

Institut für Chemie
Professur für Physikalische Chemie

**Entwicklung und Charakterisierung
optischer Biosensorplattformen basierend
auf photonischen Kristallen und
Faser-Bragg-Gitter**

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades

„doctor rerum naturalium“

(Dr. rer. nat.)

in der Wissenschaftsdisziplin „Physikalische Chemie“

eingereicht an der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Potsdam

vorgelegt von

Sven Schulze

Potsdam, 20. Juni 2018

Online veröffentlicht auf dem

Publikationsserver der Universität Potsdam:

URN urn:nbn:de:kobv:517-opus4-422139

<https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:kobv:517-opus4-422139>

Für meine Familie

*„The important thing in science is not so much to obtain new facts
as to discover new ways of thinking about them.“*

Sir William Lawrence Bragg (1890-1971)

Ort und Tag der Disputation: Potsdam, 17.12.2018

1. Gutachter: Prof. Dr. Hans-Gerd Löhmannsröben (Universität Potsdam)
2. Gutachter: Prof. Dr. Wolfgang Schade (Technische Universität Clausthal)
3. Gutachter: Prof. Dr. Sigurd Schrader (Technische Hochschule Wildau)

Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Hans-Gerd Löhmannsröben für die Möglichkeit bedanken, meine Promotion am Lehrstuhl für Physikalische Chemie zu verwirklichen. Zusätzlich bedanke ich mich für die Übernahme der Erstbegutachtung der Arbeit und für die Teilnahmemöglichkeit an der Graduiertenschule SALSA (*School of Analytical Sciences Adlershof*), wodurch ich viele wertvolle Erfahrungen für meine weitere wissenschaftliche Laufbahn sammeln konnte. Des Weiteren bedanke ich bei Prof. Dr. Wolfgang Schade und bei Prof. Dr. Sigurd Schrader für die Übernahme der weiteren Gutachten.

Auch der gesamten Arbeitsgruppe möchte ich für die sehr gute Arbeitsatmosphäre und Diskussionen bzw. Gespräche in Seminaren, in Vorbereitung auf Vorträge und bei gesellschaftlichen Zusammenkünften danken. Herausheben möchte ich dabei die Mitglieder der Nachwuchsgruppe „ALSCoMBi“. Da wäre zuerst Dr. Carsten Hille für die Arbeit als Mentor zu nennen, der mir immer wieder bei Problemstellungen mit Lösungsvorschlägen zur Verfügung stand und dessen Fachkenntnis bei den verwendeten biologischen Komponenten mir sehr weiter geholfen hat. Auch Phillip Roder möchte ich für die angenehmen Diskussionen in den Gruppenseminaren und im Büro danken, wodurch auch privat eine Freundschaft entstanden ist. Als letztes möchte ich noch Dr. Roman Flehr aus der Nachwuchsgruppe hervorheben. Er war die Stütze zu Beginn der Promotion, da er aufgrund seines Fachwissens mir wertvolle Hinweise gegeben hat und mir enorme Zusatzen geleistet hat, indem er u. a. ein Analysenprogramm schrieb, das mir die Auswertearbeit enorm erleichterte. Des Weiteren stellte er u. a. Kontakte zum AIP (Leibniz-Institut für Astrophysik Potsdam) und zu Surflay Nanotec GmbH (Berlin) her, sodass auch Messungen außerhalb des Institutes durchgeführt werden konnten. Außerdem stand er trotz seines Wechsels in die Wirtschaft weiterhin für Fragen zur Verfügung.

Besonderer Dank gilt auch Yannik Pfeifer, der mir zunächst als studentische und später als wissenschaftliche Hilfskraft zur Seite stand. Er unterstützte mich beim Faserätzen und war mir beim Schreiben der Faser-Bragg-Gitter in die Fasern behilflich. Im Zusammenhang mit dem Faserätzen möchte ich mich auch bei Antje Musiol und Daniel Gorzawski aus der AG Mineralogie (Prof. Dr. Altenberger) bedanken für die Möglichkeit, das Ätzen in deren Labor durchführen zu können und für die freundliche und unkomplizierte Zusammenarbeit, besonders dass man Termine zum Ätzen auch kurzfristig vereinbaren konnte. Am Ende, aber mit besonderem Augenmerk, möchte ich mich bei meiner Familie, der ich diese Arbeit widme, und meinen Freunden für die moralische Unterstützung und der Ablenkung bzw. Entspannung vom Alltag an der Universität bedanken.

Inhaltsverzeichnis

Publikationen	v
Abkürzungsverzeichnis	ix
Abbildungsverzeichnis	xv
Tabellenverzeichnis	xvii
1 Einleitung	1
2 Theoretische Grundlagen	5
2.1 Optische Fasergitter	5
2.1.1 Optische Faser	5
2.1.2 Beschreibung von optischen Fasergittern	9
2.1.3 Herstellung von Fasergittern	14
2.2 Grundprinzip des photonischen Kristalls	21
2.3 Biologische Komponenten	23
2.3.1 Erkennungseinheiten	23
2.3.2 CRP	27
3 Materialien und Methoden	29
3.1 Verwendete Materialien und Reagenzien	29
3.2 Probenvorbereitung	31
3.2.1 Faserätzen	31
3.2.2 Lösungen zur Oberflächenreinigung und Biofunktionalisierung der Fasern	31
3.2.3 Herstellung der Analyt-Konzentrationsreihen	33
3.3 Methoden	35
3.3.1 Experimenteller Aufbau zur Charakterisierung des durchstimmbaren Lasers	36
3.3.2 Charakterisierung des durchstimmbaren Lasers	37
3.3.3 Schreiben der FBGs	37
3.3.4 Experimentelle Messaufbauten zur Aufnahme von Reflexions- und Transmissionsspektren bei der Verwendung von FBG-Fasern	40
3.3.5 Faserätzen und Messung von eFBG-Sensitivitäten	43
3.3.6 Ätzratenbestimmung	45
3.3.7 Herstellung des FBG-Biosensors in einer geätzten Faser und Messung eines Analyten	46
3.3.8 Kontrollexperimente für die eFBG-Biosensoren	49
3.3.9 Messoptimierungen bei den eFBG-Sensoren	54
4 Ergebnisse und Diskussion	61
4.1 Biosensorkonzept I	61

4.2	Biosensor basierend auf photonischen Kristallen	62
4.2.1	Charakterisierung des verwendeten Lasers	62
4.2.2	Simulationen	64
4.2.3	Optimierung des Prototypen und experimentelle Aufbauten	67
4.3	Biosensorkonzept II	74
4.4	Faserpräparierung	78
4.4.1	Charakterisierung des Schreibverfahrens	78
4.4.2	Berechnung der Eindringtiefe der evaneszenten Welle	86
4.4.3	Faserätzen	88
4.5	NP-basierter Biosensor	100
4.5.1	Biofunktionalisierung	100
4.5.2	Sensorcharakterisierung	105
4.6	GOPTS-basierter Biosensor	111
4.6.1	Biofunktionalisierung	111
4.6.2	Sensorcharakterisierung und -validierung	116
4.6.3	Biosensorvergleich	125
5	Zusammenfassung und Ausblick	131
	Literatur	135
	Anhang A: Optoelektronische Grundlagen	A-1
A.1	Brechungsindex	A-1
A.2	Wellen an Grenzflächen zwischen zwei Medien	A-4
A.3	Lichtführung in optischen Fasern	A-8
A.4	Physikalische Betrachtung der Bragg-Gleichung	A-15
A.4.1	Theorie der gekoppelten Moden	A-15
A.4.2	Räumlich periodische Brechungsindexänderung	A-18
A.4.3	Phasenanpassung	A-20
	Anhang B: Endotoxine	B-1
	Anhang C: weitere SEM-Aufnahmen	C-1
C.1	Übersichtsaufnahmen	C-1
C.2	Fasern mit Gitterstrukturen	C-2
C.3	Fasern mit rauer Oberfläche	C-4
C.4	Unterschiedliche SiO ₂ :Au-NP-Verteilung auf den Fasern	C-5

Veröffentlichungen

Publikationen

- S. SCHULZE, M. WEHRHOLD, C. HILLE, „Femtosecond-pulsed laser written and etched fiber Bragg gratings for fiber-optical biosensing“, *Sensors*, 18, 9, 2844, **2018**

Posterbeiträge

- S. SCHULZE, R. FLEHR, „Development of biosensors based on photonic crystals and fibre-Bragg-gratings“, *micro photonic preview*, November **2015**, Berlin, Deutschland
- S. SCHULZE, R. FLEHR, „Development of biosensors based on fibre-Bragg-gratings and photonic crystals“, *SALSA Poster Session*, November **2015**, Berlin, Deutschland
- S. SCHULZE, C. HILLE, „Development of a label-free fiber optical biosensor based on etched fiber-Bragg-gratings“, *115. Hauptversammlung der Deutschen Bunsen-Gesellschaft für Physikalische Chemie 2016*, Mai **2016**, Universität Rostock, Deutschland
- S. SCHULZE, C. HILLE, „Development of a label-free fiber optical biosensor based on etched fiber-Bragg-gratings“, *9. Senftenberg Innovation Forum on Multiparametric Analytics*, Juni **2016**, Senftenberg, Deutschland
- S. SCHULZE, C. HILLE, „Fiber optical biosensor based on etched fiber-Bragg-gratings“, *PhDay 2016*, Juli **2016**, Universität Potsdam, Deutschland
- S. SCHULZE, C. HILLE, „Fiber-Bragg-grating technology“, *Advanced Microscopy in Life Sciences - Workshop within the Activity Field Biomedical and Ophthalmic Optics*, November **2016**, Universität Potsdam, Deutschland

- S. SCHULZE, C. HILLE, „Development of a label-free fiber optical biosensor based on fiber-Bragg-grating technology“, *Advanced Microscopy in Life Sciences - Workshop within the Activity Field Biomedical and Ophthalmic Optics*, November **2016**, Universität Potsdam, Deutschland
- S. SCHULZE, C. HILLE, „Optical Biosensing by using femtosecond-written and etched fiber Bragg gratings“, *Potsdam Days on Bioanalysis*, November **2017**, Potsdam, Deutschland

Vorträge

- S. SCHULZE, M. WEHRHOLD, C. HILLE, „Etched fiber-Bragg-grating based on biosensor for biochemical applications“, *Handlungsfeldkonferenz Optik für Kommunikation und Sensorik „Innovative Faseroptik“*, Oktober **2016**, Berlin, Deutschland
- S. SCHULZE, M. WEHRHOLD, C. HILLE, „Development of a label-free optical biosensor by using etched fiber-Bragg-grating“, *micro photonics/Session: Optical fiber and Integrated Waveguides Interconnects*, Oktober **2016**, Berlin, Deutschland
- S. SCHULZE, M. WEHRHOLD, C. HILLE, „Development of a label free fiber optical biosensor based on etched fiber Bragg grating technique“, *1st European & 10th German BioSensor Symposium/Session: NANO Biophotonic*, März **2017**, Potsdam, Deutschland
- S. SCHULZE, M. WEHRHOLD, C. HILLE, „Detection of biomolecules with fiber-optical sensing by using fiber-Bragg-gratings“, *116. Hauptversammlung der Deutschen Bunsen-Gesellschaft für Physikalische Chemie 2017/Session: Physical Chemistry for Life Sciences*, Mai **2017**, Kaiserslautern, Deutschland

andere wissenschaftliche Beiträge

- aktive Teilnahme am LEIBNIZ-KOLLEG 2014, Mai **2014**, Universität Potsdam, Deutschland
- aktive Teilnahme an der KOSMOS SUMMER UNIVERSITY 2014 der *School of Analytical Sciences Adlershof* (SALSA), September **2014**, Humboldt-Universität zu Berlin, Deutschland
- M. ZIMMERMANN, „Der Traum vom universellen Sensor - Was photonische Kristalle und Faser-Bragg-Gitter ans Licht bringen können“, *PORTAL*, **3/2015**, 6
- aktive Teilnahme an der SALSA SUMMER UNIVERSITY 2015 der *School of Analytical Sciences Adlershof* (SALSA), September **2015**, Humboldt-Universität zu Berlin, Deutschland
- S. SCHULZE, „Den Krebs entlarven“, Mein Projekt Serie in *Märkische Allgemeine Zeitung* (MAZ), V9, 15. November **2016**

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzungen

BP	Bandpass
BPW	Biosensoren mit planaren Wellenleiterstrukturen
D	Dimension; Richtung
eFBG	Faser-Bragg-Gitter in einer geätzten Faser
ELISA	antikörperbasiertes Nachweisverfahren (<i>enzyme linked immunosorbend assay</i>)
FBG	uniformes Faser-Bragg-Gitter (<i>fiber Bragg grating</i>)
FOB	faserbasierte optische Biosensoren
FWHM	Halbwertsbreite (<i>Full Width at Half Maximum</i>)
LHS	alles auf der linken Seite
LM	Lösungsmittel
LPG	langperiodisches Gitter (<i>long period grating</i>)
MMF	Mehrmodenfaser (<i>multi-mode fiber</i>)
NIR	nahe Infrarot-Bereich
NP	allgemein für Nanopartikel
OFG	optische Fasergitter
PC	photonischer Kristall (<i>photonic crystal</i>)
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (<i>polymerase chain reaction</i>)
Q-Faktor	Qualitätsfaktor eines photonischen Kristalls (Q_{τ})
RHS	alles auf der rechten Seite
RT	Raumtemperatur
SE	Standardfehler (<i>standard error</i>)
SELEX	systematische Entwicklung von Liganden durch exponentielle Anreicherung <i>Systematic Evolution of Ligands by Exponential enrichment</i>
SEM	Rasterelektronenmikroskop (<i>scanning electron microscope</i>)
SLED	super-lumineszierende Diode
SMF	Einmodenfaser (<i>single-mode fiber</i>)
SNR	Signal-Rausch-Verhältnis (<i>signal-to-noise-ratio</i>)
SPR	Oberflächenplasmonresonanz (<i>surface plasmon resonance</i>)
SVE	Näherung der langsam variierenden Einhüllenden (<i>slowly varying envelope approximation</i>)
tFBG	gewinkeltes FBG (<i>tilted fiber Bragg grating</i>)
TLS	durchstimmbarer Laser von $\lambda = 1520 - 1630$ nm (<i>tunable laser system</i>)
ULI	direktes FBG-Schreibverfahren, Punkt-für-Punkt-Methode (<i>ultrafast laser inscription</i>)

Abkürzungen chemischer Verbindungen

AGR2	Anterior Gradient Homolog 2; Protein; kodiert in DNS
AK	Antikörper
APTES	(3-Aminopropyl)triethoxysilan
AS	Aminosäuren
CaCl ₂ x 2H ₂ O	Kalziumchlorid-Dihydrat
Carosche Säure	wässrige Lösung der Peroxomonoschwefelsäure; Mischung aus konz. Schwefelsäure und Wasserstoffperoxid; wird auch Piranha-Säure genannt
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CRP	C-reaktives Protein
Cy5	Cyanin-5; Farbstoff; $\lambda_{\text{ex}} \approx 630 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{em}} \approx 670 \text{ nm}$
DNS	Desoxyribonukleinsäure
GOPTS	(3-Glycidyoxypropyl)trimethoxysilan
EtOH	Ethanol
HER2	Humaner-Epidermaler Wachstumsfaktor-Rezeptor 2
HAc	Essigsäure
HCl	Salzsäure
HF	Flusssäure
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
H ₂ SO ₄	Schwefelsäure
KCl	Kaliumchlorid
KOH	Kaliumhydroxid
LPS	Lipopolysaccharid (Endotoxin)
MES	2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure
MgCl ₂ x 6H ₂ O	Magnesiumchlorid-Hexahydrat
MPTES	(3-Mercaptopropyl)triethoxysilan
NaCl	Natriumchlorid
Na ₄ CO ₃	Natriumcarbonat
NaOH	Natronlauge
NH ₄	Ammoniumfluorid
PCT	Procalcitonin
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung (<i>phosphate buffered saline</i>)
PNS	Peptid-Nukleinsäure; Pendant von DNS bzw. RNS
RNS	Ribonukleinsäure
SDS	Natriumdodecylsulfat
SiO ₂	Siliziumdioxid
SiO ₂ :Au-NP	Silika-Gold-Kern-Hüllen-Nanopartikel
TAE	Tris-Acetat-Ethylendiamintetraessigsäure
TCEP	Tris(2-carboxyethyl)phosphin
Tris-THAM	Tris(hydroxymethyl)aminomethan

Griechische Variablen

α	Absorptionskoeffizient
β	Ausbreitungskonstante
γ_i	Massenkonzentration in g/L
γ_T	Abfallparameter einer Welle
Δ	relativer Kern-Mantel-Index
$\varepsilon(\nu)$	Permittivität im Medium, allgemein nur ε
ε_0	Permittivitätskonstante im Vakuum; elektrische Feldkonstante
ε_r	relative Permittivität; Dielektrizitätskonstante
ζ	Neigungswinkel eines Fasergitters in Bezug zur Faserachse
η	Viskosität in mPas
θ_A	Akzeptanzwinkel zur Einkopplung von Licht in den Faserkern
θ_c	kritischer Winkel der Totalreflexion
θ_i	Winkel zwischen ebener Welle und Flächennormalen
ϑ	Temperatur in °C
κ	Imaginärteil des komplexen Brechungsindex n
λ_i	Wellenlänge im Medium in nm
λ_0	Wellenlänge im Vakuum in nm
λ_{sp}	Emissionswellenlänge des Spektrometers in nm
$\Delta\lambda_{sp}$	Auflösung des Spektrometers in nm
$\Delta\lambda_{fit}$	Anpassungsgenauigkeit des Analysenprogrammes bei der Bestimmung des Signalzentrums in pm
λ_B	Resonanzwellenlänge bei Anwesenheit eines uniformen Faser-Bragg-Gitters, Bragg-Wellenlänge in nm
$\Delta\lambda_{B,max}$	maximale Bragg-Wellenlängenverschiebung in nm
λ_p	Puls-Wellenlänge des Lasers in nm
$\lambda_{res(i)}^{LPG}$	Resonanzwellenlänge in Anwesenheit eines lang-periodischen Gitters zwischen Kernmode und i -ter Mantelmode in nm
$\lambda_{res(i)}^{tFBG}$	Resonanzwellenlänge in Anwesenheit eines schiefen Faser-Bragg-Gitters zwischen Kernmode und i -ter Mantelmode in nm
Λ	Störungsperiode des Gitters; bei FBG identisch mit Λ_{FBG}
Λ_{FBG}	Gitterperiode eines uniformen Faser-Bragg-Gitters in μm
Λ_{LPG}	Gitterperiode eines langperiodischen Gitters
Λ_{tFBG}	Gitterperiode eines gewinkelten Faser-Bragg-Gitters
μ	magnetische Permeabilität im Medium, magnetische Feldkonstante
μ_0	Permeabilitätskonstante im Vakuum, magnetische Feldkonstante mit $\mu_0\varepsilon_0 = 1/c_0^2 = Z_0^2 = \vec{E}/\vec{H}$
ν	Verhältnis zwischen Amplitude der Brechungsindexänderung und mittleren Brechzahländerung
ξ_{it}	radial transversale Feldverteilung der geführten bzw. strahlenden i -ten Mode

ξ_{it}^*	komplexes Konjugat der radial transversalen Feldverteilung der geführten bzw. strahlenden i -ten Mode
π	Kreiszahl
σ	Leitfähigkeit, Transport von Ladungen
σ_{\max}	theoretische Oberflächenbeladungskonzentration in ng/mm^2
τ_{p}	zeitliche Pulslänge des Lasers in fs
ϕ	Winkelkoordinate
φ	Winkel der räumlichen Phasenänderung
χ	Molenbruch
$\chi^{\text{el}}(\nu)$	Suszeptibilität, Fähigkeit eines Material zur Polarisation
ω_i	Winkelfrequenz

Lateinische Variablen

a	Radius des Faserkerns in μm
a_{PC}	Gitterperiode eines photonischen Kristalls in nm
A_i, B_i	transversale geleitete Amplitudenmoden der i -ten Ordnung
A_p	Strahlungsmode der p -ten Ordnung
$\vec{B}(\vec{r}, t)$	magnetische Induktion; magnetische Flussdichte
b	Radius des Fasermantels in μm
B	komplexer Amplitudenvektor der magnetischen Flussdichte
B_j	stoff- und teilchenabhängige Parameter im Modell von Cauchy bzw. im Modell von Sellmeier
c	Stoffmengenkonzentration in mol/L bzw. in M
$c_{\text{CRP}, \text{lim}}$	Konzentrationslimit in M, hier für CRP
c_i	Ausbreitungsgeschwindigkeit des Lichtes im Medium mit $c = 1/\sqrt{\mu_0 \epsilon} = c_0/n$ in m/s
c_0	Ausbreitungsgeschwindigkeit des Lichtes im Vakuum
cc	komplex konjugierte Integrationsvariable; (<i>complex conjugate</i>)
C_j	stoff- und teilchenabhängige Parameter im Modell von Sellmeier
cop	Kooperativität
d	Durchmesser in mm
d_p	Eindringtiefe (<i>penetration depth</i>) in μm
$\vec{D}(\vec{r}, t)$	dielektrische Verschiebung; elektrische Flussdichte
D	komplexer Amplitudenvektor der elektrischen Flussdichte
DL_{BS}	theoretische Detektionsgrenze in ng/mm^2
\hat{e}_i	Einheitsvektor der i -ter Koordinatenrichtung
$\vec{E}(\vec{r}, t)$	elektrische Feldstärke
E	komplexer Amplitudenvektor der elektrischen Feldstärke
E_{B}	Bindungsenergie eines Elektrons an das Atom in V/m
E_{p}	Pulsenergie des Lasers in mJ
E_{p}	Energie des Bandlücke
f	Frequenz einer elektromagnetischen Welle

f_{rep}	Repetitionsrate des Lasers in Hz
$\vec{H}(\vec{r}, t)$	magnetische Feldstärke
H	komplexer Amplitudenvektor der magnetischen Feldstärke
h	Planck'sches Wirkungsquantum mit $h \simeq 6,626 \cdot 10^{-34}$ Js
I	Intensität einer elektromagnetischen Welle im Medium
I_0	Anfangsintensität einer elektromagnetischen Welle
$\Delta \text{Intensität}$	relative Intensitätsänderung der Signalamplitude über die Zeit bzw. in verschiedenen Lösungen in %
I_{th}	kleinster Energiewert, um nicht lineare Absorptionsprozesse auszulösen in W/m^2
i	i -te Ordnung einer Mantelmode
j	imaginäre Zahl; mit $j^2 = -1$
$\vec{J}(\vec{r}, t)$	Stromdichte
$J_1(x)$	Besselfunktion erster Art mit l -ter Ordnung
K_i	Gleichgewichtskonstante in M^{-1}
k_i	Wellenzahl im Medium i
k_0	Wellenzahl im Vakuum
\vec{k}_i	Wellenvektor im Medium i
$k_{\text{AC,DC}}$	AC- und DC-Kopplungsterme von Fasergittern
k_{AC}^*	komplex konjugierter AC-Kopplungsterm
$K_1(x)$	modifizierte Besselfunktion zweiter Art mit l -ter Ordnung
k_{T}	transversale Wellenzahl
L_{P}	Leistungspegel in dBm
l_{PC}	Länge eines Photonischen Kristalls in μm
$\vec{M}(\vec{r}, t)$	Magnetizität
m	harmonische Beugungsordnung
M	Molmasse in g/mol bzw. Da
n_0	mittlerer Brechungsindex
$n(\nu)$	Brechungsindex; allgemein nur n
n_{eff}	effektiver Brechungsindex, bezieht sich hauptsächlich auf die Kernmode, sonst mit zusätzlichen Indizes bedacht
n_i	Brechungsindex des Mediums i
n_{r}	Realteil des komplexen Brechungsindex n
$n(z)$	Brechzahlprofil der Faser in z -Richtung
Δn_{K}	Intensität der induzierten Brechungsindexänderung im Kern
nt	Anzahl der Nukleotide
N	Anzahl
NA	Numerische Apertur
δn	Änderung des Brechungsindex im Kern durch das Gitter
Δn	mittlere Brechungsindexänderung in RIU
Δn_{B}	Doppelbrechung bei FBGs
p_{el}	Ladungsdichte
p_{SEM}	Druck im Messraum des Rasterelektronenmikroskopes in Pa

