstrahlung. Die Absorptionswahrscheinlichkeit ist proportional zur Energiedichte am Ort des Emitters. Dadurch können ebenfalls die Anhebungsbedingungen, insbesondere im Fall der Dunkelfeldanregung, optimiert werden. Somit nutzt man zwei Effekte von Schichtsystemen an der Oberfläche eines Fluoreszenzchips, sowohl die Absorptions- als auch die Detektionseffizienz werden erhöht.

Abb. 1: Prinzipdarstellung von experimenteller Anordnung und Probenaufbau.

Fig. 1: Sketch of the experimental setup and the sample structure.



Optimization of planar fluorescence biosensors

Norbert Danz, Stef van Asperen, Antje Oelschläger

Introduction

It is well known that spontaneous emission is affected by the surroundings of the emitter. This phenomenon was first studied by Sommerfeld and coworkers at the beginning of the century in order to optimize radio antenna transmissions. The fact that the same phenomenon occurs in optical spontaneous emission processes was observed at a later date /1/, /2/. Today, the problem of interaction between emitters and their environments is of key interest in optical physics for two reasons: first, this can be used as a measure of the emitter's near field, for example in scanning near field applications; and secondly, introducing appropriate structures in the vicinity of the source modifies emission properties /3/. In this article, we will investigate the problem of interaction between emitter and environment in order to utilize the influence of plane interfaces near the emitter to a positive effect. This applies to the optimization of thin, spontaneously emitting sources in planar geometries such as fluorescence biosensors or electro-luminescent devices.

Principle

The fluorescence energy of an isotropic-oriented molecular ensemble is emitted into its entire surroundings. The efficiency of fluorescence detection is therefore closely connected to the numerical aperture of the optical observation system that determines the angular energy-collection range. Single molecule detection schemes use detection with a large numerical aperture in order to enhance the measurable part of the signal. An alternate method is to force the emission to be radiated towards the observer.

In addition to evanescent and guided wave fluorescence excitation, most devices use scanning or imaging schemes for DNA or protein fluorescence chip readouts. In this case, the optical detection system collects the emitted fluorescence energy within a limited angular range perpendicular to the chip surface. The desired structure should therefore enhance the portion of energy that is emitted along the normal of the chip.

Interfaces in the vicinity of the emitter will alter the rate and the radiation pattern of its emission due to the coupling of the emitted fields onto the source. These effects can be rigorously calculated for sources located near or within plane stratified media /4/, /5/, and are used to optimize the chip for the maximum fluorescence response of emitters located on the chip surface. Furthermore, a chip with additional optical layers on the surface affects the field distribution of the short wavelength illuminating radiation. The absorption efficiency depends on the intensity at the emitter location. The illumination conditions can be optimized in this way, especially in the case of dark field illumination. The effect of stratified media on the surface of a fluorescence is thus twofold, as both absorption and emission efficiency are enhanced.



Stef van Asperen



Antje Oelschläger

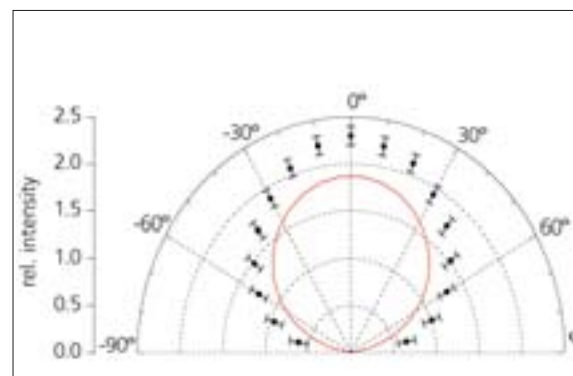


Abb. 2: Winkelaufgelöste Fluoreszenz einer dünnen Schicht an der Oberfläche eines Quarzsubstrates als Referenz.

Fig. 2: Angularly resolved fluorescence pattern of a fluorescing layer on top of a quartz substrate as a reference.

Experimente

Das Strahlungsfeld von dünnen, fluoreszierenden Schichten auf verschiedenen Substraten wurde mit der Anordnung nach Abb. 1 untersucht. Die Proben wurden mit einer zirkular polarisierten Welle unter 20° Einfallswinkel beleuchtet und die Fluoreszenz in einem Winkelbereich von 5° detektiert. Dazu wurde das Fluoreszenzlicht in eine Faser gekoppelt und nach Transmission eines Langpassfilters mit einem Photomultiplier detektiert. Der Winkelscan (φ) erfolgte senkrecht zur Oberfläche und zur Einfallsebene des beleuchtenden Bündels.