$\vec{P}(\vec{r}, t)$	induzierte Polarisation; dielektrische Polarisation
$\vec{P}_{\text{Gitter}}(\vec{r}, t)$	induzierte Polarisation der Welle im Bereich des im Faserkern befindlichen Gitters
$\vec{P}_{\text{ungestört}}(\vec{r}, t)$	induzierte Polarisation der ungestörten Welle
P	komplexer Amplitudenvektor der induzierten Polarisation
$P_{\text{gestört}}$	komplexer Amplitudenvektor der induzierten Polarisation im Bereich des im Faserkerns befindlichen Gitters
P_{av}	Leistung des Lasers in W
q	Beladung; Belegungsplatz
q_{max}	maximale Anzahl an Belegungsplätzen
R bzw. S	Substitutionsvariablen
r	Orts- bzw. Radiuskoordinate
r_{PC}	Elementradius eines photonischen Kristalls in nm
\vec{r}	Orts- bzw. Radiusvektor
S	Sensitivität einer Faser mit OFG in nm/RIU
S_{BS}	Sensitivität des Sensors in nm/(ng/mm ²)
t	Zeit in min
T	Temperatur in K
T	spektrale Transmission in %
$\vec{U}(\vec{r}, t)$	Verallgemeinerung für $\vec{E}(\vec{r}, t)$ oder $\vec{H}(\vec{r}, t)$
v_{Fluss}	Flussrate der Perfusionspumpe in $\mu\text{L}/\text{min}$
v_{t}	Geschwindigkeit des Verschiebetisches in mm/s
V	Volumen in L
V	V-Zahl
$u(r)$	radiales Profil der Welle in einer Faser
w	Massenanteil in %
WD	Arbeitsabstand beim SEM in mm, (<i>analytical working distance</i>)
δx	optische Länge in einer Herriot-Zelle in m
x, y, z	Ortskoordinate in x-, y- bzw. in z-Richtung
Z_0^2	Scheinwiderstand im Vakuum \equiv Amplitudenverhältnis des elektrischen und des magnetischen Teils der elektromagnetischen Welle
Δz	Schichtdicke, Abschnittslänge

Mathematische Operatoren

$\nabla \cdot$	Nabla-Operator für die Divergenz
$\nabla \times$	Nabla-Operator für die Rotation
$\frac{\partial}{\partial t}, \frac{\partial^2}{\partial t^2}$	erste und zweite partielle (hier nach der Zeit t) Ableitung

Abbildungsverzeichnis

1.1	Allgemeine schematische Darstellung eines biofunktionalisierten optischen Biosensors	2
1.2	Übersicht von optisch-chemischen Sensoren	3
2.1	Querschnitt und n -Verteilung einer optischen Faser	6
2.2	Bestimmung von NA	7
2.3	Allgemeine schematische Darstellung von Fasergittern	9
2.4	Lichtführung in Anwesenheit von FBG	10
2.5	Lichtführung in Anwesenheit eines LPG	11
2.6	Lichtführung in Anwesenheit eines tFBG	12
2.7	OFG-Herstellung mit der Phasenmasken-Methode	15
2.8	Schematische Darstellung nicht linearer Absorptionsprozesse	17
2.9	Physikalische Wechselwirkungen von fs -Pulse mit SiO_2 -Strukturen	18
2.10	OFG-Herstellung mit der Punkt-für-Punkt-Methode	20
2.11	Allgemeines PC- n -Profil und mikroskopische Aufnahmen verschiedener PC-Arten	22
2.12	Schematische Darstellung eines AK	24
2.13	Schematische Darstellung des SELEX-Verfahrens	26
3.1	Aufbau für Gassensorik	36
3.2	Experimenteller Schreibaufbau	38
3.3	Experimenteller Messaufbau zur Aufnahme von FBG-Reflexionsspektren in Fasern	40
3.4	Schematischer Aufbau zum Vergleich von Reflexions- und Transmissionspektren	42
3.5	Beispiel für mikroskopische Durchmesserbestimmung	46
3.6	Schematische Darstellung der Biofunktionalisierung	47
3.7	Beispiel für mikroskopische Gitterbegutachtung	49
3.8	Unterschied beim Messpunkt	55
3.9	Messkorrektur I	57
3.10	Messkorrektur II	58
3.11	Gewichtung der Messkurven	59
4.1	Sensorprinzip des PC-basierten Biosensors	61
4.2	CO_2 -Absorptionsspektren zur Lasercharakterisierung	63
4.3	Charakteristische PC-Größen	64
4.4	Einfluss der Wellenleiterdimension	65
4.5	Einfluss des Abstandes zwischen PC und Wellenleiter	66
4.6	REM-Aufnahme des ersten Prototyps	67
4.7	Mikroskopische Aufnahme vor und nach der Politur des ersten Prototyps	68
4.8	Mikroskopische Aufnahme des ersten Prototyps während Messung am AIP	69
4.9	Schematische Darstellung des Wellenleiterdesigns mit Versatz	70

4.10	Schematische Darstellung eines ersten Messaufbaus und Lichtbildaufnahmen des zweiten Prototyps	71
4.11	Schematische Darstellung des zweiten Messaufbaus	72
4.12	Sensorprinzip des auf FBG-basierten Biosensors	74
4.13	Änderung von λ_B unter physikalischen Einflüssen	75
4.14	Einfluss der Temperatur auf $\Delta\lambda_B$ in den Messungen	76
4.15	Querschnitt eines FBG-Gitters	77
4.16	Mikroskopische Aufnahme eines mit <i>fs</i> -Pulsen geschriebenen Gitters	78
4.17	Mikroskopische Aufnahme mehrerer mit <i>fs</i> -Pulsen geschriebenen und parallel liegender Gitter	79
4.18	SEM-Aufnahmen von Gitterstrukturen einer geätzten Faser	80
4.19	Mikroskopische Aufnahmen und Messungen der sinushaltigen Gitterperiode	81
4.20	Intensitätsentwicklung beim Schreibprozeß	82
4.21	Grafische Darstellung von Schreibparametern	84
4.22	d_p vs. n_U	87
4.23	Faserätzdiagramm	89
4.24	Empfindlichkeiten nach dem Ätzzvorgang	91
4.25	Abhängigkeiten von S_{eFBG} und Intensität beim Faserätzen	92
4.26	Mikroskopische Aufnahme zur Visualisierung eines Faservergleichs	94
4.27	Ätzdiagramm unterschiedlicher Fasertypen im Vergleich	95
4.28	Ätzrate der 40%igen HF-Lösung	95
4.29	Ätzrate einer 40%igen KOH-Lösung	96
4.30	Physikochemisches Prinzip des NP-basierten Biosensors	100
4.31	Kontrollmessungen vom NP-basierten Biosensor	102
4.32	Schematische Darstellung des NP-basierten Biosensors	103
4.33	Biofunktionalisierung des NP-Biosensors	104
4.34	CRP-Messung mit NP-Biosensor	107
4.35	Weitere CRP-Messungen mit NP-Biosensor	109
4.36	SEM-Aufnahmen von geätzten funktionalisierten Fasern	110
4.37	Schematische Darstellung des GOPTS-basierten Biosensors	112
4.38	Funktionalisierungsüberprüfung des GOPTS-Biosensors	113
4.39	Biofunktionalisierung des GOPTS-Biosensors	114
4.40	CRP-Messung mit GOPTS-Biosensor unter Idealbedingung	117
4.41	Validierung bei CRP-Messung mit GOPTS-Biosensor	119
4.42	Dynamischer Bereich von Plasmaproteinen	122
4.43	Faservergleich bei CRP-Messung mit GOPTS-Biosensor	123
4.44	Vergleich einer CRP-Messreihe vor und nach einer Regeneration	124
A.1	Wellenvektoren an einer ebenen Grenzfläche	A-4
A.2	Wellenvektorenkomponenten an einer ebenen Grenzfläche	A-6
B.3	Schematische Abbildung eines Endotoxins	B-1

Tabellenverzeichnis

2.1	Beispielfasern mit Faserspezifikationen	9
2.2	Vergleich von OFG	14
2.3	Arten von permanenten n -Änderungen	19
3.1	Liste der verwendeten Chemikalien	29
3.2	Massenanteile, Stoffmengenkonz., Molenbrüche und n_{CaCl_2} der standardmäßig verwendeten CaCl_2 -Lösungen	31
3.3	Lösungen zur Reinigung und Biofunktionalisierung	32
3.4	Zusammensetzung des verwendeten zweifachen Aptamerpuffers	33
3.5	Verdünnungsschemata der Konzentrationsreihen	34
3.6	Schreibparameter beim direkten Schreiben	39
3.7	FBG-Positionierung auf den Stäbchen beim Ätzvorgang	43
3.8	Schritte des Ätzverfahrens	44
3.9	Schritte der Oberflächenbehandlung mit MP TES	47
3.10	Schritte der Oberflächenbehandlung mit GOPTS	48
3.11	Schritte der Funktionalisierungsüberprüfung für das Immunoassay	51
3.12	Systeme der Methodvalidierung	53
3.13	Verdünnungsschemata zum Erhalt des serumhaltigen Puffers	53
3.14	Auflistung von gemittelten systemspezifischen S_{eFBG} beim GOPTS-basierten Biosensor	60
4.1	Vergleich von FWHM-Werten aus der Literatur	83
4.2	Ergebnisse zur Berechnung von d_p	88
4.3	Vergleich von OFG-Sensitivitäten	99
4.4	Ergebnisse der nicht linearen Regression der $\Delta\lambda_{\text{B}}-t$ -Kurven während der GOPTS-Immobilisierung	115
4.5	Ergebnisse der nicht linearen Regression der $\Delta\lambda_{\text{B}}-t$ -Kurven während der Aptamer-Immobilisierung	116
4.6	Ergebnisse der Methodvalidierung	120
4.7	Liste von FOB aus der Literatur	126
4.8	Liste von CRP-spezifischen optischen Biosensoren aus der Literatur	127

1 Einleitung

Biomarker sind messbare und detektierbare biologische Parameter, die besonders in der Frühdiagnostik und bei therapeutischen Behandlungsmethoden von entscheidender Bedeutung sind. Ihre Wichtigkeit liegt in der Tatsache, dass sie sowohl auf gesunde „normale“ als auch auf „krankhafte“ Zustände hinweisen [1] können. Deshalb ist die Erkennung und die Quantifizierung von Biomarkern in der modernen Medizin sehr wichtig [2–4] und es bedarf dann jeweils einer angemessenen Erkennungsmethode. Biosensoren sind Vorrichtungen, die sehr gut geeignet sind, um Biomarker je nach Bedarf zu analysieren. U. Bora et al. präsentierten 2013 eine Übersicht an Nukleinsäuren-basierten Biosensoren, die geeignet waren, um Biomarker in klinischen Anwendungen zu analysieren [5]. So können beispielsweise spezifische Aptamere eingesetzt werden, um den für mehrere Krebsarten bekannten Biomarker *AGR2* spektroskopisch zu detektieren [6] oder aber auch PNS-Strukturen markierungsfrei verwendet werden, um den für aggressiven Brustkrebs bekannten Biomarker *HER2* zu ermitteln [7]. Vorteile von Biosensoren sind, dass sie Matrixeffekte reduzieren, nur ein geringes Probevolumen benötigen, die Möglichkeit besitzen zum einen einzelne Moleküle zu erkennen und zum anderen mehrere verschiedene Analyten gleichzeitig zu detektieren.

Biosensoren werden allgemein in drei Komponenten mit der molekularen Erkennungseinheit, dem Wandler und dem Detektor unterteilt. Die spezifische Reaktion der Erkennungseinheit mit dem Analyten muss hierbei ein messbares Ereignis hervorrufen, welches vom Wandler in ein Messsignal umgewandelt werden kann. Das Signal wird letztlich vom Detektor analysiert. Die molekulare Erkennungseinheit, auch biologischer Rezeptor genannt und in **Abb. 1.1** rot markiert ist, kann aus Antikörper, Enzymen, Proteinen oder Nukleotidsequenzen wie beispielsweise Aptameren bestehen [8–10]. Die Rezeptoren können auf verschiedene Weisen mit dem Biosensorelement als Bestandteil des Wandlers (siehe blauen Bereich in **Abb. 1.1**) verbunden sein. So können sie beispielsweise kovalent über sogenannte Verknüpfers mit dem Biosensorelement verbunden sein (violetter Bereich in **Abb. 1.1**) [11] oder über elektrostatische Kräfte, in der die Rezeptoren in eine Art „Kissen“ bestehend aus mehreren wechselnden Schichten positiv und negativ geladener Polymere eingebettet sind [12], verknüpft sein. Die Umwandlung des biologischen Ereignisses findet schließlich im Biosensorelement statt. Je nach Art der Umwandlung wird der Sensor zu einer bestimmten Kategorie an Biosensoren zugeordnet. Die Umwandlung findet über physikalische und/oder chemische Prozesse statt [9], dazu zählen z. B. mechanische [13], elektrochemische [14] und optische, wie beispielsweise die Oberflächenplasmonre-

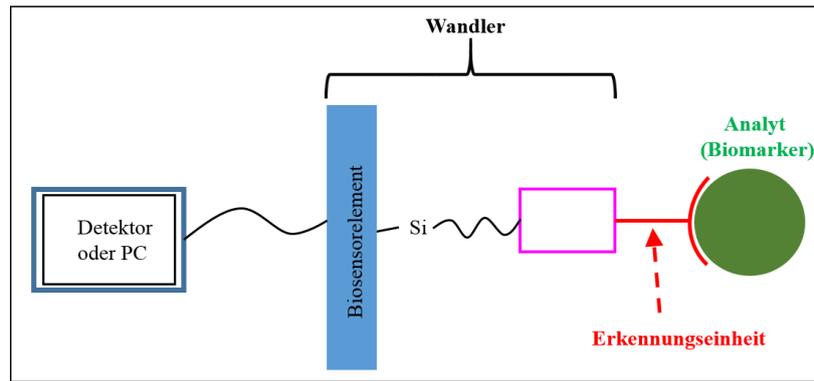


Abbildung 1.1: Die Abbildung zeigt eine schematische Darstellung eines mit einem Silan funktionalisierten Biosensors. Im Allgemeinen besteht ein Biosensor aus einer Erkennungseinheit (roter Bereich), die spezifisch mit dem Analyten (Biomarker, dem grünen Bereich) reagiert, und einem Wandler (schwarzer Bereich), der aus der spezifischen Reaktion ein Signal mittels eines physikochemischen Prozesses generiert. Die dritte Einheit ist der Detektor, der das Signal in ein Elektrisches umwandelt.

sonanz (SPR) [15]. SPR gilt dabei als Goldstandard bei der Analyse von Proteinen in wissenschaftlichen Fragestellungen. Biosensoren können auch integrierte Mikrochips beinhalten, sodass sie dann Biochips genannt werden. Der Vorteil bei Biochips ist, dass sie aus mehreren Biosensoren bestehen, welche in der Lage sind, einzeln zu messen und somit gleichzeitig mehrere Analyten zur selben Zeit detektieren können [9].

Obwohl SPR als Goldstandard etabliert ist, wurde in den letzten Jahrzehnten eine Vielzahl an diversen optischen Biosensoren entwickelt. Allen optischen Sensoren gemein ist, dass sie eine Immunität gegenüber elektromagnetischen Interferenzen besitzen. Des Weiteren bietet sich die Möglichkeit, in Realzeit den Analyten ohne Wartezeit zu messen und besonders faserbasierte optische Biosensoren (FOB) können auch Zielmoleküle relativ ohne Signalverlust über größere Entfernung zwischen Signalerkennung und Signalumwandlung messen. Grob lassen sich diese optisch-chemischen Sensoren in drei Gruppen einteilen (**Abb. 1.2**). Da stehen sich zum einen direkte bzw. indirekte spektroskopische Methoden gegenüber, die sich in dem Punkt unterscheiden, dass der Analyt aufgrund einer seiner Eigenschaften direkt gemessen wird oder über ein vermittelndes Reagenz, wie z. B. Sauerstoff über einen Platin-Komplex, detektiert wird. Die zentrale Gruppe bilden aber die Sensorplattformen, welche sich in FOB und Biosensoren, die planare Wellenleiterstrukturen enthalten, (BPW) einteilen lassen (**Abb. 1.2**) [16].

Im Rahmen dieser Doktorarbeit steht die Entwicklung bzw. die Etablierung eines refraktometrisch messenden FOB-Systems und eines refraktometrisch detektierenden BPW-Systems für biochemische Anwendungen im Vordergrund, die komplementär zueinander sind. Ein refraktometrisches Detektionsprinzip bedeutet, dass eine Änderung des umge-

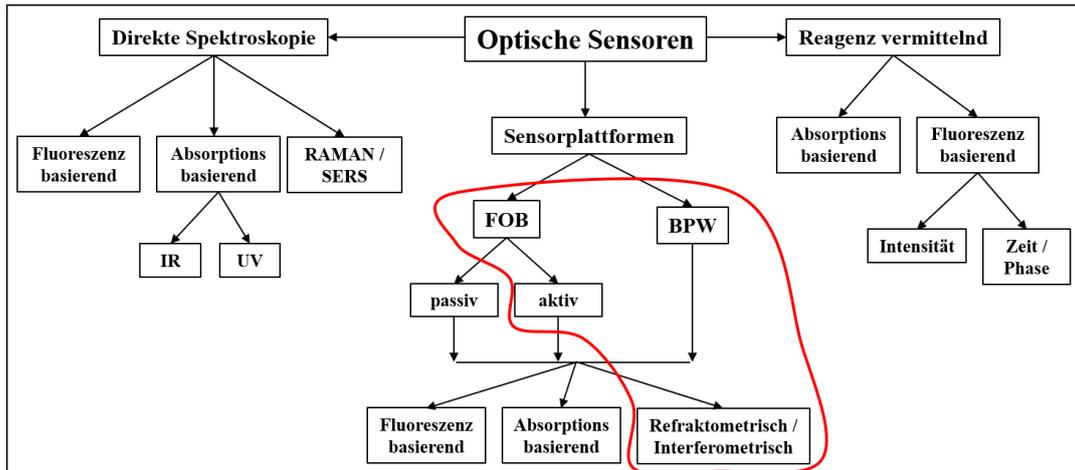


Abbildung 1.2: Die Abbildung zeigt eine allgemeine Übersicht von optisch-chemischen Sensoren. Diese lassen sich in drei Gruppen einteilen, die die auf direkte Spektroskopie basieren, die die indirekt über Reagenzien arbeiten und die Sensorplattformen. Der rot markierte Bereich weist auf den zugehörigen Bereich hin, zu dem die in dieser Arbeit präsentierten optischen Sensoren gehören, verändert nach [16].

benden Brechungsindex (n_U) zu einer Signaländerung führt. Bei den Sensorkonzepten handelt es sich zum einen um einen Sensor, der auf photonischen Kristallen (PC) basiert und zum anderen um einen, der auf optische Fasersensorik mittels Faser-Bragg-Gitter (FBG) basiert. Für beide Sensoren könnte man theoretisch die gleichen Lichtquellen benutzen, da beide Sensoren in einem Wellenlängenbereich von $\lambda = 1500 - 1620$ nm arbeiten. Der PC-basierte Sensor besteht aus planaren Wellenleitern mit seitlich lokalisierten PC als Resonatoren. Die Realisierung eines ersten Messaufbaus und die Charakterisierung des PC-basierten Sensors für bioanalytische Anwendungen besaß eine hohe Priorität. Die Simulationen vom Wellenleiter- und PC-Aufbau und die Herstellung des Chips wurden nicht von mir durchgeführt, wobei die Simulationen dennoch für ein besseres Verständnis diskutiert werden. Mit Hilfe eines neuen 10 W *fs*-Lasersystems ist es möglich, mit der Punkt-für-Punkt-Methode (ULI) FBG zu generieren. Deshalb war für diesen Aufgabenbereich die Verwirklichung eines Modellaufbaus und die Charakterisierung von FOB, dessen Sensorik auf die FBG-Technik basiert, für biochemische Applikationen von wesentlicher Bedeutung. Beide Aufgabenkonzepte sind wichtig und erlauben grundlegende Erkenntnisse für weiterführende Arbeiten im Bereich der Biosensorik.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Optische Fasergitter

In diesem Abschnitt soll die theoretische Basis von optischen Fasergittern (OFG) erläutert werden. Zunächst werden dabei einige Grundlagen von optischen Fasern dargelegt, bevor im darauf folgenden Abschnitt OFG und wesentliche OFG-Arten beschrieben werden. Anschließend werden zwei Gitterherstellungsmethoden vorgestellt, wobei die Punkt-für-Punkt-Methode ausführlicher beschrieben wird, da sie für den in dieser Arbeit erläuterten Sensor zur Herstellung verwendet worden ist.

2.1.1 Optische Faser

Eine optische Faser kann man als zylindrischen dielektrischen Wellenleiter betrachten. Deshalb sind der Brechungsindex (n) und das *Snelliussches Brechungsgesetz* relevante Begriffe, die zuerst geklärt werden sollten.

Die Ausbreitungsgeschwindigkeit c einer elektromagnetischen Welle ist in einem Medium um einen vom Medium abhängigen Faktor $n > 1$ kleiner als die Ausbreitungsgeschwindigkeit des Lichtes im Vakuum (c_0) [17]:

$$c = \frac{c_0}{n}. \quad (2.1)$$

Diesen Medium-abhängigen Faktor n bezeichnet man als Brechungsindex. Eine makroskopische Beschreibung von n ist in **Kap. A.1** dargelegt. n spielt eine entscheidende Rolle, wenn es um den Energietransport von Licht als elektromagnetische Welle durch einen Wellenleiter bzw. durch eine optische Faser geht. Der Lichttransport erfolgt über „innere Totalreflexion“ an der Grenzfläche zwischen zwei Medien mit verschiedenen n -Werten ($n_1 \neq n_2$). Die „innere Totalreflexion“ kann über das *Snelliussches Brechungsgesetz* erklärt werden [17]:

$$\frac{\sin \theta_e}{\sin \theta_g} = \frac{c_1}{c_2} = \frac{n_2}{n_1}. \quad (2.2)$$

Das bedeutet, dass die elektromagnetische Welle sich hauptsächlich im Medium mit dem höheren n ausbreitet. Mit einem sehr kleinen Anteil dringt die elektromagnetische Welle dabei auch in das Medium mit dem niedrigeren n als evaneszente Welle ein. Eine aus-

fürliche mathematische Beschreibung des Ereignisses, wenn eine elektrische Welle auf die Grenzfläche zwischen zwei Medien mit unterschiedlichen Brechungsindizes trifft, ist in **Kap. A.2** erläutert.