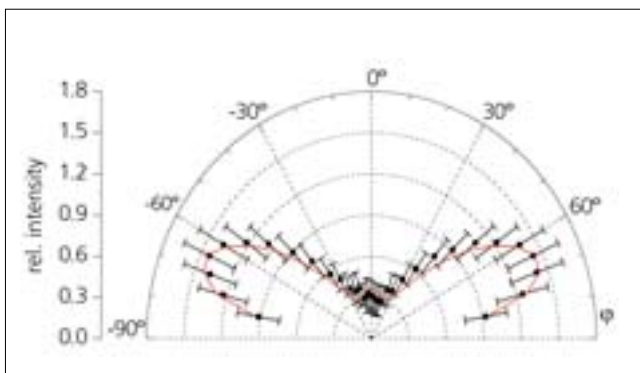
Zur Fluoreszenzverstärkung wurde das einfachste Schichtsystem aus einem metallischen Spiegel und einer dielektrischen Pufferschicht gewählt. Dieses ist ebenfalls in Abb. 1 angedeutet. Unterschiedlich dicke Pufferschichten wurden mittels CVD (chemical vapor deposition) hergestellt. Eine 27 nm dicke, mit Farbstoff dotierte PMMA-Schicht (Poly-Methylmethacrylate) diente als Quelle der Fluoreszenz. Diese Schicht kann als infinitesimal dünne Molekülschicht modelliert werden und

wurde als Vereinfachung anstelle der Kopplung einmolekularer Schichten eingesetzt. Als Referenz diente ein nur mit dieser Polymerschicht versehenes Quarzsubstrat. Die entsprechenden experimentell bestimmten und theoretisch berechneten Strahlungsfelder dieser Referenzprobe sind in Abb. 2 abgebildet.

Abb. 3 und Abb. 4 zeigen die an unterschiedlichen Schichtsystemen bestimmten Strahlungsfelder. Im Fall von Abb. 3 werden senkrecht zur Probenoberfläche nur ca. 20 % der Energie verglichen mit der Referenz emittiert, und man erhält eine unterdrückte Fluoreszenzemission. Abb. 4 zeigt den Fall maximaler Fluoreszenzverstärkung. Die theoretisch berechneten Kurven in allen Diagrammen gehen von dem selben Proportionalitätsfaktor zwischen dem Theoriewert und dem Verhältnis von Fluoreszenz- zu Beleuchtungsintensität aus. Deshalb sind die Theoriewerte absolut vergleichbar. Abweichungen in Abb. 2 könnten durch Bleichen des Farbstoffs oder unterschiedliche Oberflächeneigenschaften, welche die Herstellung der fluoreszierenden Schicht beeinflussen, hervorgerufen werden.

Abb. 3:
Unterdrückung der Fluoreszenzemission senkrecht zur Probenoberfläche bei $d = 205$ nm.

Fig. 3:
Suppression of fluorescence emission perpendicular to the sample surface at $d = 205$ nm.



Schlussfolgerungen

Die senkrecht zur Chipoberfläche emittierten relativen Intensitäten betragen 110 nach Abb. 4 und etwa 2 nach Abb. 2. Demzufolge kann durch die Einführung eines metallischen „Spiegels“ mit einem dielektrischen Puffer die Effizienz der Fluoreszenzdetektion bei planaren Sensoren um mehr als eine Größenordnung gesteigert werden. Da der Ursprung der Verstärkung in Interferenzeffekten liegt, ist das Chip-Design empfindlich gegenüber Änderungen der Wellenlänge oder des Abstands zwischen Emitter und Spiegel. Deshalb ist die Methode für emittierende Schichten mit einer im Vergleich zur Wellenlänge sehr kleinen Schichtdicke geeignet, was z. B. für das Auslesen von Fluoreszenzchips in der biochemischen und pharmakologischen Forschung zutrifft. Damit eröffnet der beschriebene Ansatz die Möglichkeit, die Empfindlichkeit zu erhöhen. Falls nur moderate Empfindlichkeiten benötigt werden, könnten alternativ aufwendige durch einfachere Detektoren ersetzt werden, indem im Chip zusätzliche Mehrschichtsysteme eingesetzt werden.