Ein Faserquerschnitt ist in **Abb. 2.1** dargestellt. Im Allgemeinen ist eine Faser so aufgebaut, dass der Kern einen durch Dotierung hervorgerufenen höheren n besitzt wie der umgebende Mantel. So werden Faserkernmaterialien in der Telekommunikation häufig mit Germanium dotiert. Zum Schutz der Faser vor physikalischen und chemischen äußeren Einflüssen wird die Faser von einem Polymerfilm beispielsweise aus Polyacrylat umgeben. Der Transport der elektromagnetischen Welle erfolgt im Kern mittels „innerer“ Totalreflexion. Eine ausführliche Betrachtung der Lichtführung in optischen Fasern, ausgehend von den Maxwell-Gleichungen (**Gl. A.25**) über die allgemeine Wellengleichung (**Gl. A.36**) und die Helmholtz-Gleichung, ist in **Kap. A.3** beschrieben. Beim Einkoppeln von Licht in eine optische Faser führen aber nicht alle Winkel zur „Lichtleitung“ im Kern. Die maximale Auslenkung wird auch Akzeptanzwinkel (θ_A) genannt. Dieser

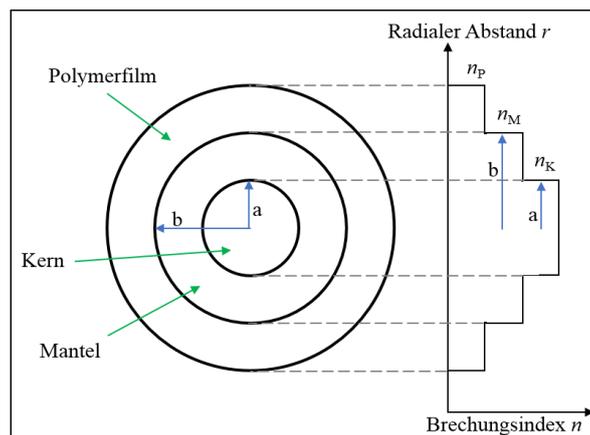


Abbildung 2.1: In der Abbildung ist ein allgemeiner Querschnitt einer optischen Faser gezeigt. Die Faser besteht aus dem Faserkern mit dem Radius a und dem kernumgebenden Mantel mit dem Radius b . Der Mantel wird wiederum mit einem Polymerfilm überzogen, der die Faser schützt. Des Weiteren sind die n -Verteilungen von Kern (n_K), Mantel (n_M) und Polymerfilm (n_P) im Vergleich relativ zueinander dargestellt, verändert nach [18]

lässt sich mit Hilfe des Snelliusschen Brechungsgesetzes (**Gl. 2.2**) und **Abb. 2.2** herleiten (Herleitung nach [19]): Am Ende der Faser, das orthogonal zur Faserachse ist, gilt $n_K > n_M > n_U$, wobei die Indizes K, M und U für den Kern, den Mantel bzw. die Umgebung stehen. Außerdem gilt, dass $\sin\theta_e = \sin\theta_r$ ist, mit θ_e und θ_r als den Winkel der ebenen einfallenden Welle bzw. als den Winkel der ebenen reflektierenden Welle.

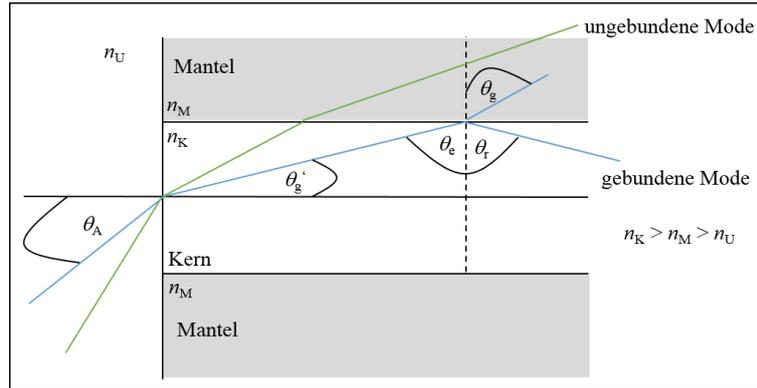


Abbildung 2.2: Die Grafik zeigt den Anfang einer optischen Faser, hier schematisch als Wellenleiter dargestellt. Außerdem sind die für die Herleitung der numerischen Apertur (NA) notwendigen Strahlen, Winkel und Brechungsindizes, mit $n_K > n_M > n_U$, dargestellt. Des Weiteren sind die aus den entsprechenden Strahlengängen resultierenden gebundenen (blaue Linie) und ungebundenen (grüne Linie) Moden angedeutet, verändert nach [20]

Anhand des Snelliusschen Gesetzes kann man nun folgende Beziehungen aufstellen:

$$n_U \sin \theta_A = n_K \sin \theta_{g'} \quad (2.3)$$

und

$$n_K \sin \theta_r = n_M \sin \theta_g. \quad (2.4)$$

Durch die Orthogonalität ergibt sich auch die Beziehung, dass $\theta_{g'} + \theta_r = \pi/2$ ist. Somit wäre $\sin \theta_{g'} = \cos \theta_r$. Letztendlich ist dadurch:

$$\sin \theta_{g'} = \sqrt{1 - \sin^2 \theta_r}. \quad (2.5)$$

Die „innere“ Totalreflexion tritt dann auf, wenn $\sin \theta_g = 1$ ist, so wird $\sin \theta_r$ maximal, wenn:

$$\sin \theta_r = \frac{n_M}{n_K} \text{ ist.} \quad (2.6)$$

Setzt man die **Gl. 2.5** und **Gl. 2.6** in **Gl. 2.3** ein, erhält man:

$$n_U \sin \theta_A = n_K \sqrt{1 - \frac{n_M^2}{n_K^2}} = \sqrt{n_K^2 - n_M^2}. \quad (2.7)$$

Der Akzeptanzwinkel θ_A für gebundene Strahlen ergibt sich demnach für den Fall, dass $n_U = 1$ ist:

$$\theta_A = \arcsin \sqrt{n_K^2 - n_M^2}. \quad (2.8)$$

Abgeleitet aus der Optik entspricht $\sin\theta_A$ der *numerischen Apertur* NA . Unter NA versteht man das Lichtsammelvermögen einer optischen Faser [20]. Eine in Beziehung zu NA stehende faserspezifische Kenngröße ist der relative Kern-Mantel-Index Δ :

$$\Delta = \frac{n_K - n_M}{n_K} \text{ mit } NA = n_K \sqrt{2\Delta}. \quad (2.9)$$

Für Einkopplungswinkel (θ_a) vom äußeren Medium, mit $\theta_a > \theta_A$, werden die Moden nicht mehr im Kern geführt, sodass man von ungebundenen Moden bzw. Strahlungsmoden spricht. Optische Fasern unterstützen eine Vielzahl geführter Moden. Unter einer Mode versteht man eine elektromagnetische Welle, deren räumliche Verteilung ($\vec{E}(\vec{r}, t)$) eine Lösung der Wellengleichung ist und alle Randbedingungen erfüllt [18] und die für bestimmte Winkel nach unzähligen Reflexionen an der Kern-Mantel-Grenzschicht keine Winkeländerung zeigt [19]. Eine mathematische Beschreibung der Lichtführung in einer optischen Faser, die stellvertretend auch für planare Wellenleiter gilt, ausgehend von den Maxwell-Gleichungen ist in **Kap. A.3** erörtert. Eine Mode wird charakterisiert durch ihre *Ausbreitungskonstante* β :

$$\beta = \frac{2\pi}{\lambda} n_K \sin\theta_e = \frac{2\pi}{\lambda} n_{\text{eff}}, \quad (2.10)$$

mit n_{eff} als effektiven Brechungsindex der Mode [19]. Anhand der Größe von β kann man die Arten von Moden definieren [21]. Für $\frac{2\pi}{\lambda} n_M < \beta < \frac{2\pi}{\lambda} n_K$ handelt es sich um gebundene Moden, auch Kernmoden genannt. Die elektromagnetische Welle wird im Kern geführt. Und für $\beta < \frac{2\pi}{\lambda} n_M$ handelt es sich um ungebundene Moden bzw. Strahlungsmoden. Für den Fall, dass $\frac{2\pi}{\lambda} n_U < \beta < \frac{2\pi}{\lambda} n_M$ ist, findet eine „innere“ Totalreflexion an der Grenzschicht zwischen Mantel und umgebenden Medium (n_U) bzw. Polymerfilm (hier $n_P = n_U$) statt und es handelt sich dann um eine Mantelmode. Für Werte $\beta < \frac{2\pi}{\lambda} n_U$ findet keine Lichtführung mehr statt und die Mode strahlt aus der Faser heraus. Da es eine sehr große Anzahl an Strahlungsmoden gibt, spricht man auch von einem Kontinuum an Strahlungsmoden. In der Telekommunikation und Forschung werden sowohl optische Fasern eingesetzt, die nur eine Mode führen, Einmodenfaser (SMF), als auch Fasern, die mehrere Moden führen können, Mehrmodenfasern (MMF). Ein Parameter, den man nutzen kann, um abzuschätzen, ob es sich um eine SMF oder eine MMF handelt, ist die V-Zahl [18]:

$$V = \frac{2\pi a \sqrt{n_K^2 - n_M^2}}{\lambda}. \quad (2.11)$$

Diese ist abhängig von der Arbeitswellenlänge λ , NA und dem Kernradius a . Es zeigt sich, dass für Werte von $V < 2,405$ nur SMF vorliegen, während es sich für Werte $V > 2,405$

um MMF handelt. Anhand von **Tab. 2.1** kann man erkennen, dass sich SMF und MMF vor allem durch das Kern-Mantel-Verhältnis und NA unterscheiden.

Tabelle 2.1: Angaben von drei Beispielfasern mit ihrem jeweiligen Kernradius a , ihrem Mantelradius b und ihrem relativen Kern-Mantel-Index Δ , nach [22–24].

Beispielfaser	Faserart	a	b	Δ
		in μm	in μm	in %
SMF-28e+	SMF	4,1	62,5	0,36
ClearCurve	MMF	25	62,5	1
InfiniCor	MMF	31,25	62,5	2

2.1.2 Beschreibung von optischen Fasergittern

Unter OFG versteht man eine periodische Modulation von n entlang der Faserachse im Faserkern. Eine schematische Darstellung ist in **Abb. 2.3** gezeigt. Ein mathematischer Ausdruck für das Brechungsindexprofil $n(z)$ entlang der Faserachse über eine Distanz z

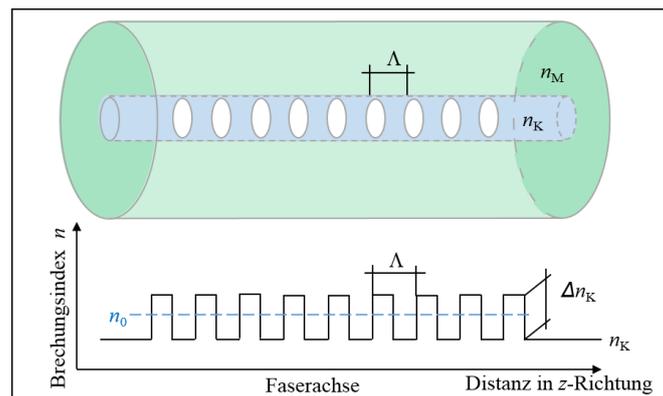


Abbildung 2.3: Die obere Grafik zeigt eine allgemeine schematische Darstellung einer Gitterstruktur in einer optischen Faser. Die Ellipsen im Kern zeigen dabei die periodische Modulation von n_K , mit Λ als die Gitterperiode, im Faserkern. Die untere Abbildung zeigt das Brechungsindexprofil $n(z)$ des Gitters entlang der Faserachse in z -Richtung an, verändert nach [25].

wurde von A. Othonos et al. beschrieben [26] mit:

$$n(z) = n_0 + \Delta n_K \cos\left(\frac{2\pi z}{\Lambda}\right), \quad (2.12)$$

mit n_0 als mittlerer Brechungsindex, Λ als die Gitterperiode und Δn_K als die Intensität der induzierten n -Änderung. Diese liegt im Bereich von $\Delta n_K = 10^{-5} - 10^{-2}$. Das Phänomen wurde 1978 erstmals von K. O. Hill et al. [27] beschrieben. Sie bestrahlten damals eine Ge-dotierte Faser mit einem Argon-Laser ($\lambda = 488 \text{ nm}$) und schrieben dabei Gitterstrukturen in den Faserkern. Dabei entstanden schmalbandige optische Filter. Heutzutage gibt es verschiedene Gittertypen, die sich zum einen durch die Dimension der Gitterperiode (Λ) als auch durch ihre geometrischen Strukturen unterscheiden [25]. Als erstes sollen hier die uniformen Faser-Bragg-Gitter (FBG) erwähnt werden. Die Gitterperiode liegt bei diesem Gittertyp in der Größenordnung von einigen hundert Nanometern, wodurch es zur Kopplung der im Kern geführten Mode und einer gegenläufigen Mode bei einer Resonanzwellenlänge, der sogenannten Bragg-Wellenlänge λ_B , kommt. Dadurch entsteht ein Spektrum mit schmalbandigen Reflexionssignalen, sowie ein Transmissionspektrum mit schmalbandigen Signalen. Die Wellenlängen der jeweiligen Signale sind identisch (**Abb. 2.4**). λ_B

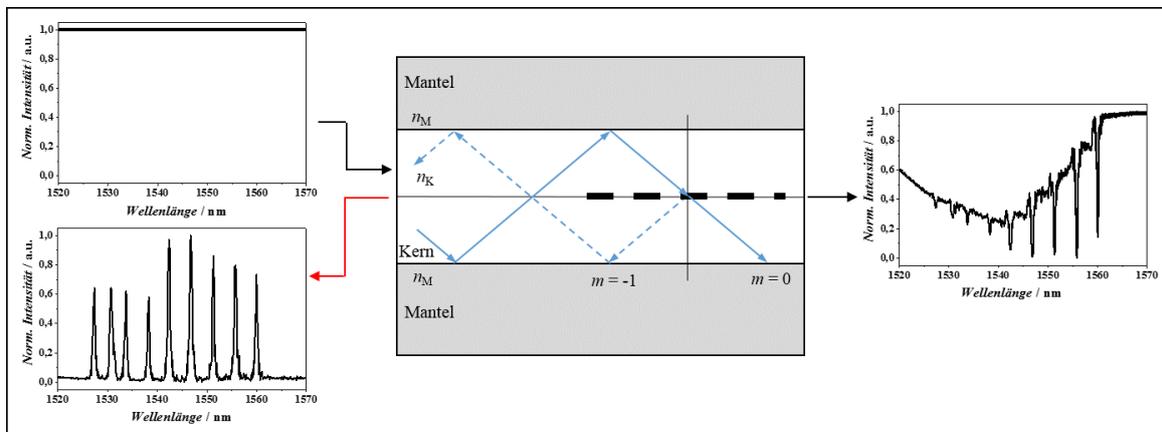


Abbildung 2.4: Die Abbildung zeigt die Lichtführung in einer optischen Faser in Anwesenheit eines Faser-Bragg-Gitters (FBG). Die ebene Welle wird an der Gitterstruktur bei einer bestimmten Wellenlänge (λ_B) in zwei Wellen aufgespalten. So wird sowohl eine Welle ohne Richtungsänderung ($m = 0$, blaue Linie) weiter im Kern geführt, als auch eine Welle gebeugt (hier $m = -1$, gestrichelte blaue Linie), die dann in umgekehrter Richtung im Kern geführt wird, verändert nach [25, 28]. Zur Verdeutlichung sind noch ein Reflexions- und ein Transmissionspektrum derselben optischen Faser, in der neun FBG eingeschrieben worden sind, gezeigt. Die Spektren wurden mit dem in **Abb. 3.4** beschriebenen Aufbau aufgenommen. Das Spektrum links oben wurde nur simuliert und soll das Eingangssignal darstellen.

lässt sich mit der *allgemeinen Bragg-Gleichung* bestimmen [29, 30]:

$$m\lambda_B = 2n_{\text{eff}}\Lambda_{\text{FBG}}. \quad (2.13)$$

Dabei ist m die Beugungsordnung, λ_B ist die Bragg-Wellenlänge, Λ_{FBG} ist die FBG-Gitterperiode und n_{eff} ist der effektive Brechungsindex der Kernmode. Eine ausführliche Herleitung der Bragg-Gleichung ist in **Kap. A.4.3** dargelegt. Das Transmissionsspektrum in **Abb. 2.4** weist ein schlechteres Signal-Rausch-Verhältnis (SNR) als im Vergleich dazu das Reflexionsspektrum auf. Aufgrund von Absorptions- und Streuprozessen kann es zu Intensitätsverlusten kommen. Bei mit ULI geschriebenen FBG kommt es aufgrund von Mie-Streuung zu wellenlängenabhängigen optischen Verlusten [31].

Erhöht man die Gitterperiode um zwei bis drei Größenordnungen, d.h. eine Gitterperiode im Bereich von mehreren hundert Mikrometern, erhält man die langperiodischen Gitter (LPG). Mit dieser Vergrößerung der Gitterperiode werden die Phasenübergangsbedingung zwischen Kernmode und diversen Mantelmoden erfüllt, sodass mehrere Signale bei bestimmten Wellenlängen im Transmissionsspektrum vorhanden sind (**Abb. 2.5**).

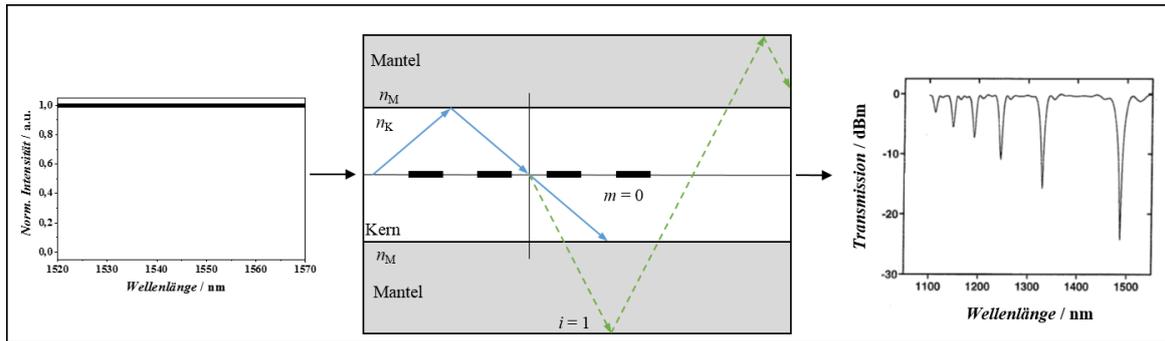


Abbildung 2.5: Die Abbildung zeigt die Lichtführung in einer optischen Faser in Anwesenheit eines langperiodischen Gitters (LPG). Die ebene Welle (blaue Linie) wird an der Gitterstruktur bei einer bestimmten Wellenlänge, der Resonanzwellenlänge $\lambda_{\text{res}(i)}^{\text{LPG}}$, in zwei Wellen aufgespalten. Beide Wellen werden ohne Richtungsänderung weitergeführt, wobei die gebeugte Welle (hier $i = 1$, grün gestrichelte Linie) durch die Kern-Mantel-Grenzfläche als Mantelmode weitergeführt wird, verändert nach [25, 28]. Zur Verdeutlichung ist ein Transmissionsspektrum für ein Gitter mit einer Gitterperiode $\Lambda_{\text{LPG}} = 300 \mu\text{m}$ und einer Gitterlänge von 2 cm gezeigt [32]. Das Spektrum links wurde nur simuliert und soll das Eingangssignal darstellen.

Dabei entspricht jedes Signal einer Resonanzwellenlänge $\lambda_{\text{res}(i)}^{\text{LPG}}$ einer Kopplung mit einer spezifischen Mantelmode der i -ten Ordnung. Ausgehend von der in **Kap. A.4.3** beschriebenen Herleitung für die Resonanzwellenlängen folgt:

$$\lambda_{\text{res}(i)}^{\text{LPG}} = (n_{\text{eff}} - n_{\text{eff},\text{M}}^i) \Lambda_{\text{LPG}}, \quad (2.14)$$

mit n_{eff} als Brechungsindex der Kernmode, $n_{\text{eff},M}^i$ als Brechungsindex der Mantelmode i -ter Ordnung und Λ_{LPG} als LPG-Gitterperiode. Die spektralen Breiten der einzelnen Signale sind abhängig von der LPG-Länge und variieren dabei zwischen einigen bis zu mehreren zehn Nanometern. Die Intensitäten der Signale nehmen mit steigender harmonischen Ordnung i der Mantelmode zu. Des Weiteren sind im Vergleich zu FBG die spektralen Breiten der durch LPG hervorgerufenen Signale ca. zwei Größenordnungen breiter [33].

Neben der Änderung der Gitterperiode kann man auch die Geometrie der Gitterstruktur verändern. Als Beispiel sollen die gewinkelten Faser-Bragg-Gitter (*tilted* FBG, tFBG) erwähnt werden. Diese unterscheiden sich zu uniformen FBG darin, dass sie einen Neigungswinkel (ζ) mit $\zeta \neq 0$ zwischen der Richtung der Gitterstruktur und der Faserachse aufweisen (**Abb. 2.6**). ζ führt dazu, dass es neben der für FBG typischen Kopplung zwischen vorwärts und rückwärts laufender Kernmoden noch Kopplungen zwischen der vorwärts laufenden Kernmode mit rückwärts laufenden Mantelmoden und teilweise noch

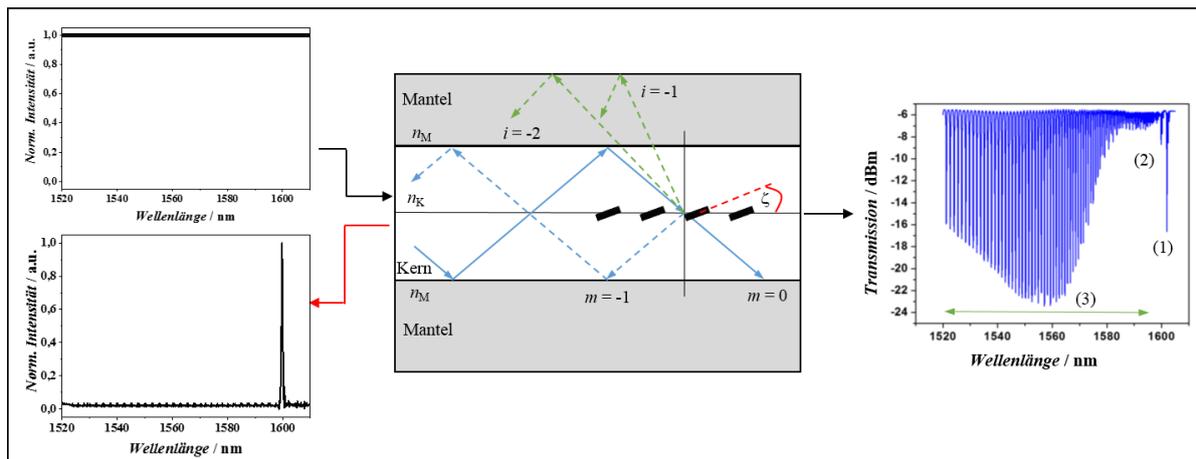


Abbildung 2.6: Die Abbildung zeigt die Lichtführung in einer optischen Faser in Anwesenheit eines gewinkelten Faser-Bragg-Gitters (tFBG) mit dem Neigungswinkel (ζ) der Gitterstrukturen (rot gestrichelte Linie) relativ zur Faserachse. Die ebene Welle wird an der Gitterstruktur bei einer bestimmten Wellenlänge, der Resonanzwellenlänge $\lambda_{\text{res}(i)}^{\text{tFBG}}$, in mindestens drei Wellen aufgespalten. Die ebene Welle wird ohne Richtungsänderung weiter geführt ($m = 0$, blaue Linie), wobei eine gebeugte Welle (hier $m = -1$, blau gestrichelte Linie) in umgekehrter Richtung im Kern geführt wird und mehrere gebeugte Wellen (hier für $i = -1$ und $i = -2$, grün gestrichelte Linien) werden durch die Kern-Mantel-Grenzfläche als Mantelmoden ebenfalls in umgekehrter Richtung geführt, verändert nach [25, 28, 34]. Zur Verdeutlichung ist ein Transmissionsspektrum für ein tFBG mit einem Neigungswinkel zur Faserachse von $\zeta = 10^\circ$ gezeigt. Die Zahlen im Transmissionsspektrum zeigen die Resonanzwellenlängen für die Kernmode (1), die Geistermode (2) und diverser Mantelmoden (3) an, verändert nach [34, 35]. Die Spektren links wurden nur simuliert und sollen das Eingangssignal und das Reflexionsspektrum, welches einem uniformen FBG-Reflexionsspektrum entspricht, darstellen.

mit Strahlungsmoden gibt [35]. Die ebene Welle wird dabei an jedem Gitterpunkt analog zu uniformen FBG gebeugt. Des Weiteren wird das Licht durch den Phasenwinkel unterschiedlich aus dem Faserkern in den Mantel hinaus geführt. Der Phasenwinkel bestimmt dabei die Stärke der Kopplung mit den einzelnen Mantelmoden [36]. Die Folge daraus ist, dass das Reflexionsspektrum dem eines uniformen FBG gleicht, während das Transmissionsspektrum deutliche Unterschiede aufweist. Jede Kopplung zu einer Mantelmode ist als Bande, bei kleinerer Wellenlänge als die durch die Kernmodenkopplung hervorgerufenen Bande [33], erkennbar. Außerdem ist im Transmissionsspektrum noch eine Bande sichtbar, die durch eine sogenannte Geistermode entsteht. Für kleine ζ kann es zu einer Kopplung zwischen der Kernmode mit einer flachen Mantelmode kommen, wodurch die Geistermode entsteht [35]. Die Resonanzwellenlänge $\lambda_{\text{res}(i)}^{\text{tFPG}}$ eines tFBG lässt sich nach J. Albert et al. [36] berechnen mit:

$$\lambda_{\text{res}(i)}^{\text{tFPG}} = (n_{\text{eff}} - n_{\text{eff},M}^i) \frac{\Lambda_{\text{tFPG}}}{\cos \zeta}, \quad (2.15)$$

mit n_{eff} als Brechungsindex der Kernmode, $n_{\text{eff},M}^i$ als Brechungsindex der Mantelmode i -ter Ordnung, ζ als Neigungswinkel zwischen Gitterstruktur und Faserachse und Λ_{tFPG} als tFBG-Gitterperiode.

Eine zusammenfassende tabellarische Darstellung der drei in diesem Abschnitt präsentierten OFG ist in **Tab. 2.2** dargestellt. Da es in dieser Arbeit um die Entwicklung biochemischer Sensoren geht, erfolgt hier noch eine kleine vergleichende und zusammenfassende Aussage über die Abhängigkeit der präsentierten OFG hinsichtlich ihrer Abhängigkeit von der Temperatur und von der Dehnung in longitudinaler Richtung. Hinsichtlich ihrer Abhängigkeit zur Temperatur und zur Dehnung unterscheiden sich FBG-Sensoren und tFBG-Sensoren nicht. Beide zeigen eine temperaturbedingte Wellenlängenverschiebung von $\Delta\lambda_T \approx 13 \text{ pm/K}$ [26, 37] und eine dehnungsabhängige Verschiebung von $\Delta\lambda_{\mu\epsilon} \approx 1,2 \text{ pm}/\mu\epsilon$ [37, 38] für reine SiO₂-Fasern bei einer Wellenlänge von $\lambda = 1550 \text{ nm}$. Bei LPG sieht es anders aus, denn ihre Temperatur- und Dehnungsabhängigkeit hängt stark von der Gitterstruktur und Zusammensetzung der Faser ab. Deshalb gibt es Signale mit positiven, negativen oder keiner Sensitivität, wodurch die Abhängigkeiten zwischen $\Delta\lambda_T \approx 30 - 100 \text{ pm/K}$ bzw. zwischen $\Delta\lambda_{\mu\epsilon} \approx -0,32 - 20 \text{ nm}/\mu\epsilon$ [38–40] variieren können.

Tabelle 2.2: Vergleich der in **Kap. 2.1.2** beschriebenen Fasern hinsichtlich der Modenkopplung, Detektionsmoden, Sensitivität, und einige Vor- und Nachteile, nach [26, 41–43]

Vergleichskriterium	OFG		
	FBG	LPG	tFBG
Modenkopplung	Kern-Kern	Kern-Mantel	Kern-Kern; Kern-Mantel
Detektionsmodus	Reflexion; Trans- mission	Transmission	Reflexion; Trans- mission
Sensitivität	Temperatur; Dehnung; n_U		
Vorteile	Detektionsmodus; mehrere Analyten gleichzeitig; klein	intrinsisch sensitiv zu n_U ; hohe Sen- sivität zu n_U	intrinsisch sensitiv zu n_U , klein; Detektionsmodus; mehrere Analyten gleichzeitig;
Nachteile	fragil bei n_U - Messung; geringe Sensitivität zu n_U	starke Abhängig- keit von physikali- schen Parametern (Querempfindlich- keit); Detektions- modus; komplexe Spektren	geringe Sensitivi- tät zu n_U ; schwierige Sig- nalauswertung; Detektionsmodus

2.1.3 Herstellung von Fasergittern

Es gibt mehrere Methoden zur OFG-Herstellung [44], unter anderem die interferometrische Herstellungsmethode, die Phasenmaskenmethode und die Punkt-für-Punkt-Methode (ULI). Zu Beginn wird kurz die am häufigsten genutzte Herstellungsmethode unter Verwendung einer Phasenmaske in Kombination mit UV-Licht emittierendem Laserlicht erörtert. Danach wird in diesem Abschnitt ausführlicher die ULI-Technik betrachtet. Dafür werden zunächst einige physikochemische Prozesse beschrieben, bevor anschließend auf die Interaktionen zwischen fs -Pulsen mit transparenten Medien eingegangen wird. Zum Abschluss wird die in dieser Arbeit verwendete Herstellungsmethode (ULI) beschrieben.

2.1.3.1 Phasenmasken-Methode

Eine Phasenmaske ist ein aus SiO_2 bestehendes „Werkzeug“ zum OFG-Herstellen. Es besteht aus einem Reliefmuster an der Oberfläche. Die Gitterperiode der Phasenmaske Λ_{PM} wird oftmals in die Struktur hinein geätzt. Die OFG-Gitterperiode (Λ) in der Faser steht in folgender Beziehung zur Gitterperiode der Phasenmaske [45]:

$$\Lambda = \frac{1}{2} \cdot \Lambda_{\text{PM}}. \quad (2.16)$$

Eine schematische Darstellung des Schreibprozesses ist in **Abb. 2.7** gezeigt. Standardmäßig wird als Lichtquelle ein UV-Laser, wie z. B. ein KrF-Excimer Laser, verwendet [26]. Es ist aber heutzutage auch möglich, *fs*-gepulste Laser, die im NIR-Bereich emittieren, zu verwenden [46]. Λ ist dabei unabhängig von der Lichtquelle. Das Laserlicht wird beim Kontakt mit dem Reliefmuster gebeugt. Dabei entstehen mehrere Strahlen unterschiedlichster Beugungsordnungen m , mit $m = 0, \pm 1, \pm 2, \dots$. Die nullte Beugungsordnung, das entspricht dem ungebeugten Strahl, wird so unterdrückt, dass dieser $\leq 5\%$ der gebeugten Strahlen ausmacht. Die positiven und negativen ersten Beugungsordnungen werden dagegen so verstärkt, dass sie jeweils $\approx 40\%$ entsprechen. OFG entstehen durch das Interferenzmuster aus den Strahlen der ersten Beugungsordnungen [45]. Die Phasenmaske ist während des Schreibprozesses im direkten Kontakt bzw. mit sehr kleinem Abstand zur Faser, da der Abstand einen Einfluss auf die induzierte n -Modulation hat. Mit größerem Abstand wird dieser kleiner [26]. Ein Vorteil dieser Methode ist die

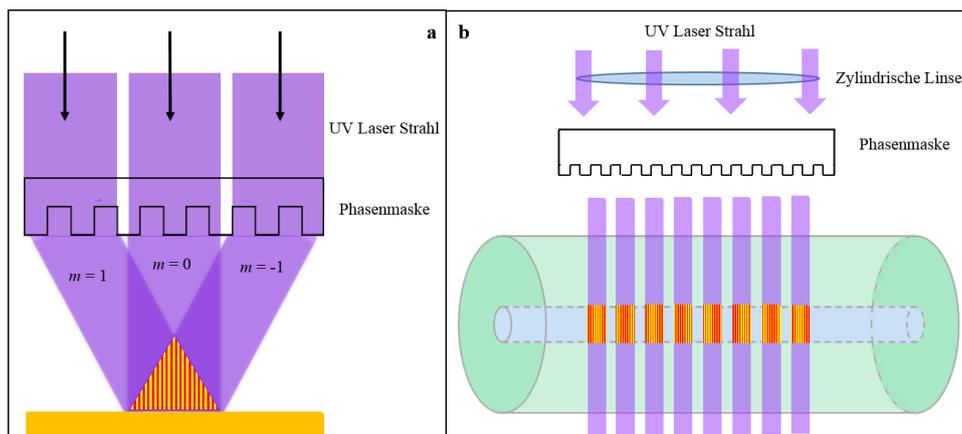


Abbildung 2.7: Die Abbildung zeigt eine schematische Darstellung der OFG-Herstellung mit Hilfe einer Phasenmaske unter Verwendung von UV-Laserstrahlen. (a) Ein OFG entsteht durch das Interferenzmuster, der an der Phasenmaske gebeugten Strahlen, verändert nach [47]. (b) Das UV-Licht wird dabei mit einer zylindrischen Linse in den Faserkern fokussiert, verändert nach [48].

hohe Reproduzierbarkeit der geschriebenen Gitterstrukturen. Ein Nachteil ist dagegen, dass man für jedes Λ jeweils eine andere Phasenmaske benötigt [45]. Es ist dennoch möglich, kleine Variationen in Λ zu erreichen, indem man während des Schreibprozesses Spannung auf die Faser ausübt. So kann es im Falle von FBG zur λ_B -Änderung von $\Delta\lambda_B \approx 2\text{ nm}$ kommen [49]. Die OFG-Bildung basiert auf einer photoinduzierten n -Änderung, diese ist dabei abhängig vom Dopantengehalt. Die höchste Photosensitivität wurde bei Germanium dotierten Fasern beobachtet. Um die Photosensitivität vor dem Schreibprozess zu steigern, sind einige Techniken in der Literatur beschrieben. Bei diesen Techniken handelt es sich beispielsweise um die Wasserstoffbeladung, das sogenannte „Flame brushing“ und die zusätzliche Dotierung der Fasern mit weiteren Zusatzstoffen [26, 45, 50, 51]. Aber die Techniken der Photosensitivitätssteigerungen beinhalten zumeist mindestens einen unerwünschten Effekt, wie beispielsweise die nicht permanente Steigerung der Photosensitivität im Fall der Wasserstoffbeladung, da der Wasserstoff mit der Zeit aus der Faser wieder heraus diffundiert. Außerdem erreicht man zwar mit der „Flame brushing“-Technik eine permanente Beladung mit Wasserstoff, wobei aber allerdings die Faser aufgrund der hohen lokalen Flammentemperatur Schaden nimmt [26].

2.1.3.2 Nicht lineare Absorptionsprozesse

Bei einer Interaktion von Laserpulsen im fs -Bereich kommt es zu Ladungsträgeranregungen und Thermalisierungsprozessen. Zu den Ladungsträgeranregungen zählen die Absorption von Photonen und die Lawinenionisation, während zu den thermischen Prozessen die Ladungsträger-Ladungsträger-Streuung und Ladungsträger-Photonen-Streuung zuzuordnen sind [52]. Im Folgenden sollen hier aber nur kurz die in **Abb. 2.8** gezeigten Ladungsträgeranregungen beschrieben werden. **Abb. 2.8a** zeigt den Prozess der Mehrphotonenabsorption. Hier erfolgen simultane Absorptionen von mehreren Photonen, wodurch Elektronen aus dem Valenzband angeregt werden und in das Leitungsband energetisch angehoben werden. Die Anzahl N der Photonen muss dabei die Energiedifferenz (Bandlücke) zwischen dem Valenz- und Leitungsband überwinden. Daher muss die Bedingung $Nhf > E_g$, mit E_g als die Bandlückenenergie, erfüllt werden. Bei kleinen Pulsenergien (E_p) und hohen Frequenzen (f) ist das der dominierende Absorptionsprozess, da fs -Pulse im sichtbaren und NIR-Bereich nur eine unzureichende Photonenenergie besitzen, um von Glas linear absorbiert werden zu können (Einphotonenanregung) [53]. Der zweite Absorptionsprozess ist die Tunnelionisation (**Abb. 2.8b**). Die Tunnelionisation tritt anders als die Mehrphotonenabsorption bei hohen E_p und kleinen f auf. Das starke Feld verzerrt

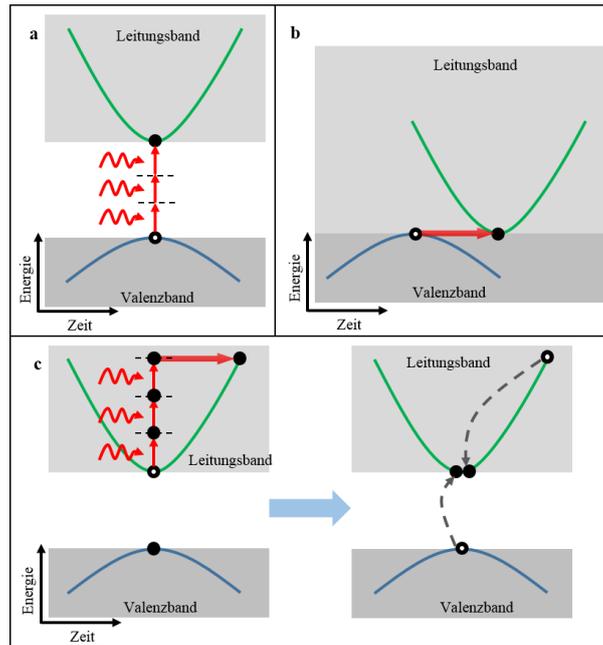


Abbildung 2.8: Die Abbildung stellt schematisch drei nicht lineare photoneninduzierte Ionisationsprozesse, die durch *fs*-Pulse in transparenten Medien auftreten können, dar. Es werden hierbei (a) die Mehrphotonenionisation, (b) die Tunnelionisation und (c) die Lawinenionisation, wobei eine Stoßionisation auf eine Ladungsträgerabsorption folgt, gezeigt. Elektronen werden durch schwarze Kreise, Photonen (mit hf) werden durch geschwungene rote Pfeile und Übergänge von und zu virtuellen Zuständen werden durch gradlinige rote Pfeile in horizontaler und vertikaler Richtung visualisiert. Die gestrichelten Linien und Pfeile deuten virtuelle Zustände bzw. Stoßionisationen an. Die grünen und blauen Kurven bilden die Potentialkurven des Leitungs- bzw. Valenzbandes ab, verändert nach [53].

die Bandstruktur, sodass die Potentialdifferenz der Bandlücke reduziert wird. Als Folge können Elektronen vom Valenz- in das Leitungsband tunneln. Die beiden Prozesse können einzeln als auch in Kombination auftreten. Entscheidend ist das Verhältnis zwischen der Laserfrequenz und der Laserintensität im Fokolvolumen. Bei der Lawinenionisation (**Abb. 2.8c**) absorbieren freie Elektronen durch Ladungsträgerabsorption Licht. D. h., ein Elektron im Leitungsband kann Photonenenergie absorbieren, sodass dessen Energie die der Bandlücke übertrifft. Dieses „heiße“ Elektron wirkt mittels Stoßionisation auf ein gebundenes Elektron im Valenzband. Als Folge gibt das „heiße“ Elektron seine Energie an ein zweites ab, sodass nun zwei Elektronen im Leitungsband vorliegen. Dieser kombinierte Vorgang aus Ladungsträgerabsorption und Stoßionisation kann sich nun solange wiederholen, sofern die Laseranregung stark genug ist. Mit der Zeit resultiert daraus eine Elektronenwolke. Für eine Lawinenionisation bedarf es aber einer genügenden Elektronenanzahl im Leitungsband. Das passiert zum einen durch thermal angeregte Verunreinigungen oder Defektzustände als auch zum anderen durch Mehrphotonenabsorption und/oder

Tunnelionisation [53].

2.1.3.3 Brechzahländerung im transparenten Medium durch *fs*-Pulse

Den Vorgang einer Brechzahländerung im transparenten Medium durch *fs*-Pulse kann man in wenigen Schritten beschreiben (**Abb. 2.9**). Allgemein kann man sagen, dass der Kontakt der *fs*-Pulse mit dem Medium starke nicht lineare Absorptionsprozesse (**Abb. 2.9b**) hervorruft, dadurch werden Elektronen lokal im Glas abgeschieden. Es handelt sich hier nicht um einen Absorptionsprozess einzelner Photonen, da hf geringer ist als E_g zwischen dem Valenz- und dem Leitungsband. E_g ist für die meisten Glasmaterialien gegeben mit $\Delta E > 4 \text{ eV}$ [52]. Durch die nicht linearen Absorptionsprozesse erhöht sich lokal die Elektrodichte, bis sich ein heißes Elektronen-Ionenplasma bildet, da die Absorption schneller verläuft als dass die Energie an das Gitter abgegeben werden kann. Nach einigen Pikosekunden übertragen die angeregten Elektronen ihre Energie an die umgebene Gitterstruktur (**Abb. 2.9c**), was in einer permanenten Materialänderung endet (**Abb. 2.9d**). Die

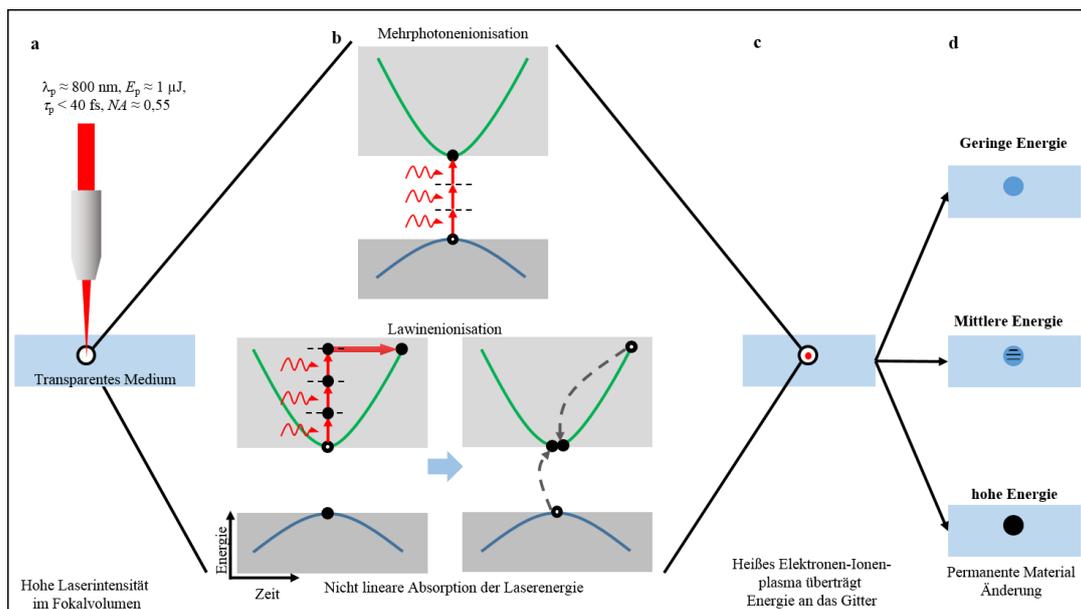


Abbildung 2.9: Die Abbildung stellt die einzelnen Teilschritte physikalischer Wechselwirkungen von *fs*-Pulsen mit SiO_2 -Strukturen dar. (a) Das *fs*-Laserlicht wird in ein transparentes Medium hinein fokussiert, wodurch eine hohe Intensität im Fokalvolumen entsteht. (b) Es folgen nicht lineare Absorptionsprozesse, dadurch entsteht ein Elektronenplasma mittels Photonenionisation und Lawinenionisation. (c) Das Plasma überträgt seine Energie an das umgebende Materialgitter, sodass das Material permanent verändert wird. (d) Drei verschiedene Materialänderungen entstehen: isotropes Δn bei geringer Energie, doppelbrechende Nanostrukturen bei mittlerer Energie und leere Hohlräume bei hoher Energie, verändert nach [53].

morphologischen Materialänderungen können in drei Arten unterteilt werden, wobei das Entstehen der verschiedenen Arten von einigen Parametern abhängen. So bestimmen z. B. E_p , die Pulslänge (τ_p), die Repetitionsrate (f_{rep}) und die Wellenlänge (λ_p) des Lasers das Aussehen der Veränderung [53]. Die **Tab. 2.3** zeigt drei verschiedene n -Modifikationen in Abhängigkeit von E_p .