Literatur:

- /1/ Drexhage, K. H.: „Interaction of light with monomolecular dye layers“, Prog. Opt. 12 (1974) 165.
- /2/ Chance, R. R.; Prock, A.; Silbey, R.: „Molecular fluorescence and energy transfer near interfaces“, Adv. Chem. Phys. 37 (1978) 1.
- /3/ Sullivan, K.G.; Hall, D.G.: „Enhancement and inhibition of electromagnetic radiation in plane-layered media. II. Enhanced fluorescence in optical waveguide sensors“, J. Opt. Soc. Am. B 14 (1997) 1160.
- /4/ Danz, N.; Waldhäusl, R.; Bräuer, A.; Kowarschik, R.: „Dipole lifetime in stratified media“, J. Opt. Soc. Am. B 19 (2002) 412.
- /5/ Danz, N.; Heber, J.; Bräuer, A.; Kowarschik, R.: „Fluorescence lifetimes of molecular dye ensembles near interfaces“, Phys. Rev. A 66 (2002) 063809.

Experiments

The radiation pattern of thin, fluorescing layers on the surface of different samples was examined by means of the setup shown in fig. 1. The samples were irradiated with a circularly polarized beam with a 20° angle of incidence. Fluorescence was detected within a 5° cone and coupled via an optical fiber and a long pass filter onto the photomultiplier detector. The fluorescence pattern was angularly scanned (φ) perpendicular to the sample surface and the plane of incidence of the illuminating beam.

The simplest possible system for fluorescence enhancement was chosen. It consists of a thick, sputtered metal layer with a dielectric spacer and is depicted in fig. 1. Spacer layers with varying thickness were prepared by chemical vapor deposition. A 27 nm-thin, dye-doped (polymethylmethacrylate) layer was used as the fluorescence source. This fluorescing film can be modeled as an infinitely thin layer of molecules and was used to circumvent the rather complicated surface chemistry of monomolecular layer coupling.

A quartz substrate, deposited only with fluorescing film, was taken for comparison. The corresponding experimentally determined and theoretically deduced radiation patterns are given in fig. 2.

Fig. 3 and fig. 4 show radiation distributions in the cladding of multilayer samples. In the sample (see fig. 3) the emission perpendicular to the surface is suppressed, because only 20 % of the intensity is observed in comparison with the reference sample. Fig. 4 illustrates the case of maximum enhancement. The theoretical curves in all diagrams assume the same proportionality between the theoretical value and the ratio of fluorescence and illu-

mination intensity. For this reason, they are comparable in an absolute sense. Deviations in fig. 2 are attributed to dye bleaching or the different surface properties affecting the polymer layer deposition.

Conclusions

The relative intensity emitted perpendicular to the chip surface is 110 according to fig. 4 and approximately 2 in the case of the reference sample. According to this result, introducing a metallic mirror and a dielectric slab below the emitters can enhance the detection efficiency of planar fluorescence biosensors by more than one order of magnitude.

Because this enhancement is based on interference effects, the chip setup is sensitive to changes in the excitation and fluorescence wavelengths as well as the emitter-mirror separation. This method is thus well suited to fluorescing films with a small thickness in relation to emission wavelength, which is the case for the readout of fluorescence chips in biomedical research and

diagnostics. Therefore, the method described opens up the possibility of increasing sensitivity using current setups. Alternatively, if only moderate sensitivity is required, less sophisticated detectors could be replaced by simpler ones by incorporating additional multiple layers into the chip.

References:

- /1/ Drexhage, K. H.: „Interaction of light with monomolecular dye layers,” *Prog. Opt.* 12 (1974) 165.
- /2/ Chance, R. R.; Prock, A.; Silbey, R.: „Molecular fluorescence and energy transfer near interfaces,” *Adv. Chem. Phys.* 37 (1978) 1.
- /3/ Sullivan, K.G.; Hall, D.G.: „Enhancement and inhibition of electromagnetic radiation in plane-layered media. II. Enhanced fluorescence in optical waveguide sensors,” *J. Opt. Soc. Am. B* 14 (1997) 1160.
- /4/ Danz, N.; Waldhäusl, R.; Bräuer, A.; Kowarschik, R.: „Dipole lifetime in stratified media,” *J. Opt. Soc. Am. B* 19 (2002) 412.
- /5/ Danz, N.; Heber, J.; Bräuer, A.; Kowarschik, R.: „Fluorescence lifetimes of molecular dye ensembles near interfaces,” *Phys. Rev. A* 66 (2002) 063809.

Abb. 4:

Verstärkung der Fluoreszenzstrahlung senkrecht zur Probenoberfläche um etwa einen Faktor 50 bei $d = 286$ nm. Man beachte die unterschiedlichen Skalen der Diagramme.

Fig. 4:

Fluorescence enhanced by approximately a factor of 50 perpendicular to the sample surface at $d = 286$ nm. Note the different scales in the diagrams.