Tabelle 2.3: Auflistung der drei verschiedenen Arten von n -Änderungen und einer jeweiligen Kurzbeschreibung der Entstehung und Aussehen in Abhängigkeit von E_p für ein System mit $NA = 0,6$, $\tau_p = 100$ fs und $\lambda_p = 800$ nm, nach [53]

Modifikationstyp	E_p	Beschreibung
I	$E_p \approx 100$ nJ	Materialverdichtung durch schnelles Abkühlen von geschmolzenem Glas im Fokalvolumen; isotrope n -Erhöhung im Glas durch schnelles Abkühlen von hohen Temperaturen
II	$E_p \approx 150$ -500 nJ	Bildung von doppelbrechenden periodischen Nanostrukturen; entsteht durch Interferenz von Laserfeld und induzierter Elektronen-Plasma-Welle
III	$E_p > 500$ nJ	Bildung einer Schockwelle nach dem Energietransfer der Elektronen; Entstehung eines Hohlraumes mit geringerer Dichte; Raum wird umhüllt von Schicht mit höherem n

2.1.3.4 Punkt-für-Punkt-Methode

Die Punkt-für-Punkt-Methode wird in der Literatur auch als *ultrafast laser inscription* (ULI) bezeichnet und wurde 2004 erstmals von A. Martínez et al. als Methode zur FBG-Herstellung mittels fs -gepulstem Laser beschrieben [54–56]. Das fs -gepulste Laserlicht wird über ein NIR-Objektiv in den Faserkern hinein fokussiert (**Abb. 2.10a**) und wechselwirkt dort mit dem Glas mittels nicht linearer Absorptionsprozesse (**Kap. 2.1.3.2**). Dadurch ist eine Vorbereitung der Faser wie beispielsweise bei der Verwendung von UV-Licht emittierenden Lasern in Kombination mit der Phasenmaske (**Kap. 2.1.3.1**) nicht mehr nötig. Während des Schreibprozesses wird die auf einem Verschiebetisch fixierte Faser kontinuierlich in eine vorher definierte Richtung bewegt. Infolge der Bewegung induziert jeder Laserpuls eine lokale n -Änderung (**Kap. 2.1.3.3**) im Faserkern mit definiertem Λ_{FBG} [54]. Des Weiteren hängt resultierendes λ_B des Gitters von der Bewegungsgeschwindigkeit der Faser auf dem Verschiebetisch während des Schreibprozesses (v_t) und f_{rep} des

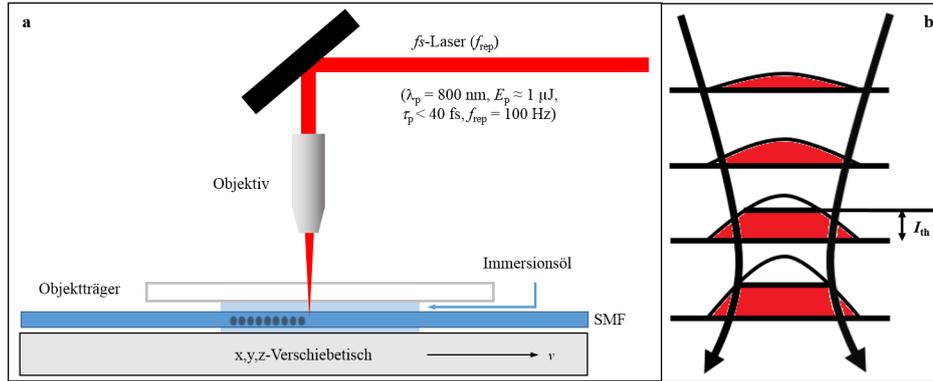


Abbildung 2.10: Die Abbildung zeigt schematisch den OFG-Schreibprozess mit der Punkt-für-Punkt-Methode. (a) Der gepulste fs -Laserstrahl wird mit Hilfe eines Objektivs in den Faserkern fokussiert. Aufgrund der Bewegung der auf dem Verschiebetisch fixierten Faser werden einzelne „Punkte“ in den Faser hineingeschrieben, verändert nach [57]. (b) Intensitätsprofil des Laserlichts in Abhängigkeit der Strahlbreite im Bereich des Fokuspunktes. Die nicht lineare Absorption ist außerhalb des Fokuspunktes minimiert, da die Laserintensität unterhalb der minimalen Intensität für die nicht lineare Absorption (I_{th}) liegt, verändert nach [58]

fs -Lasers ab und mit der Beziehung $\Lambda_{\text{FBG}} = \frac{v_t}{f_{\text{rep}}}$ [59] wird aus **Gl. 2.13**:

$$\lambda_B = \frac{2n_{\text{eff}}v_t}{mf_{\text{rep}}}. \quad (2.17)$$

Dadurch ist es außerdem noch möglich im Gegensatz zur standardmäßigen Phasenmaschentechnik, FBG mit höherer harmonischer Ordnung ($m \geq 2$) mit der ULI-Technik zu schreiben, indem das Verhältnis zwischen v_t und f_{rep} variiert wird [54]. Ein weiterer Vorteil dieser Herstellungsmethode ist die Flexibilität im Schreiben verschiedener Gitter. Aber für eine n -Veränderung im Fokalvolumen des Objektivs ist, wie in **Abb. 2.10b** skizziert, sowohl eine hohe Intensität als auch eine schmale Fokussierung notwendig [58]. Um nicht lineare Absorptionsprozesse hervorzurufen, muss die Leistungsdichte des Lasers ($I_{th} \approx 5 \cdot 10^{20} \text{ W/m}^2$) gleich der elektrischen Feldstärke sein, dass die Elektronen an das Atom bindet ($E_B \approx 10^9 \text{ V/m}$). Darum ist neben den in **Kap. 2.1.3.3** genannten Parametern auch NA des Objektivs von entscheidender Bedeutung. NA bestimmt die Größe des Fokalvolumens und damit auch die räumliche Größe der n -Änderung [52]. Die erforderliche Intensität für die Absorptionsprozesse wird aufgrund der Fokussierung nur im Bereich des Fokalvolumens erreicht (**Abb. 2.10b**), weshalb auch außerhalb des Fokalvolumens keine Materialveränderungen stattfinden [58]. Für Werte von $NA = 0,6$ entstehen symmetrische und sphärische Änderungen und für $NA < 0,6$ sind die Strukturen dagegen größer und asymmetrisch, wobei die Asymmetrie teilweise mittels Justage des Laserstrahls verringert werden kann. Da im Normalfall sowohl τ_p als auch NA vom System vorgegeben sind, zeigt

die n -Änderung wie in **Tab. 2.3** dargestellt eine starke Abhängigkeit von E_p [52].

2.2 Grundprinzip des photonischen Kristalls

In diesem Abschnitt soll lediglich ein Grundverständnis für den photonischen Kristall (PC) geschaffen werden, da eine anwendungsspezifische Erläuterung in **Kap. 4.1** erfolgen wird. Ein PC kann vereinfacht auch als mehrschichtiges System mit periodisch wiederkehrenden Brechungsindizes betrachtet werden, ähnlich einem OFG. Dadurch fungiert er als optischer Spiegel (Bragg-Spiegel), im Falle eines eindimensionalen PC, für f -Werte in einem bestimmten spektralen Bereich. Trifft eine elektromagnetische Welle senkrecht auf einen PC, kommt es u. a. zu Streuprozessen aufgrund von n -Unterschieden (siehe **Kap. A.2**). Wenn λ der Welle um einiges größer ist als die Gitterperiode a_{PC} eines PC, ($\lambda \gg a_{PC}$) verhält sich die Struktur wie ein effektives Medium, sodass für einen PC ein n_{eff} ermittelt werden könnte. Dagegen kommt es für $\lambda \leq a_{PC}$ zu Bragg-Streuungen, die zu konstruktiven Interferenzen von Streuwellen führen können. Ist n zwischen den einzelnen dielektrischen Medien groß genug ($n_1/n_2 \neq 1$) entsteht eine photonische Bandlücke. Unter einer photonischen Bandlücke versteht man einen spektralen Bereich, in der die Lichtausbreitung verboten ist. Die Größe ist dabei abhängig vom n -Unterschied, analog zu Bandlücken zwischen Valenz- und Leitungsbändern in Gitterstrukturen von Metallen, Halb- und Nichtmetallen. Die Ursache für eine photonische Bandlücke sind Bragg-Reflexionen:

$$m\lambda = 2a_{PC}, \text{ mit } \sin\theta = 90^\circ. \quad (2.18)$$

D. h. für den Fall, dass λ ein ganzzahliges Vielfaches von a_{PC} ist, kommt es zu konstruktiven Interferenzen der reflektierenden elektromagnetischen Wellen an der Grenzfläche, wodurch sich stehende Wellen ausbilden. Für die Positionen der Schwingungsbäuche gibt es nun zwei Möglichkeiten. Zum einen können diese im Bereich mit niedrigeren n liegen bzw. zum anderen im Bereich mit höheren n . Die Folge daraus ist, dass sich unterschiedliche f -Bereiche der stehenden Welle ausbilden, eine mit höherer f -Werten im Gebiet mit dem kleineren n und eine mit kleinerer f -Werten im Bereich mit größeren n . Es entsteht also ein f -Bereich dazwischen ohne Lichtausbreitung, die photonische Bandlücke. Eine Ausbreitung innerhalb einer Bandlücke erfolgt nur über ein evaneszentes Feld. Die Größe des Elementradiuses (r_{PC}) hat einen Einfluss auf die Transmissions- und Reflexionseigenschaften vom PC, weshalb eine Variation des Verhältnisses zwischen a_{PC} und r_{PC} die Interferenzeigenschaften beeinflusst. Dadurch ist es möglich, die spektrale

2.2 Grundprinzip des photonischen Kristalls

Position der Bandlücke über a_{PC} und r_{PC} zu definieren (**Abb. 2.11**). PC werden über die Anzahl an Raumrichtungen, in welche die periodischen n -Modulationen vorhanden sind, unterteilt in eindimensionale (1-D), zweidimensionale (2-D) oder dreidimensionale PC (**Abb. 2.11b - d**) [60]. So können PC sowohl als schmalbandige Filter, die alle Moden in der Bandlücke ausschließen, als auch als Hohlraumresonatoren mit reflektierenden Wänden für Moden innerhalb der photonischen Bandlücke fungieren. Wird die perfekte periodische Struktur zerstört, beispielsweise wenn zwei periodische Systeme nebeneinander in Ausbreitungsrichtung angeordnet sind, entsteht eine Defektstelle. Die Defektstelle

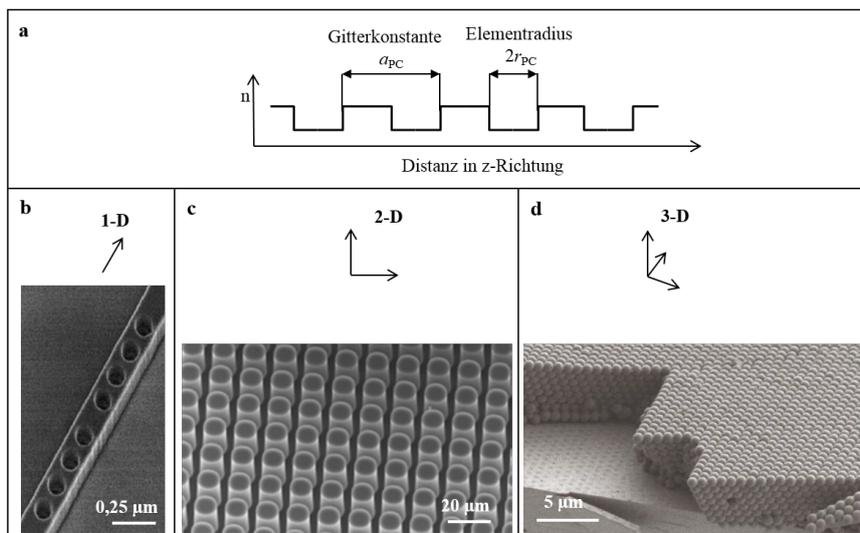


Abbildung 2.11: (a) n -Profil eines photonischen Kristalls (PC) in einer Dimension, hier in z -Richtung, (1D). Charakteristische PC-Größen sind seine Gitterperiode a_{PC} und sein Elementradius r_{PC} . Diese beiden Konstanten bestimmen die Bandlücke im PC, in der die Lichtausbreitung verboten ist, verändert nach [17]. PC können auch als periodische n -Modulationen in mehreren Richtungen bestehen (2D bzw. 3D). (b) Rasterelektronenmikroskopische (SEM) Aufnahme eines 1-D PC mit zentraler Defektstelle, verändert nach [61]. (c) SEM-Aufnahme eines 2-D PC mit Säulenstruktur, verändert nach [62]. (d) SEM-Aufnahme eines 3-D PC auf einer Si-Unterlage mit „Opalstruktur“, verändert nach [63]

sorgt dann dafür, dass sich bestimmte Moden innerhalb der Bandlücke ausbreiten können. Des Weiteren fungieren dann die beiden umgebenden perfekt periodischen Systeme als optische Spiegel, sodass das Licht innerhalb der Bandlücke gefangen ist. Die Größe der Defektstelle bestimmt, welche f -Werte „gefangen“ werden. Mit steigender Defektstellengröße werden die f -Werte kleiner [60].

Ein weiterer Parameter ist der Qualitätsfaktor (Q_{τ}). Der Qualitätsfaktor, kurz Q-Faktor, ist ein „Güteparameter“ der Resonatorstruktur, da dieser quasi die Umläufe der Photonen im Resonator angibt. Der Q-Faktor ist daher proportional zur Lebenszeit der Photonen (τ_{P}) in der Mikrokavität bei einer Frequenz ω mit $Q_{\tau} = \omega\tau_{\text{P}}$ und wird gegeben

durch:

$$\frac{1}{Q_{\tau}} = \frac{1}{Q_{\text{R}}} + \frac{1}{Q_{\text{i}}}, \quad (2.19)$$

wobei Q_{R} und Q_{i} für den Strahlungsverlust vom Hohlraum zum Wellenleiter bzw. den Eigenverlust von Strahlung an die Umgebung stehen. Ein höherer Q-Faktor impliziert daher, dass das Licht länger im Resonator „gefangen“ ist, sodass es somit auch länger mit dem möglicherweise vorhandenen Analyten interagieren könnte [64].

2.3 Biologische Komponenten

In diesem Abschnitt werden die wesentlichen Punkte der verwendeten biologischen Komponenten kurz erläutert. Es wird dabei versucht, speziell auf die in dieser Arbeit relevanten Punkte einzugehen. Wie in **Kap. 1** bereits erwähnt, bilden die biologischen Komponenten einen der drei Segmente eines Biosensors. Das Zusammenspiel zwischen molekularer Erkennungseinheit und Analyten ist von entscheidender Bedeutung für die Wirkungsweise eines Biosensors. Hier sollen zum einen die verwendeten Aptamere als Erkennungseinheit im Vergleich zu den weitverbreiteten Antikörpern (AK) beschrieben werden. Außerdem wird der verwendete Analyt, das C-reaktive Protein (CRP), beschrieben.

2.3.1 Erkennungseinheiten

Aptamere sind seit Anfang der 90er Jahren des letzten Jahrhundert bekannt [65, 66]. Seitdem sind sie in vielen Studien als Erkennungseinheiten in Biosensoren verwendet worden, da sie gegenüber herkömmlichen AK mehrere Vorteile besitzen [67–69]. Um die Aptamere mit AK vergleichen zu können, erfolgt zunächst ein kleiner Abschnitt, der AK beschreibt, sowie deren Produktion u. a. für die Forschung und mögliche Positionen nach erfolgter Immobilisierung an einer Oberfläche darlegt. Anschließend wird die Herstellung von Aptameren mittels SELEX-Verfahren erklärt und einige Vor- bzw. Nachteile gegenüber AK benannt.

2.3.1.1 Antikörper

AK gehören zu den Immunglobulinen (Ig), bei denen es wiederum fünf Untergruppen gibt, wobei das am häufigst auftretende das IgG ist. Das IgG besitzt z.B. eine Molmasse von $M = 150.000 \text{ g/mol}$ (150 kDa). AK werden als Bestandteil des Immunabwehrsystems von den B-Lymphozyten gebildet und freigesetzt, wobei AK selbst nicht antimikrobiell sind. AK besitzen hauptsächlich eine Y-förmige Struktur, die aus vier Glycoproteinen bestehen. Glycoproteine sind Proteine, die jeweils mindestens ein Kohlenhydrat enthalten (**Abb. 2.12a**). Diese Struktur setzt sich aus jeweils zwei leichten Ketten mit rund 212 Aminosäuren (AS) und zwei schweren Ketten mit rund 450 AS zusammen. Die Ketten werden dabei untereinander mit Disulfidbrücken miteinander verbunden. Die spezifischen Bindungsstellen zum Antigen befinden sich im F_{ab} -Fragment (*antigen binding*), das auch als Paratop bezeichnet wird. Dieses Fragment entspricht dem Abschnitt der langen Ketten, an denen die leichten Ketten gebunden sind (**Abb. 2.12a**). Die Kopplung zum Antigen erfolgt über das „Schlüssel-Schloß-Prinzip“. Der andere Abschnitt der langen Ketten wird F_c -Fragment (*crystallizable*) genannt, an dem u. a. die Bindung zu einer Oberfläche erfolgen kann [70, 71]. Da AK aus vielen AS bestehen, besitzen AK mehrere termina-

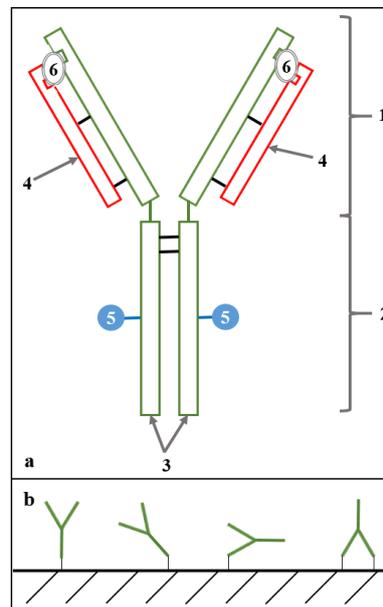


Abbildung 2.12: (a) Die Abbildung zeigt eine schematische Darstellung eines Antikörpers, hier von Immunglobulin G (IgG) mit **1:** F_{ab} -Fragment; **2:** F_c -Fragment; **3:** schwere Ketten (grün); **4:** leichte Ketten (rot); **5:** Oligosaccharid; **6:** Antigenbindungsstelle, das Paratop, arbeitend nach dem „Schlüssel-Schloß-Prinzip“. Die Grafik wurde verändert nach [71]. (b) Die Abbildung zeigt mögliche Positionen eines auf einer Oberfläche immobilisierten Antikörpers, verändert nach [72, 73].

le funktionelle Gruppen wie z. B. $-NH_2$, $-SH$ oder $-COOH$. Aus diesem Grund kann die Orientierung nach der Immobilisierung von AK zu AK variieren (**Abb. 2.12b**). In der Summe verringert sich deshalb oft die AK-Funktionalität u. a. aufgrund von sterischer Hinderung, wenn beispielsweise das Paratop nicht mehr frei zugänglich ist [72, 73].

Seit G. Köhler und C. Milstein 1975 die Hybridomtechnik entwickelten [74], sind monoklonare AK auch in ausreichender Menge in der Forschung verfügbar. Unter monoklonaren AK versteht man AK, die nur von einer produzierenden Zelle abstammen. Zu Beginn der Hybridomtechnik erfolgt eine Immunisierung von Mäusen mit dem gewünschten Antigen, sodass diese dann spezifische B-Lymphozyten produzieren. B-Lymphozyten haben dabei nur eine begrenzte Lebensdauer. Nach der Produktion erfolgt im Organismus eine Differenzierung der Zellen zu Plasmazellen, die AK abgeben, und zu Gedächtniszellen, das sind Zellen, die den Abgabeprozess „überleben“. Im nächsten Schritt erfolgt eine zweite Immunisierung, bei der anschließend die Milz entnommen wird, um im folgenden die AK-produzierenden Zellen zu isolieren. Danach werden die isolierten Zellen mit Myelom-Zellen, das sind Tumorzellen der B-Lymphozyten, fusioniert. Myelom-Zellen können selber keine AK produzieren, besitzen aber ein unbegrenztes Wachstum. Die so entstandenen Zellen, sogenannte Hybridomzellen, können nun Antikörper herstellen und sich unbegrenzt vermehren. Da u. a. auch B-Lymphozyten entnommen werden, die andere spezifische AK produzieren können, ist die Ausbeute an speziellen Hybridomzellen gering. Aus diesem Grund werden diese Zellen dann mehrfach vereinzelt, vermehrt bzw. geklont und dann selektiert. Solche Hybridome werden monoklonare AK genannt. Die vermehrte Produktion solcher AK kann am Ende entweder *in vitro* in Bioreaktoren oder *in vivo* durch die Erzeugung von Aszites-Flüssigkeit, einer krankhaften Wasseransammlung im Bauchraum, in Mäusen erfolgen [70, 75].

2.3.1.2 Aptamere

Aptamere sind Oligonukleotide aus einzel- oder doppelsträngigen DNS- bzw. RNS-Sequenzen, die ebenfalls spezifisch an andere biologische Systeme binden können. Aptamere werden im Gegensatz zu AK ohne Verwendung von tierischen Organismen künstlich in dem sogenannten SELEX-Verfahren synthetisiert (**Abb. 2.13**). SELEX steht für systematische Entwicklung von Liganden durch exponentielle Anreicherung (*Systematic Evolution of Ligands by **Ex**ponential enrichment*). Dabei handelt es sich um einen *in vitro* Prozess [68]. In diesem Verfahren werden die Aptamere mit einer hohen Bindungsaffinität für die Zielmoleküle, ähnlich dem eines AK, und speziellen Anforderungen hergestellt. Eine Mischung aus synthetisch hergestellten Oligonukleotiden ($N = 10^{15} - 10^{16}$) mit verschiedenen Nukleotidsequenzen wird zusammen mit dem Zielmolekül inkubiert. Es entsteht ein Gemisch aus mit dem Zielmolekül gebundenen und ungebundenen Oligonukleotiden, wobei diese danach voneinander getrennt werden. Die gebundenen Oligonukleotide werden durch Elution wieder vom Zielmolekül getrennt und mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR, *polymerase chain reaction*) vermehrt. Anschließend werden diese Schritte mehr-

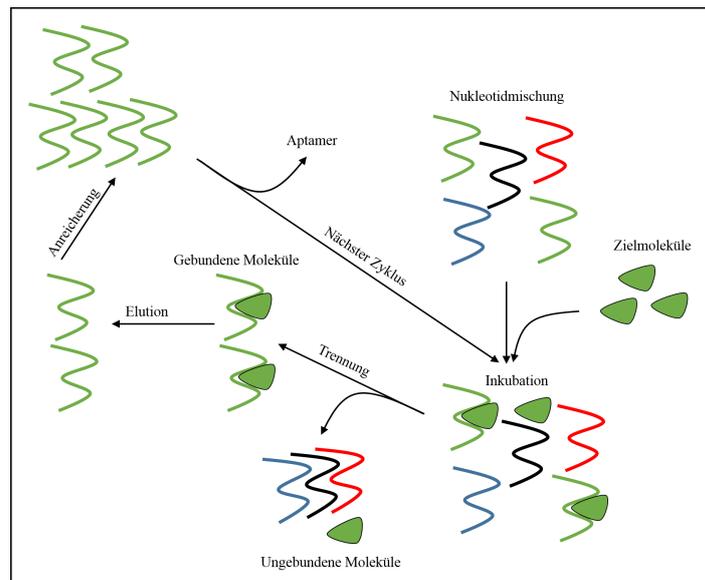


Abbildung 2.13: Die Abbildung zeigt eine schematische Darstellung des SELEX-Verfahrens zur Herstellung von Aptameren, verändert nach [76]. Eine Mischung von $N = 10^{15} - 10^{16}$ verschiedenen Nucleinsäuren werden zusammen mit dem Zielmolekül inkubiert. Anschließend werden die gebundenen und ungebundenen Verbindungen voneinander getrennt. Im Folgenden Schritt werden die gebundenen Verbindungen durch Elution wieder in Nucleinsäure und Zielmolekül getrennt. Danach werden die spezifischen Nucleinsäuren mittels PCR vervielfacht. Nach mehreren Zyklen werden die DNS-/RNS-Moleküle mit hoher Bindungsaffinitäten sequenziert und werden dann als Aptamere bezeichnet, verändert nach [76].

fach wiederholt. Das Ziel dieser Mehrfachselektion ist das Finden von Oligonukleotiden mit höherer Bindungsaffinität (**Abb. 2.13**). Vorteile der Aptamere gegenüber AK sind u. a. das Aptamere im Vergleich zu AK kleinere Moleküle sind, sodass sie leichter zu synthetisieren und chemisch zu modifizieren sind, d. h. es ist einfacher z. B. eine Änderung der funktionellen Gruppe von einer Amino- zu einer Thiolgruppe zu realisieren [68, 77, 78]. Des Weiteren sind Aptamere in einem breiteren Temperatur- ($\vartheta \approx 0-90^\circ\text{C}$) und pH -Wert-Bereich ($\text{pH} \approx 4-10$) funktionstüchtig. Aptamere können regeneriert werden, d. h. das Trennen von Aptamer und Analyt, meist einem Protein, kann anders als bei AK bei höheren Temperaturen ($\vartheta > 40^\circ\text{C}$) oder sauren pH -Werten ($\text{pH} < 6-7$) erfolgen, ohne dass sie zerstört werden. Nichtsdestotrotz haben auch Aptamere einige Nachteile. Da Aptamere spezifisch für einzelne Zielmoleküle synthetisiert werden, kann es sowohl Aptamere mit verschiedenen Nukleotidsequenzen als auch mit diversen funktionellen Gruppen geben. In der Folge können auch die Reaktionsbedingungen voneinander abweichen, sodass es sein kann, dass die benötigten Bedingungen für eine positive Aptamernutzung erst experimentell herausgefunden werden müssen. Des Weiteren ist der Erhalt von Aptameren im Vergleich zu AK begrenzt. Während AK standardisiert bei diversen Händlern erhältlich sind, werden Aptamere speziell für den Verbraucher synthetisiert, wobei es eine größere Variation an SELEX-Verfahren gibt [68], sodass es keine bis kaum Langzeitstudien über das Verhalten des speziellen Aptamers gibt.

2.3.2 CRP

CRP ist ein bekannter, unspezifischer Biomarker für den Menschen in Fällen von Infektionen und Entzündungen [79]. Der Name basiert auf der Entdeckung von W. S. Tillett et al. von 1930 [80]. Damals fand man eine Substanz bei Patienten im Blut, die unter Pneumokokken-Pneumonia (Lungenentzündung) litten. Die Substanz führte zu einem Niederschlag in Anwesenheit eines kapselförmigen (*capsular*) Polysaccharides vom Auslöser der Lungenentzündung *Streptococcus pneumoniae* [81].

CRP ist ein Akut-Phasen-Protein im Blut, d. h. die Konzentration des Proteins erfährt infolge der Immunreaktion des Körpers eine Änderung. So gibt es bei diesem Protein zunächst einen schnellen Konzentrationsanstieg [82], der innerhalb der ersten 48 Stunden nach Beginn der Immunreaktion um bis zu drei Größenordnungen ansteigen kann [81, 82]. Danach folgt wiederum ein schneller Abfall der CRP-Konzentration im Blut [83, 84]. Die normale Konzentration an CRP im Blut liegt im Bereich von $\gamma_{\text{CRP}} \approx 10 \text{ mg/L}$ [81, 85]. Die Dimension des Anstieges ist davon auch abhängig, ob es sich um eine bak-

terielle oder um eine virale Infektion handelt. Die bakterielle verursacht einen größeren CRP-Konzentrationsanstieg [85]. CRP existiert normalerweise in einer pentamerischen Form, die sich aus fünf CRP-Monomeren bestehend aus 206 AS zu einer donutartigen Struktur in Gegenwart von Ca^{2+} -Ionen organisieren [86].

Aufgrund des rasanten Konzentrationsanstieges im Blut im Krankheitsfall bedarf es einer schnellen und günstigen Methode CRP nachzuweisen. Des Weiteren muss die Messmethode in der Lage sein CRP im Blut in Anwesenheit von vielen anderen Plasmaproteinen, die ebenfalls teilweise als Biomarker fungieren können [87], zuverlässig zu bestimmen. Des Weiteren muss anhand der gemessenen Konzentration entschieden werden, ob es sich um eine bakterielle oder virale Infektion handelt, welche unterschiedlich behandelt werden. In Arztpraxen können Ärzte u. a. CRP halbquantitativ mit einem immunchromatografischen Test (CrP-Test[®] von heart tec GmbH), der auf zwei spezifischen AK basiert, in Blutproben nachweisen.

3 Materialien und Methoden

3.1 Verwendete Materialien und Reagenzien

Alle in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien, deren Funktion, ihre Hersteller, ihre Reinheit und ihre Lagerung sind in **Tab. 3.1** und aufgeführt.

Tabelle 3.1: Liste der verwendeten Chemikalien

Substanz	Funktion	Bezugsquelle	Reinheit	Lagerung
APTES	Silanisierungsmittel	Merck	≥ 98%	+5 °C
CaCl ₂ × 2H ₂ O	Messsalz, Salz im Puffer	Roth	≥ 99%	RT
CRP1A-SH	Erkennungseinheit (Aptamer)	Metabion	0,1 nM/μL	≤-30°C
HAc	Säuerungsmittel	Roth	100%	RT
EtOH	Lösungsmittel	Roth	abs., ≥ 99,8%	RT
HF	Ätzmittel	AppliChem	40%	RT
GOPTS	Silanisierungsmittel	Sigma-Aldrich	≥ 98%	RT, dunkel
Glyzerin	Pufferzusatz	Sigma-Aldrich	≥ 99,5%	RT
H ₂ O ₂	Reinigungsmittel	Sigma-Aldrich	30%	RT
Harnstoff	Störfaktor	Sigma-Aldrich	≥ 99,5%	RT
Humanes CRP	Analytsubstanz	BioCat	1 mg/mL	+5°C
CRP-abgereichertes humanes Plasma	Störfaktor	Dunn	–	-20°C
Immersionsöl	Mikroskopie	ApplChem	≥ 99%	RT
Isopropanol	Reinigungsmittel	Roth	absolut	RT
KCL	Salz im Puffer	Roth	≥ 99,5%	RT
KOH-Plättchen	Neutralisierungsmittel	Sigma-Aldrich	90%	RT
L-Ascorbinsäure	Störfaktor	Roth	≥ 99%	RT
L-Cystein	Deaktivierungsmittel	Sigma-Aldrich	≥ 98,5%	RT
MES	Salz im Puffer	Roth	≥ 99,7%	RT

...Fortsetzung auf nächster Seite

3.1 Verwendete Materialien und Reagenzien

Fortsetzung mit der Liste der verwendeten Chemikalien

Substanz	Funktion	Bezugsquelle	Reinheit	Lagerung
MgCl ₂ × 6H ₂ O	Salz im Puffer	Roth	≥ 99%	RT
MPTES	Silanisierungsmittel	Sigma-Aldrich	≥ 80%	+5°C
Na ₂ CO ₃	Neutralisationsmittel	Roth	≥ 99%	RT
NaCl	Salz im Puffer	Roth	≥ 99,9%	RT
NaOH, c = 0,1 N	pH-Wert-Einstellung	Roth	–	RT
NaOH, c = 1 N	pH-Wert-Einstellung	VWR Chemicals	–	RT
PBS	Puffer	Sigma-Aldrich	0,1 M	RT
HCl, c = 1 N	pH-Wert-Einstellung	Roth	–	RT
H ₂ SO ₄	Reinigungsmittel	Roth	96%	RT
SDS	Salz im Puffer	Roth	≥ 99%	RT
SiO ₂ :Au-NP	Faseraktivierung	Nanospectra	2 × 10 ⁹ /mL	+5°C
TAE	Puffer	Sigma-Aldrich	10 x	RT
TCEP	Reduktionsmittel	Sigma-Aldrich	≥ 98%	+5°C
Tris-THAM	Salz im Puffer	Roth	≥ 99,7%	RT

Die standardmäßig verwendeten SMF (Corning SMF-28e⁺ Optical Fiber) wurden von Corning Optical Communications GmbH & Co.KG (Berlin) erworben. Das CRP-spezifische, aus einem DNS-Einzelstrang bestehende Aptamer (CRP1A-SH), mit einer Thiolgruppe am 3'-Ende wurde synthetisiert von Metabion (Planegg), mittels HPLC gereinigt und geliefert mit einer Konzentration von c = 100 µM in zweifach destilliertem Wasser. Die Nukleinbasensequenz dieses Aptamers lautete: 5'-CCC CCG CGG GTC GGC TTG CCG TTC CGT TCG GCG CTT CCC CTT TTT TTT T-C6-SH-3' [88]. Die Molmasse bei diesem 49nt großen Aptamer ist $M = 15.191$ Da. Die Nanopartikel (SiO₂:Au-NP) wurden von Nanospectra Biosciences Inc. (Houston, Texas, USA) hergestellt und ohne Stabilisatoren in destilliertem Wasser mit einer Partikelkonzentration von 2 × 10⁹ Partikel/mL geliefert. Das CRP-abgereicherte humane Plasma mit ≤ 3% der normal im Serum vorhandenen Konzentration wurde von Innovative Research (Novi, Michigan, USA) gewonnen und durch Dunn Labortechnik GmbH (Asbach) vertrieben.

3.2 Probenvorbereitung

3.2.1 Faserätzen

Die HF-Lösungen, $w(\text{HF}) = 20\%$ und $w(\text{HF}) = 40\%$, wurden von den Laborassistenten der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Wilke (Mineralogie, Inst. f. Erd- und Umweltwissenschaften, Universität Potsdam) bereitgestellt und auch später nach zweimaliger Verwendung fachgerecht entsorgt. Die zur Neutralisation der HF-Rückstände verwendete wässrige KOH-Lösung, $c = 2 \text{ M}$, wurde vor Ort hergestellt und für weitere Verwendung dort sicher gelagert. Die CaCl_2 -Lösungen, die der Bestimmung der eFBG-Sensitivität (S_{eFBG}) dienen, wurden nach **Tab. 3.2** in zweifach destilliertem Wasser hergestellt.

Tabelle 3.2: Angaben der Massenanteile, Stoffmengenkonzentrationen, Molenbrüche sowie n_{CaCl_2} der standardmäßig verwendeten CaCl_2 -Lösungen im Bereich von 0% bis 40%, in H_2O , nach [89].

Massenanteil (w) in %	7	14	22	28	34	40
c in mol/L	0,667	1,413	2,374	3,179	4,062	5,030
χ^1	0,012	0,026	0,044	0,059	0,077	0,098
n	1,3500	1,3677	1,3895	1,4066	1,4242	1,4420

¹ berechnet aus den jeweiligen Massenanteilen

3.2.2 Lösungen zur Oberflächenreinigung und Biofunktionalisierung der Fasern

Die Präparierung der Fasern bis hin zur Verwendung als Biosensor umfasste mehrere Schritte. Die dafür verwendeten Lösungen sind in **Tab. 3.3** dargestellt. Die Wasser-Ethanol-Lösung wurde für ein bis zwei Ansätze verwendet, während die übrigen Lösungen aus **Tab. 3.3** frisch bzw. wöchentlich neu hergestellt worden sind. Bei den Silanisierungs- und Aptamerlösungen wurden zunächst die Lösungsmittel mit den angegebenen pH -Werten hergestellt und anschließend wurden die jeweiligen endgültigen Lösungen für die Silanisierungen bzw. für die Anlagerung der Aptamere zusammengegeben. Das Ethanol-Wasser-Gemisch wurde mit HAc , $w(\text{HAc}) = 100\%$, hergestellt, während bei den anderen Lösungen jeweils nur NaOH bzw. HCl verwendet worden ist. Für die Aptameranlagerung wurden verschiedene Prozeduren angewandt. Für die Anlagerung an die Goldpartikel wur-

de der TAE-Puffer (10x) 1:10 verdünnt mit 0,2% SDS versetzt und auf $pH = 3$ eingestellt. Für die Aptamerbindung an die terminalen Epoxid-Gruppen der funktionalisierten Fasern diente eine wässrige basische Lösung ($pH \approx 8$) als Lösungsmittel. Bei den Lösungen für die Aptamere wurden zur Beseitigung etwaiger vorhandener Disulfidbrücken zwischen den Aptameren je Ansatz eine Spatelspitze des Reduktionsmittels TCEP hinzugeben. Bei längerer Lagerung könnten sich Disulfidbrücken bilden, sodass diese Aptamere sich nicht mehr an der Faseroberfläche anlagern lassen würden. Die H_2SO_4 -, H_2O_2 - und Carosche Säurereste wurden mittels einer gesättigten Na_2CO_3 -Lösung neutralisiert. Die Reste der silanhaltigen und ethanolischen Lösungen wurden im Abfall für halogenfreie organische Lösungsmittel entsorgt. Die wässrigen Abfälle, die Aptamere und Proteine enthielten, wurden in einem Behälter für wässrige Abfälle mit biologischen Rückständen entsorgt.

Tabelle 3.3: Herstellung der benötigten Lösungen für die Reinigung und für die einzelnen Biofunktionalisierungsschritte

Substanz	Zusammensetzung	LM	Quelle
<i>Carosche Säure:</i>			[90] [91]
H_2SO_4	67% (v/v)	-	
H_2O_2	33% (v/v)	-	
EtOH + H_2O	95% und 5% (v/v) $pH = 4,9$	-	
<i>Silanisierungslösungen</i>			[92]
APTES-Lösung	5% (v/v)	EtOH + H_2O	
MPTES-Lösung	5% (v/v)	EtOH + H_2O	
GOPTS-Lösung	2,5% (v/v)	EtOH + H_2O	
Gold-Lösung	1×10^9 Partikel/mL	H_2O	[93]
H_2O	$pH \approx 8$	-	
TAE (1x)	$pH = 3$ 0,2% SDS	H_2O	[94] [95]
<i>Aptamer-Lösungen</i>			
CRP 1A-SH	1 μ M	a.) TAE b.) H_2O	[92] [96]
L-Cystein	50 mM	PBS	[92]

3.2.3 Herstellung der Analyt-Konzentrationsreihen

Der Erhalt der Aptamer-Funktionalität während der Messung bedarf einiger Zusätze im physiologischen Puffer. Aus diesem Grund konnte kein reines PBS verwendet werden. Für die Konzentrationsreihen wurde ein spezieller Aptamerpuffer verwendet. Der in der Literatur beschriebene Puffer [97] wurde aber noch leicht modifiziert. Zunächst wurde wie in **Tab. 3.4** beschrieben ein zweifach konzentrierter Aptamerpuffer hergestellt. Im Anschluss wurde daraus ein Teil entnommen und mit Glycerin versetzt, sodass ein Glycerin-Aptamerpuffer entstand. Dieser Puffer enthielt nun die standardmäßigen Salzkonzentrationen [97] und Glycerin mit einem Massenanteil von $w(\text{Glycerin}) = 50\%$.

Tabelle 3.4: Zusammensetzung des verwendeten zweifachen Aptamerpuffers

Substanz	c in mM
$\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	2
KCl	10
$\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	2
NaCl	280
Tris-THAM	40
pH (HCl)	7,4

Glycerin wurde hinzugesetzt, um n der Messlösung künstlich anzuheben, ohne dabei die Biofunktionalität zu beeinflussen. Es wurde nur eine 1:1-Mischung gewählt, um die Viskosität des Puffers nicht dramatisch zu erhöhen. Bei diesem Massenanteil sollte eine Viskosität von $\eta \approx 6 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ vorliegen [89]. Es resultierte daraus ein Anstieg von n auf $n = 1,400 \pm 0,005$, welcher stichprobenartig vermessen worden ist ($N = 5$). Das Verdünnungsschema für die Messungen der verschiedenen Analytkonzentrationen ist in **Tab. 3.5** dargestellt. Bei den CRP-Messungen dienten die Konzentrationen $\gamma_{\text{CRP}} = 10^0 \text{ mg/L}$ (Probe E) und $\gamma_{\text{CRP}} = 3 \cdot 10^{-1} \text{ mg/L}$ (Probe F) als Ausgangskonzentrationen. Diese wurden aus vorherigen Experimenten mit einfach konzentriertem Aptamerpuffer, wie er in [97] beschrieben ist, hergestellt. Höher konzentrierte CRP-Proben ($\gamma_{\text{CRP}} > 10^0 \text{ mg/L}$) standen zum damaligen Zeitpunkt, d. h. für die ersten erfolgreichen Messungen, nicht zur Verfügung. Als Folge konnten die Verdünnungen $\gamma_{\text{CRP}} = 10^{-1} - 3 \cdot 10^{-3} \text{ mg/L}$ (Proben G bis J) nicht vermessen werden, da die Brechungsindizes zu stark vom Zielbrechungsindex abwichen. Spätere Messungen wurden trotz vorhandener höher konzentrierter Lösungen auch

3.2 Probenvorbereitung

nur bis zu einer Konzentration von $\gamma_{\text{CRP}} = 10^{-1}$ mg/L vermessen.

Tabelle 3.5: Verdünnungsschemata zur Herstellung der verwendeten Probenlösungen für die einzelnen Konzentrationsreihen.

V_{Verd} in μL	verwendete Probe	V_{Puffer} in μL	γ_{Verd} in mg/L	resultierende Probe
11	Stamm	99	10^2	A
6	Stamm	194	$3 \cdot 10^1$	B
20	A	180	10^1	C
20	B	180	$3 \cdot 10^0$	D
20	C	180	10^0	E
20	D	180	$3 \cdot 10^{-1}$	F
20	E	180	10^{-1}	G
20	F	180	$3 \cdot 10^{-2}$	H
20	G	180	10^{-2}	I
20	H	180	$3 \cdot 10^{-3}$	J
20	I	180	10^{-3}	23
20	J	180	$3 \cdot 10^{-4}$	22
20	23	180	10^{-4}	21
24	22	216	$3 \cdot 10^{-5}$	20
24	21	216	10^{-5}	19
40	20	160	$6 \cdot 10^{-6}$	18
20	20	180	$3 \cdot 10^{-6}$	17
40	19	160	$2 \cdot 10^{-6}$	16
20	19	180	10^{-6}	15
20	18	180	$6 \cdot 10^{-7}$	14
20	17	180	$3 \cdot 10^{-7}$	13
20	16	180	$2 \cdot 10^{-7}$	12
20	15	180	10^{-7}	11
20	14	180	$6 \cdot 10^{-8}$	10
20	13	180	$3 \cdot 10^{-8}$	9
20	12	180	$2 \cdot 10^{-8}$	8
20	11	180	10^{-8}	7
20	9	180	$3 \cdot 10^{-9}$	6
20	7	180	10^{-9}	5
20	6	180	$3 \cdot 10^{-10}$	4

...Fortsetzung auf nächster Seite

Fortsetzung der Verdünnungsschemata zur Herstellung der verwendeten Probenlösungen für die einzelnen Konzentrationsreihen.

V_{Verd} in μL	verwendete Probe	V_{Puffer} in μL	γ_{Verd} in mg/L	resultierende Probe
20	5	180	10^{-10}	3
20	3	180	10^{-11}	2
–	–	180	0	1

Eine Lagerung von glyzerinhaltigen Puffern von mehr als sieben Tagen wurde vermieden, da bei Glycerin der Fall eintreten konnte, dass sich der pH -Wert in den sauren Bereich verringert und/oder dass es zu Verunreinigungen durch Bildung von Mikroorganismen kommen könnte. Aus diesen Gründen wurde der glyzerinhaltige Puffer wöchentlich für die Messreihen frisch angesetzt. Die Messungen der Konzentrationsreihen der mit $\text{SiO}_2\text{:Au-NP}$ behandelten Fasern erfolgte zeitlich vor den Messungen mit den GOPTS-funktionalisierten Fasern. Zu diesem Zeitpunkt wurden die Messprozeduren anders durchgeführt. Zum einen wurden die Verdünnungen und Messungen nur mit PBS durchgeführt, was dann bei späteren Messungen in einen einfach konzentrierten Aptamerpuffer (**Tab. 3.4**) ohne Glycerinzusatz verändert worden ist. Zum anderen wurde zu Beginn nur ein Konzentrationsbereich von $\gamma_{\text{CRP}} = 10^2 - 10^{-7}$ mg/L vermessen. Dieser Bereich wurde dann in späteren Versuchen in einen Konzentrationsbereich von $\gamma_{\text{CRP}} = 10^0 - 10^{-11}$ mg/L verändert.

3.3 Methoden

Der Abschnitt befasst sich mit den verwendeten experimentellen Aufbauten und der Beschreibung der Experimente. Für die Entwicklung des auf PC-basierten Sensors ist hier nur die Charakterisierung des durchstimmbaren Lasers (TLS) mit der Beschreibung des experimentellen Aufbaus und der Durchführung erwähnt. Die Entwicklung eines Modelllaufbau ist dagegen in **Kap. 4.2.3** beschrieben. Die restlichen Teilabschnitte dieses Kapitels befassen sich mit der Entwicklung der FBG-Sensoren, wobei mehrere kleinere bzw. ergänzende Experimente in **Kap. 3.3.8** beschrieben werden.

3.3.1 Experimenteller Aufbau zur Charakterisierung des durchstimmbaren Lasers

Für die Bestimmung der Wellenlängengenauigkeit vom TLS (Venturi 6600 Swept-Wavelength Tunable Laser, New Focus, Santa Clara, CA, USA) wurde ein in **Abb. 3.1** gezeigter Aufbau verwendet. Der Laser war in der Lage, Wellenlängen im Bereich von 1475 nm bis 1630 nm in Nanometerschritten mit einem wählbaren Leistungspegel (L_P) zwischen $L_P = 0,0$ dBm - 8,0 dBm durchzustimmen. Als zu detektierendes Gas diente CO_2 mit hoher Reinheit (Kohlenstoffdioxid 4.5 von Praxair). Mit Hilfe des als Detektor verwendeten Oszilloskops wurden Intensitätskurven aufgenommen, welche nach einer Synchronisation des Lasers mit dem Oszilloskop (100 MHz Zweikanal Digitalspeicheroszilloskop TDS1012/A1 inkl. Speichermodul TDS2MEM; Tektronik UK Ltd.; Bracknell; Vereinigtes Königreich von Großbritannien) für einen bestimmten Wellenlängenbereich einem Absorptionsspektrum glichen. Für die Bestimmung des TLS-Intensitätsausstoßes wurde der Laser mittels einer optischen Faser mit einem Intensitätsmessgerät verbunden.

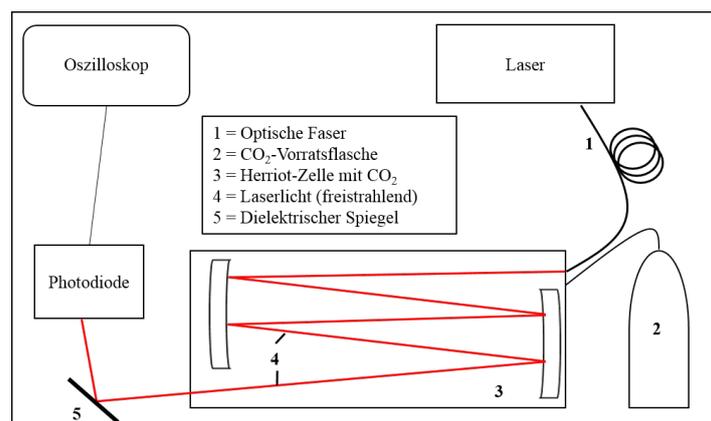


Abbildung 3.1: Experimenteller Aufbau zur Aufnahme eines Absorptionsspektrums bei Verwendung eines durchstimmbaren Lasers und einer Herriot-Zelle. Das Licht des Lasers wird in eine Herriot-Zelle geführt. Die Zelle wurde währenddessen mit CO_2 befüllt. Das transmittierte Licht wurde anschließend zu einer Photodiode geführt.

3.3.2 Charakterisierung des durchstimmbaren Lasers

Die TLS-Charakterisierung wurde in Zusammenarbeit mit innoFSPEC Potsdam durchgeführt und diente der Verwendbarkeit des Lasers als Lichtquelle für den PC-basierten Biosensor. innoFSPEC Potsdam ist eine gemeinschaftliche Einrichtung des Leibniz Instituts für Astrophysik Potsdam (AIP) und der Physikalischen Chemie der Universität Potsdam. Im Rahmen dieser Charakterisierung wurde die Wellenlängengenauigkeit mittels Gassensorik getestet. Dabei wurde das gemessene CO₂-Spektrum mit dem CO₂-Spektrum aus der HITRAN-Datenbank (*high-resolution transmission molecular absorption database*; Harvard-Smithsonian Center for Astrophysics, Cambridge, MA, USA)[98] qualitativ und quantitativ miteinander verglichen. Mit Hilfe dieser Datenbank wurde unter Verwendung definierter Parameter ($T = 296 \text{ K}$, eine optische Länge der Herriott-Zelle von $\Delta x = 30 \text{ m}$ und einen Wellenlängenbereich von $\lambda = 1559 \text{ nm} - 1643 \text{ nm}$) ein Absorptionsspektrum simuliert. Des Weiteren wurden die Laser-Intensitäten mit einem fasergekoppelten Messgerät bestimmt. Die Intensitätskontrolle wurde in einem spektralen Bereich von $\lambda = 1520 \text{ nm} - 1630 \text{ nm}$ ($N = 11$) bei verschiedenen L_p -Werten im Bereich von $L_p = 0,0 \text{ dBm} - 8,0 \text{ dBm}$ ($N = 5$) durchgeführt, sodass insgesamt 55 Messwerte aufgenommen worden sind. L_p entsprechen einer Ausgangsleistung des Lasers (P_{av}) von $P_{av} = 1,00 \text{ mW} - 6,31 \text{ mW}$. Die Daten wurden mit Origin ausgewertet.

3.3.3 Schreiben der FBGs

FBG wurden mit Hilfe der ULI-Technik hergestellt. Der experimentelle Aufbau zum FBG-Schreiben ist in **Abb. 3.2** gezeigt. Das Lasersystem bestand aus einem kommerziell erhältlichen MaiTai-Laser und einem Spitfire ACE Verstärkersystem (Newport Spectra-Physics, Darmstadt). Der *fs*-Laser emittierte Pulse von $\tau_p = 40 \text{ fs}$ bei einer Wellenlänge von $\lambda_p = (800 \pm 20) \text{ nm}$, mit P_{av} von $P_{av} \approx 10 \text{ W}$ und einer f_{rep} von $f_{rep} = 1 \text{ kHz}$. Das entsprach einem E_p von $E_p \approx 10 \text{ mJ}$. Der Laserstrahl wurde über dielektrische Spiegel, Leistungsdämpfer und mit Hilfe eines Objektivs (LDA-Plan, 40x Luft Objektiv, $NA = 0,55$) in den Faserkern einer SMF fokussiert, ohne dass dabei die Polymerschicht der Faser vorher entfernt werden musste. E_p des Laserstrahles wurde durch Verwendung eines optischen Filterrades und durch die Drosselung von f_{rep} auf $f_{rep} = 100 \text{ Hz}$ so eingestellt, dass hinter dem Objektiv eine Energie von $E_p \approx 1 \mu\text{J}$ vorlag. Um eine hohe Positionsgenauigkeit während des Schreibprozesses zu gewährleisten, wurde die optische Faser auf einem dreiaxigen Verschiebetisch XMS50 (Newport, Darmstadt) platziert. Die Platzierung erfolgte, indem

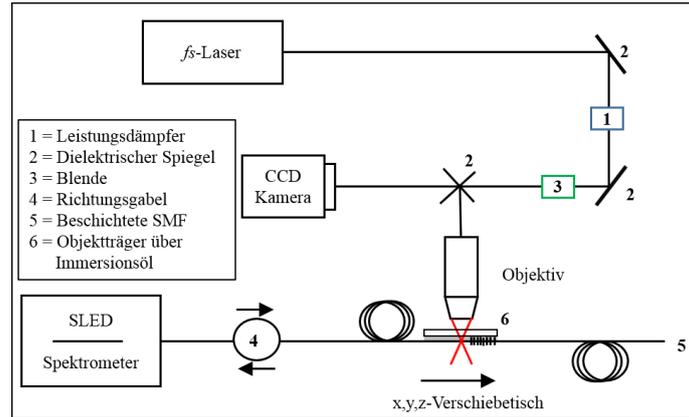


Abbildung 3.2: Experimenteller Aufbau zum FBG-Schreiben mit der ULI-Technik. Die Grafik zeigt eine veränderte Darstellung von [99]

die Faser zwischen zwei leicht beweglichen Metallschienen eingelegt wurde und anschließend mit zwei Magneten festgehalten wurde. Zusätzlich wurde die Faser in Immersionsöl eingetauscht und von einem Objektträger (Roth) bedeckt. Dies diente der Vermeidung von zylindrischen Linseneffekten wie beispielsweise Streueffekte. Diese Effekte würden bei der Oberflächenkrümmung der Faser auftreten und dadurch die Fokussierung des Laserstrahles beim Schreibprozess verschlechtern [100]. Eine optische Lochblende (SH05; Thorlabs, München) wurde zur Kontrolle der Bestrahlungszeit verwendet. Der Faserschreibprozess wurde mit der Fibre-Bragg-Software (Faserstand 1.4, MIOPAS) durchgeführt. Im Programm wurden die jeweiligen Start- und Endpositionen des Gitters in x,y,z -Richtung festgelegt, sowie die gewünschte Bragg-Wellenlänge ($\lambda_{B,soll}$). Die aus $\lambda_{B,soll}$ resultierenden v_t -Werte und maximale Anzahl an Gitterpunkten sind in **Tab. 3.6** aufgeführt und konnten auch nicht manuell verändert werden. Eine Betrachtung der spektralen Abweichung der geschriebenen Signalposition im Spektrum ($\lambda_{B,ist}$) zur gewünschten bzw. festgelegten spektralen Position ($\lambda_{B,soll}$) erfolgt in **Kap. 4.4.1**. Als Distanz zwischen dem Start- und Endpunkt wurde stets 3 mm gewählt. Der Schreibprozess wurde erst bei Erreichen eines konstanten v_t der Faser mit dem Verschiebetisch durchgeführt und letztlich gestoppt durch das Öffnen bzw. Schließen der elektronisch angesteuerten Lochblende, wenn ein vorher definiertes Λ_{FBG} von $\Lambda_{FBG} \approx 2,7$ mm oder eine maximale Reflektivität von $\approx 80\%$ erreicht worden ist. Die Diskrepanz zwischen eingestellten Λ_{FBG} von 3 mm und tatsächlichen von rund 2,7 mm war dadurch erklärbar, dass sich die Lochblende erst elektronisch öffnete, wenn v_t konstant war, wobei der Beschleunigungsweg in festgelegten Λ_{FBG} mit enthalten war. Die Faser wurde während des Schreibens simultan von einer CCD Kamera (DMK 72AUC02, the Image Source, Bremen) gefilmt und mittels der Software IC-Capture (The Image Source, Bremen) beobachtet. Eine fasergekoppelte Breitband-SLED

Tabelle 3.6: Auflistung der Parameter v_t und maximale Anzahl (N) an Gitterpunkten aus den jeweils festgelegten $\lambda_{B,soll}$ -Werten.

$\lambda_{B,soll}$ in nm	v_t in mm/s	N
1565	0,108244	2732
1560	0,107898	2740
1555	0,107552	2749
1550	0,107206	2758
1545	0,106861	2767
1540	0,106515	2777
1535	0,106169	2786
1530	0,105823	2795

(MIOPAS GmbH, Goslar) wurde verwendet, um die Reflektivität in Echtzeit während des Schreibprozesses zu messen. Die SLED hatte eine zentrale Emissionswellenlänge von $\lambda_{sp}=1550$ nm bei einer 5 dB Bandbreite von ungefähr 50 nm. In der SLED war ein Spektrometer integriert, welches eine Auflösung von $\Delta\lambda_{sp}=0,18$ nm besaß. Das emittierende Licht der SLED und das zum Spektrometer reflektierende Licht konnten über den ebenfalls integrierten Zirkulator (Richtungsgabel) parallel angezeigt bzw. detektiert werden. Im Programm war es möglich, den Schreibprozess abubrechen. Ein Schreibabbruch wurde gewählt, wenn die gewünschten bzw. maximalen Reflektivitäten erreicht worden waren. Eine Beschreibung der erreichten Intensität des Signals im Spektrum (Reflektivität) in Abhängigkeit der geschriebenen Gitterpunkte, d. h. in Relation zu Λ_{FBG} , ist in **Kap. 4.4.1** zu finden. Die Reflektivität des Referenzgitters wurde nur auf etwa 50% des Messgitters gewählt, da in späteren Bearbeitungsschritten die Reflektivitäten der Messgitter sanken und man dadurch immer noch ein gutes SNR hatte. Des Weiteren wurde der Schreibprozess abgebrochen, wenn die Reflektivitäten nicht mehr anstiegen. In diesen Fällen verbreiterte sich lediglich das Signal. Zum Schreiben eines zweiten Gitters wurde die Faser manuell per Hand um etwa 5 cm herausgezogen und der Schreibprozess startete bei Verwendung einer anderen kürzeren Schreibwellenlänge von vorn.

3.3.4 Experimentelle Messaufbauten zur Aufnahme von Reflexions- und Transmissionspektren bei der Verwendung von FBG-Fasern

Die experimentellen Aufbauten für die biochemischen Anwendungen waren teilweise identisch mit dem Aufbau zum Schreiben der Fasern (Abb. 3.2) und sind in Abb. 3.3 dargestellt. Die SLED war über eine Faserkopplung mit der Faser verbunden, um die Reflexivitäten zu messen (Abb. 3.3a). Nach Kontakt der Messlösung mit dem geschriebenen FBG am Faserende konnten sowohl $\Delta\lambda_B$ als auch die Änderung der Signalintensität sowie die Änderung der Halbwertsbreite (FWHM) in Echtzeit beobachtet werden. Des Weiteren konnten auch einzelne Reflexionsspektren aufgenommen werden (Abb. 3.3). Die Schritte der Biofunktionalisierung wurden wie das Faserätzen in vertikaler Faserposition durchgeführt (Abb. 3.3a b), während die Detektion der Analyten in horizontaler Faserposition erfolgte (Abb. 3.3c). Die Biofunktionalisierungsschritte wurden in kleinen Reaktionsgefäßen ($V = 2 \text{ mL}$) unter Rühren bei Raumtemperatur durchgeführt und zeitgleich spektral verfolgt. Das Faserätzen dagegen wurde wegen des Bedarfes an größeren Volumina in 15 mL Zentrifugenröhrchen realisiert. Für die Detektion der verschiedenen Konzentrationen wurden FBG mit den Analytlösungen umströmt. Das Umströmen wurde

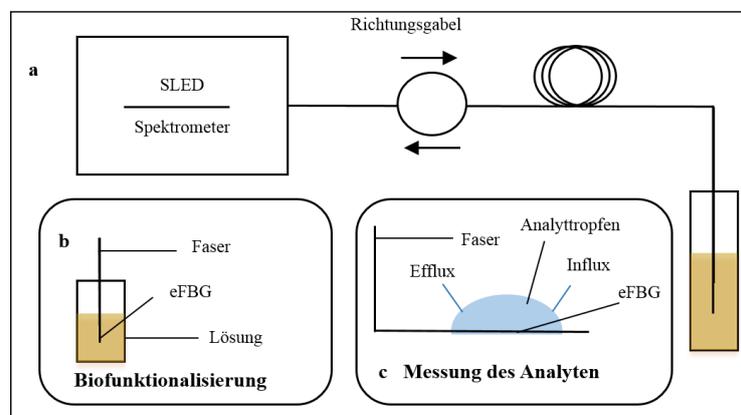


Abbildung 3.3: Experimenteller Aufbau zum Vermessen von $\Delta\lambda_B$ durch die Beeinflussung des äußeren Mediums, nach [101]. Grafik (a) zeigt den generellen experimentellen Aufbau zur gleichzeitigen Aufnahme der Spektren während der Reaktion am Beispiel des Faserätzens. Die SLED emittiert Licht, welches nach der Einkopplung durch den Faserkern geleitet wird und bei bestimmten Wellenlängen an FBG reflektiert wird. Mit Hilfe der integrierten Richtungsgeber wird das Licht dann simultan zum Spektrometer geführt und detektiert. Im Rahmen der Biofunktionalisierung (b) werden kleinere Volumina verwendet, wobei die Faser vertikal in die Lösung eingetaucht wird. Das Probenvolumen strömt für die Detektion des Analyten (c) über einen Influx und Efflux an den in horizontaler Position liegenden Fasern nach einer Inkubationszeit vorbei.

erreicht, indem die Faser in das System einer Perfusionspumpe integriert worden ist. Die Reflexionsspektren wurden standardmäßig mit einem von Dr. Roman Flehr (ehemals Universität Potsdam) geschriebenen und auf Python basierenden Programm analysiert. Das Programm erkannte Reflexionssignale und passte diese dann mit Hilfe eines Gaußalgorithmus an, wodurch $\Delta\lambda_B$ als auch die relative Änderung der Signalamplitude ($\Delta\textit{Intensität}$) und -halbwertsbreite ($\Delta\textit{FWHM}$) zeitnah ermittelt werden konnten. Durch die Aufnahme von mehreren Spektren in einer zeitlichen Abfolge konnten die Änderungen der einzelnen Größen in Abhängigkeit der Zeit dargestellt werden. Das Programm analysierte das erste Spektrum und zeigte dann die Veränderung der analysierten Größen in Relation zum ersten Spektrum an ($\Delta\lambda_B$, $\Delta\textit{Intensität}$ und $\Delta\textit{FWHM}$). Die Anpassungsgenauigkeit der Wellenlängenverschiebung konnte mit einem Wert von $\Delta\lambda_{\text{fit}} = 5 \text{ pm}$ angegeben werden, da es aufgrund u.a. von leichten Vibrationen zu Schwankungen von λ_B , von der Amplitudenhöhe und von FWHM in den Reflexionsspektren kam. Mittelwerte und Standardfehler (SE) wurden bei Wiederholungsmessungen berechnet. Die Berechnungen, grafischen Auswertungen und Darstellungen erfolgten in Origin 2017 (Version 2017 G, Origin Lab Corp., Northampton, USA) bzw. in deren Vorgängerversionen.

Die fasergekoppelte Breitband-SLED von MIOPAS wurde standardmäßig als Lichtquelle und Detektor verwendet. Alternativ wurden teilweise für bestimmte Experimente zwei andere Systeme genutzt. Zum einen wurde für den Vergleich zwischen Reflexionsspektren und Transmissionsspektren der TLS verwendet (**Abb. 3.4**). Zum anderen wurde als Ersatz für die MIOPAS SLED eine zweite SLED mit einem externen Spektrometer verwendet. Der schematische Aufbau bei der Verwendung der zweiten SLED entsprach dem der ersten SLED (**Abb. 3.3**). Der Laser wurde für die Reflexionsmessungen mit einer Richtungsgabel (Notail Circulator F-CIR-15-P-FP, Newport, Irvine, CA, USA) über eine Faser verbunden. An der Richtungsgabel waren außerdem die zu vermessende SMF mit geschriebenen FBG und der fasergekoppelte Detektor verknüpft. So konnten die Signale zeitgleich in die Faser als auch aus der Faser heraus geführt werden. Als Detektor wurde eine Photodiode (FGA01FC InGaAs Photodiode, Thorlabs GmbH, Dachau) verwendet, die in diesem spektralen Bereich sensitiv die optischen Signale in elektrische umwandeln konnte. Das elektrische Signal wurde dann in ein Oszilloskop (Oszilloskop Cleverscope CS300, ALLDAQ, Germering, Deutschland), welches über eine USB-Verbindung mit einem Rechner verbunden war, geführt. Über einen direkten Anschluss konnte das Triggersignal direkt vom TLS ans Oszilloskop weitergegeben werden. Die Aufnahme der Spektren erfolgte in der zum Oszilloskop dazugehörigen Software. Für die Aufnahme von Transmissionsspektren wurde die zu vermessende Faser direkt zwischen TLS und der Photodiode geschaltet, sodass nur das transmittierte Licht zur Photodiode geführt wurde. Die Bestimmung der

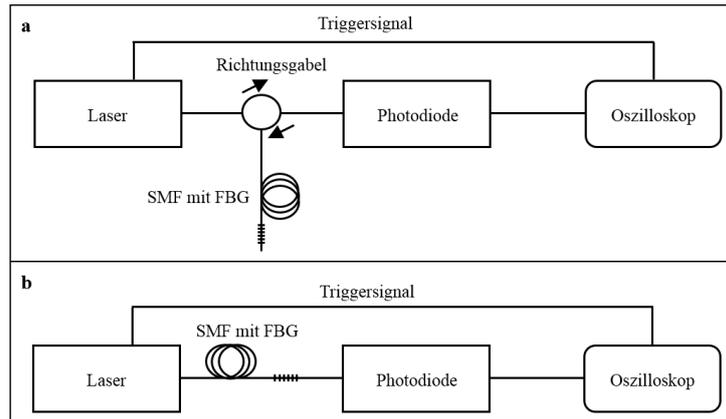


Abbildung 3.4: Experimentelle Anordnungen zur $\Delta\lambda_B$ -Bestimmung von geschriebenen und unbehandelten SMF. Grafik (a) zeigt die schematische Anordnung zur Ermittlung von Reflexionsspektren. Der Laser, hier TLS, ist hierbei über eine SMF mit einer Richtungsgabel verbunden. Die Richtungsgabel ist weiterhin sowohl mit der zu messenden SMF verbunden, als auch über eine weitere Faser mit dem Detektor. Als Detektor dient eine Photodiode. Die Photodiode wandelt das spektrale Signal in ein elektrisches um, welches vom Oszilloskop angezeigt wird. Über einen zweiten Anschluss wird ein Triggersignal vom TLS direkt an das Oszilloskop weitergegeben. Im Gegensatz zur Reflexionsmessung ist bei der Transmissionsmessung (b) eine lineare Anordnung vorhanden. Das Licht wird vom TLS direkt in die zu messende Faser geführt und wandert anschließend zur Photodiode. Nach Umwandlung in ein elektrisches Signal wird es dann wiederum vom Oszilloskop angezeigt. Weiterhin wird auch hier ein Triggersignal direkt vom TLS zum Oszilloskop gegeben.

Signale erfolgte zum einen für die Reflexionsspektren im Python basierten Auswerteprogramm und anschließend in Origin und andererseits im Fall der Transmissionsspektren direkt in Origin. Die TLS-Verwendung eignete sich lediglich für stationäre Messungen und nicht für zeitabhängige Messungen. Nach dem Durchstimmen der Wellenlängen von der niedrigsten zur höchsten gewählten Wellenlänge wird vom TLS Zeit benötigt, bis eine neue Messung gestartet werden konnte, da er erst wieder die Wellenlängen in umgekehrter Reihenfolge abrasterte.

Als Ersatzsystem wurde deshalb eine SLED-Quelle mit einer integrierten optischen Richtungsgabel (SLED Source DL-BP1-1501A, DenseLight Semiconductors PTE. LTD., Singapore) in Kombination mit einem externen Spektrometer (I-MON USB, Ibsen photonics A/S, Ryttermarken, Dänemark) verwendet. Die Aufnahme der zeitabhängigen Spektren und Bestimmung der daraus resultierenden Veränderung von λ_B , Signalamplitude und -halbwertsbreite erfolgte im selben Programm. Das Programm wurde für die vorliegenden Arbeiten von Dr. Roman Flehr optimiert. Die Anpassungen erfolgten ebenfalls mit einem Gaußalgorithmus. Die grafische Auswertung dieser Daten erfolgte wiederum in Origin.

3.3.5 Faserätzen und Messung von eFBG-Sensitivitäten

Die Fasern waren nach dem FBG-Schreiben in die Faser erst nach dem Entfernen des Glasmantels sensitiv gegenüber n_U . Die Entfernung des Glasmantels erfolgte während dieser Arbeit durch das Ätzen mit HF. Die Fasern mussten vor dem Ätzen mit HF vorbereitet werden, dazu wurden zum einen das Faserende mit dem bei einem niedrigeren λ_B reflektierenden Gitter (Referenzgitter) mit einem „Faserpigtail“ unter Mithilfe eines „Splice-Schutzes“ und durch die Verwendung eines Spliceegerätes (S184PM-SLDF FUSION SPLICER, OFS FITEL Deutschland GmbH, Augsburg) miteinander verbunden. Dadurch war es möglich die Reflektivitäten von λ_B relativ ohne Signalverlust ($\leq 0,1$ dBm) zu beobachten. Zum anderen wurde die Polymerschicht um das bei höherem λ_B reflektierende Gitter mittels einer speziellen „Strippzange“ per Hand entfernt, nachdem dieses Faserende bis kurz vor dem Gitter verkürzt worden ist. So war das zu ätzende Faserstück ums FBG am Faserende positioniert. Die Polymerreste im Bereich des nun freigelegten Fasermantels wurden anschließend mit Isopropanol entfernt. Die auf diese Weise präparierten Fasern wurden zu zweit mit Tesafilm auf ein Plastikstäbchen platziert. Diese Stäbchen dienten der Faserstabilität für alle weiteren Schritte bis hin zur Vermessung der verschiedenen Analytkonzentrationen. Des Weiteren minimierten diese die axialen Krafteinwirkungen. Für einen Ätzdurchgang wurden nun vier dieser Sticks gleichzeitig verwendet, sodass insgesamt acht Fasern simultan geätzt werden konnten (**Tab. 3.7**). Dabei wurden vier mittels

Tabelle 3.7: FBG-Positionierung auf den Stäbchen während des Ätzvorganges

Stäbchen	Faser 1		Faser 2	
	in nm	in nm	in nm	in nm
1	1530	1535	1560	1565
2	1540	1545	1550	1555
3	1550	1555	1540	1545
4	1560	1565	1530	1535

Strahlenteiler mit dem Spektrometer verbunden und so konnten insgesamt die Reflektivitäten von acht FBG zeitlich und spektral aufgenommen werden. Die andere Hälfte wurde „blind“ geätzt. Mit Hilfe dieser Aufteilung konnten im weiteren Verlauf der Sensorherstellung bis zu vier Fasern gleichzeitig während eines Schrittes zur Sensorherstellung spektral über die Zeit vermessen werden. Das in dieser Arbeit verwendete Ätzverfahren wurde in drei Abschnitte gegliedert und ist schematisch in **Tab. 3.8** dargestellt. Die Wasch-

Tabelle 3.8: Schritte zur Erlangung von S_{eFBG} gegenüber n_{U} mit Hilfe des dreigliedrigen HF-Ätzverfahrens

1. Ätzen I: in 40%iger HF-Lösung, 45 min bei RT
2. Waschen I: in H_2O ; bei RT
3. Ätzen II: in 20%iger HF-Lösung; ca. 25-30 min bei RT
4. Waschen II: in 2 M KOH-Lösung, dann in H_2O ; bei RT
5. Sensitivitätsmessung: Bestimmung von $\Delta\lambda_{\text{B}}$ in CaCl_2 -Lösungen; bei RT

schritte dienten dem Stoppen der sauren bzw. alkalischen Reaktion. Das Waschen mit der KOH-Lösung diente der Neutralisation der HF-Reste sowohl an der Faser als auch an den Stäbchen. Das Ätzen mit verschiedenen konzentrierten HF-Lösungen wurde gewählt, um zu Beginn ein zügiges Ätzen zu garantieren ($t < 2$ h) und am Ende um einen kontrollierten Stopp zu gewährleisten. Das Ätzen wurde parallel spektral aufgezeichnet und aufgrund einer zeitlichen Diskrepanz zwischen der visuellen Darstellung von $\Delta\lambda_{\text{B}}$ und der tatsächlichen Verschiebung wurde eine halbkonzentrierte Säure verwendet. Der Abbruch des Ätzvorganges wurde durchgeführt, sobald die Wellenlängenverschiebung im Bereich von $\Delta\lambda_{\text{B}} \approx -1,7$ nm vorlag oder die Signalintensitäten sich im Bereich der Intensitäten der Referenzgitter befanden. Es kam aber auch vor, dass der Vorgang abgebrochen werden musste, wenn die Gefahr bestand, dass der zu Beginn gewählte Grenzwert zur Bestimmung von Signalen einen Einfluss auf die Anzahl der Signale im Spektrum hatte. Der Grenzwert wurde zu Beginn auf etwa 15-20% der Intensität des Signales mit der höchsten Intensität festgelegt. Sollte die Intensität eines oder mehrerer Signale sich so stark verändern, dass sich die Anzahl der Signale ändern würde, wurden diese dann schon früher aus der Ätzlösung entfernt. Während des ersten Abschnittes (40%ige HF-Lösung) wurde alle zehn Sekunden ein Spektrum aufgenommen, das dann mit einsekündiger Verzögerung vom geschriebenen Analysenprogramm (**Kap. 3.3.4**) als Änderung von $\Delta\lambda_{\text{B}}$ angezeigt worden ist. Im zweiten Abschnitt (20%ige HF-Lösung) wurde das Zeitintervall für die Aufnahme der Spektren auf drei Sekunden reduziert. Die Veränderungen der Signalintensitäten wurden der Übersicht halber im Originalspektrum (im MIOPAS-Programm) verfolgt.

Die Fasern wurden abschließend zur S_{eFBG} -Bestimmung mit den in **Tab. 3.2** beschriebenen CaCl_2 -Lösungen vermessen. Die n_{CaCl_2} -Werte wurden regelmäßig mit einem Refraktometer (Atago 1211 NAR-1T, Atago, Tokio, Japan) ermittelt. Für die n -Bestimmung in Abhängigkeit von λ (Messung im Bereich von $\lambda = 403 - 938$ nm) wurde ein anderes Refraktometer (digitales Mehrwellenlängenrefraktometer DSR- λ , Schmidt+Haensch GmbH & Co., Berlin) verwendet. Als Messsubstanz wurde CaCl_2 verwendet, da die einzelnen n_{CaCl_2} -Werte tabelliert sind und einen breiten Δn -Bereich abdecken. Des Weiteren er-

reicht die Viskosität in dem verwendeten Konzentrationsbereich nur einen Wert von maximal $\eta \approx 9 \text{ mPa s}$ an, während bei Glycerin zum Beispiel im selben Δn -Bereich ein Wert von $\eta > 40 \text{ mPa s}$ erreicht worden wäre [89]. Aus den ermittelten $\Delta\lambda_B$ -Werten wurde unter Berücksichtigung der gemessenen Brechungsindizes von S_{eFBG} einer einzelnen Faser bestimmt und kann nach **Gl. 3.1** ermittelt werden:

$$S_{\text{eFBG}} = \frac{\Delta\lambda_B}{\Delta n}. \quad (3.1)$$

S_{eFBG} ist dabei definiert als $\Delta\lambda_B$, das durch den Messwert (Δn) gegeben wird [43]. Sie diene der Vergleichbarkeit der einzelnen Fasern untereinander und wurde für die spätere Auswertung mit berücksichtigt.

3.3.6 Ätzzratenbestimmung

Im Rahmen dieses Teilversuches wurde die Rate der Ätzung der 40%igen HF bestimmt. Dieser Versuch gliederte sich in zwei Abschnitte. Zum einen wurden die Fasern unterschiedlich lang geätzt und zum anderen wurden die Faserenden anschließend mikroskopisch vermessen. Die Faservorbereitung und die Ätzprozedur wurden analog zu **Kap. 3.3.5** und Schritt 1 und 2 (**Tab. 3.8**) durchgeführt. Im Unterschied zur normalen Durchführung wurden alle Fasern gleichzeitig in einem großen Vorratsbehälter ($V \approx 500 \text{ mL}$) geätzt. Die Fasern wurden dann zu verschiedenen Zeitpunkten aus der Lösung entfernt ($15 \text{ min} < t < 50 \text{ min}$). Es wurden insgesamt drei Messreihen durchgeführt, wobei die Entnahmen der Fasern zu jeweils unterschiedlichen Zeitpunkten erfolgten. Die mikroskopische Vermessung erfolgte an einem Fluoreszenzmikroskop (Axio Observer Z.1, Zeiss, Jena). Als Anregungsquelle für die Messung diente eine X-cite 120 Quecksilberlampe (x|120PC-XL, EXFO Photonic Solution Inc., Ontario, Kanada). Die X-cite 120 ist eine 120 W Bogenlampe, die durch die Verwendung eines elliptischen Reflektors ein spektral breitbandiges Licht emittiert. Die Vermessung wurde mit einer Belichtungszeit von 500 ms bei einer Lichtintensität der Lampe von 12% und einem Objektiv (Olympus Plan, 40x Luft Objektiv, $NA = 0,65$) durchgeführt. Für die Durchmesserbestimmung wurden vier bis fünf Aufnahmen pro Faser im Bereich des Fasergitters aufgenommen, um daraus die entsprechenden Mittelwerte und SE-Werte zu berechnen. Die Bereiche der Aufnahmen wurden frei gewählt, wobei aber sowohl Bereiche am Beginn und Ende des Gitters als auch solche in der Mitte ausgewählt worden sind, sodass daraus ein mittlerer Durchmesser pro Faser ermittelt werden konnte. Eine Messung ist am Beispiel einer 35 Minuten geätzten Faser in **Abb. 3.5** gezeigt. Es wurden dann vier Messungen in jeder Aufnahme

durchgeführt. Die grafische Auswertung erfolgte in der frei zugänglichen Software ImageJ [102] und Origin.

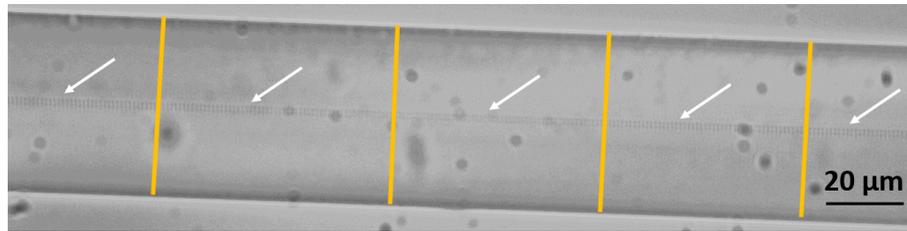


Abbildung 3.5: Die Grafik zeigt ein Beispiel für die Durchmesserbestimmung der teilweise geätzten Fasern (hier nach 35 min in 40%iger HF). An vier Stellen pro Aufnahme wurden Messungen durchgeführt. Die orangen Linien sollen beispielhaft die Messungen demonstrieren. Die weißen Pfeile zeigen die FBG-Struktur auf.

3.3.7 Herstellung des FBG-Biosensors in einer geätzten Faser und Messung eines Analyten

Die Bearbeitung der Fasern zur Realisierung eines FBG-Biosensors in einer geätzten Faser (eFBG-Biosensor) umfasste neben der Faserpräparierung noch mehrere Schritte, die Biofunktionalisierung. Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei verschiedene Systeme zur Funktionalisierung entwickelt. Eine schematische Übersicht der Teilschritte ist in **Abb. 3.6** gezeigt. Die einzelnen Schritte der Biofunktionalisierung sind in **Tab. 3.9** und **Tab. 3.10** dargestellt. Nach dem Ätzen der Fasern als letzten Teilschritt der Faserpräparierung mussten diese von Verunreinigungen wie beispielsweise noch von organischen Resten befreit werden. Diese Reinigung erfolgte zuerst chemisch mit Caroscher Säure und anschließend physikalisch in einem Plasmaofen (Zepto, Diener electronic, Ebhausen, Deutschland) mittels Luftstrom hervorgerufenem Plasma im Vakuum, wobei die physikalische Reinigung nur bei den GOPTS-funktionalisierten Fasern durchgeführt worden ist. Die Teilschritte 3, 5, 7 und 9 aus **Tab. 3.9** bzw. 3, 5 und 7 aus **Tab. 3.10** wurden in 2 mL Reaktionsgefäßen unter Rühren durchgeführt. Die Aptameraktivierungen wurden in 15 mL Zentrifugenröhrchen durchgeführt, die zuerst in ein erwärmtes Wasserbad und dann in ein Eisbad gestellt worden sind. Die funktionalisierten Fasern mit den aktivierten Aptameren wurden maximal drei Stunden bei Raumtemperatur gelagert, bevor das Vermessen der Konzentrationsreihen gestartet worden ist.

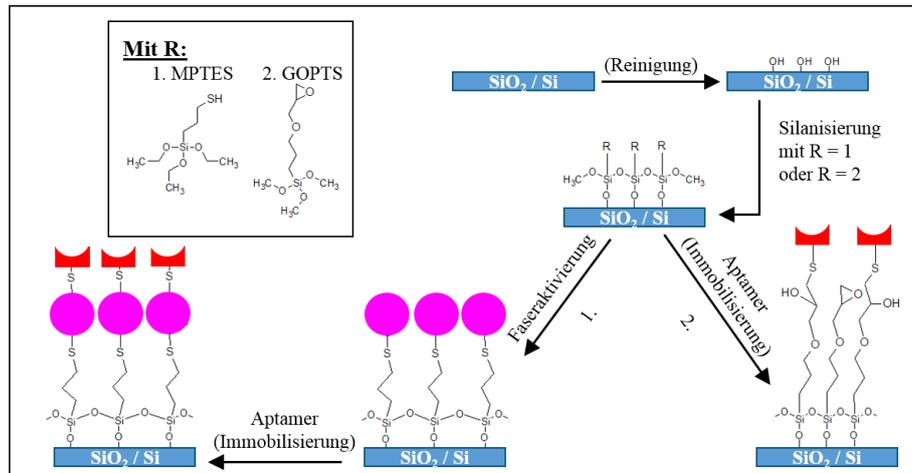


Abbildung 3.6: Grafische Darstellung der Oberflächenfunktionalisierung bzw. Teilschritte der Biofunktionalisierung, verändert nach [92, 103]. Zu Beginn ist die Reinigung gezeigt, bei der die geätzte Faser Oberfläche zunächst gesäubert und hydroxyliert wird. Im Folgenden wird die hydroxylierte Faser silanisiert. Dadurch entstehen Oberflächen mit terminalen Thiolgruppen (1.) bzw. terminalen Epoxidgruppen (2.). Beim Weg 1 (linke Bildhälfte) erfolgt danach die SiO_2 :Au-NP-Anlagerung (violetter Kreis) und dem folgenden Schritt der Aptameranlagerung (rote Zange). Dagegen erfolgt beim Weg 2 (rechte Bildhälfte) direkt die Aptameranlagerung.

Tabelle 3.9: Schritte der Oberflächenbehandlung der Fasern bei der Verwendung von MPTES als Silanisierungsmittel

1. Reinigung I: in Carosche Lösung; über Nacht bei RT
2. Silanisierung: 5% MPTES in EtOH/ H_2O (95:5, v/v), $\text{pH} \approx 4,9$; über Nacht bei RT
3. Waschen: 3×2 mL EtOH/ H_2O (95:5, v/v)
4. Faseraktivierung: 1×10^9 Partikel/mL Gold-Lösung in H_2O ; über Nacht bei RT
5. Waschen: 3×2 mL H_2O
6. Immobilisierung: $2,7 \mu\text{M}$ Aptamerlösung in TAE-Puffer, $\text{pH} = 3$; 3 h bei RT inkubieren, dann 1 h Zugabe von NaCl ($c_{\text{final}} = 750 \mu\text{M}$)
7. Waschen: 3×2 mL TAE-Puffer
8. Aptameraktivierung: 3 min in 90°C Aptamerpuffer (1x); dann 5 min in 0°C Aptamerpuffer (1x)

SiO₂:Au-NP wurden vor der Immobilisierung auf die silanisierte Faser zunächst zehn Minuten bei 3000 rpm (Umdrehungen pro Minute) in ihrer Stammlösung zentrifugiert. Bei späteren Messreihen wurden NP zuvor noch zehn Minuten in einem Ultraschallbad bei 35°C beschallt, um Aggregationen zu vermeiden. Die Immobilisierung der Fasern mit den Aptameren an die mit NP beschichtete Faseroberfläche wurde mit einer Methode durchgeführt, die auf den Arbeiten von C. Heck et al. [94] und X. Zhang et al. [95] basierten. Diese Prozeduren wurden aber nochmals zu der in **Tab. 3.9** beschriebenen Durchführung modifiziert. Für die Bestimmung von $\Delta\lambda_B$ in Abhängigkeit von der Analytkonzentration wurden die Fasern in das in **Abb. 3.3c** gezeigte Messsystem eingebaut. eFBG wurden dabei so auf dem Stäbchen platziert, dass sie sich in einer Vertiefung befanden. Die Vertiefung diente dem Schutz vor Austrocknung während der Messprozedur. Des Weiteren wurde das Stäbchen so platziert, dass eine kleine Schräge vorlag. Die Schräge sorgte dafür, dass die Messflüssigkeit im Bereich um die Vertiefung blieb und sich nicht auf dem kompletten Stäbchen verteilte. Der Influx und der Efflux der Perfusionspumpe wurden positioniert, sodass sich der Flüssigkeitsfilm erst um den Bereich der Vertiefung sammelte, bevor er abgesaugt werden konnte. Die Probenvolumina ($V = 174 - 200 \mu\text{L}$) wurden mit einer Flussrate (v_{Fluss}) von $v_{\text{Fluss}} = 150 \mu\text{L}/\text{mL}$ um den eFBG-Bereich am Faserende herum gefördert. Nach einer Inkubationszeit von zehn Minuten wurden die Faserenden mit 500 μL Puffer gewaschen, wobei v_{Fluss} nicht verändert worden ist. Es wurden pro Konzentration zweimal je zehn Einzelspektren aufgenommen. Die ersten zehn wurden nach der zehnminütigen Inkubation aufgenommen und die zweiten zehn nach dem Spülen mit

Tabelle 3.10: Schritte der Oberflächenbehandlung der Fasern bei der Verwendung von GOPTS als Silanisierungsmittel

1. Reinigung I: in Carosche Lösung; 1 h bei RT
2. Reinigung II: mit Niederdruck Luftplasma; 5 min; bei RT
3. Silanisierung: 2,5% GOPTS in EtOH/H ₂ O (95:5, v/v), pH \approx 4,9; über Nacht im Dunkeln bei RT
4. Waschen: 3×2 mL EtOH/H ₂ O (95:5, v/v)
5. Immobilisierung: c = 1 μM Aptamerlösung in H ₂ O; über Nacht im Dunkeln bei RT
6. Waschen: 3×2 mL H ₂ O
7. Deaktivierung des Epoxids: 2 h in 50 mM Cysteinlösung; bei RT
8. Waschen: 3×2 mL PBS; bei RT
9. Aptameraktivierung: 3 min in 90°C Aptamerpuffer (1x); dann 5 min in 0°C Aptamerpuffer (1x)

dem Puffer. Überschüssiges Volumen wurde dabei abgesaugt ($V > 200 \mu\text{L}$). Die in dieser Arbeit präsentierten Ergebnisse basieren auf den Mittelwerten, die aus den nach dem Spülen aufgenommenen Spektren resultierten. Mittelwerte aus den jeweils ersten zehn Spektren (nach der Inkubation) dienten als Diskussionsgrundlage in **Kap. 3.3.9**. Wie in **Kap. 3.2.3** bereits erwähnt, wurde bei den mit $\text{SiO}_2\text{:Au-NP}$ -behandelten Fasern eine etwas andere Messprozedur verwendet. Die Immobilisierung der verschiedenen Analytkonzentrationen erfolgte zwar zu Beginn der Versuche ebenfalls in horizontaler Position, aber das Spülen mit dem Puffer erfolgte manuell mit einer Pipette und das Vermessen in Puffer wurde dann in vertikaler Position in einem mit Puffer befüllten Zentrifugenröhrchen durchgeführt. Erst in späteren Versuchen wurde die Messprozedur mit der Benutzung einer Perfusionspumpe verändert.

3.3.8 Kontrollexperimente für die eFBG-Biosensoren

3.3.8.1 Visuelle Begutachtung der *fs*-geschriebenen FBG

Die visuelle Betrachtung der Gitter wurde durchgeführt, um eine Aussage über die Einheitlichkeit von Λ_{FBG} treffen zu können. FBG in Fasern, überwiegend geschrieben an verschiedenen Tagen über einen Zeitraum von elf Monaten, wurden dabei stichprobenartig untersucht. Zusätzlich wurden auch Fasern verwendet, die an gleichen Tagen geschrieben wurden, aber die unterschiedlich reflektierende λ_{B} -Werte enthielten. Diese Fasern wurden an dem in **Kap. 3.3.6** beschriebenen Fluoreszenzmikroskop untersucht, wobei dieses Mal ein Objektiv mit größerer Auflösung (alpha plan Fluar, 100x Immersionsöl-Objektiv, $NA = 1,45$) verwendet worden ist. Es wurden drei Bilder pro Gitterstruktur im Hellfeld-

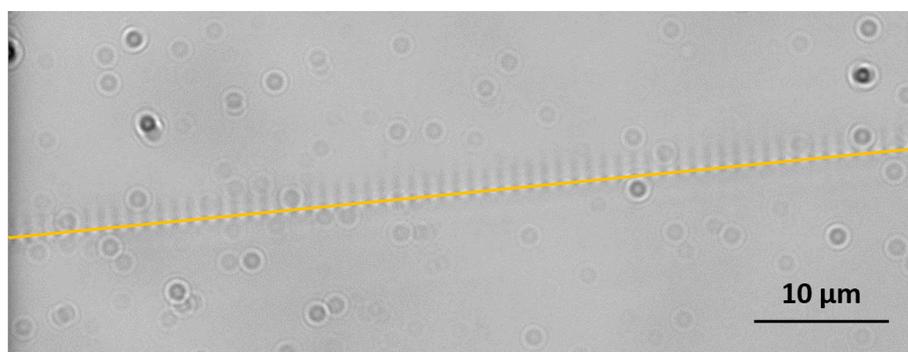


Abbildung 3.7: Die Grafik zeigt ein Beispiel für die optische Begutachtung der Gitterstrukturen am Mikroskop. Die orangene Linie demonstriert beispielhaft die Position für die Messung des Linienintensitätsprofils eines Gitterabschnittes, hier eines mittleren Segmentes.

modus aufgenommen. Bei den Bildern handelte es sich um Aufnahmen der jeweiligen Start- und Endsektion und um eine Aufnahme aus dem mittleren Segment. Zunächst erfolgte eine grafische Auswertung in ImageJ. Für den Vergleich der Gitterstrukturen wurden Linienintensitätsprofile der Gittersegmente, wie in **Abb. 3.7**, aufgenommen. Die aufgenommenen Intensitätsprofile wurden anschließend in Origin übertragen, wo die mathematische und grafische Darstellung erfolgte. Die Bereiche der Gitterstrukturen wurden dabei mit Hilfe einer Sinusfunktion angepasst:

$$y = y_0 + A \cdot \sin\left(\frac{\pi(x - x_c)}{\omega}\right), \quad (3.2)$$

mit A der Profilamplitude, wobei nur Werte für $A > 0$ angepasst worden sind. Des Weiteren ist y_0 die mittlere Intensität der periodischen Struktur, x_c die Phasenverschiebung und ω die Periode. Für die Auswertung wurde die Periode verwendet, da sie ein Maß für die Regelmäßigkeit der Gitterstruktur ist.

3.3.8.2 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der mit MPTES modifizierten Fasern

Die Überprüfung der Faser-Funktionalisierung mit $\text{SiO}_2\text{:Au-NP}$ wurde mit einem Rasterelektronenmikroskop (engl., *scanning electron microscope*, SEM) (QuantaTM 250, FEI, ThermoFischer) durchgeführt. Dafür wurden Faserenden mit vorhandenen eFBG nach der Anlagerung der Aptamere bzw. nach der Messung der verschiedenen CRP-Konzentrationen verwendet. Fasern, die nicht vermessen wurden, beispielsweise da ihre $S_{\text{eFBG}} \leq 3 \text{ nm/RIU}$ war (siehe **Kap. 4.4.3**), wurden trotzdem funktionalisiert, aber nicht für die CRP-Reihe verwendet. Die Faserspitzen wurden vorsichtig auf die einzelnen Probenhalter platziert und vermessen. Es wurde im Hochvakuum bei $p_{\text{SEM}} \approx 2 \cdot 10^{-4} \text{ Pa}$ gearbeitet. Die Beschleunigungsspannung betrug bei den einzelnen Aufnahmen $U = 10,00 \text{ kV}$ bei Arbeitsabständen im Bereich von $\text{WD} = 5,5\text{-}18,1 \text{ mm}$ und Vergrößerungen um das 25 bis 20000 fache. Als Detektor diente ein Everhart-Thornley-Sekundärelektronendetektor.

3.3.8.3 Überprüfung der Faserfunktionalisierung mit GOPTS

Das Überprüfen der erfolgreichen Funktionalisierung an der Faser bei der Verwendung von GOPTS und dem CRP-spezifischen Aptamer wurde mit Hilfe eines mikroskopischen Fluoreszenzimmunoassays auf Deckgläschen (Carl-Roth) durchgeführt. Für dieses Experiment wurden drei verschiedene Assays entwickelt. Die einzelnen Teilschritte sind in **Tab. 3.11** aufgelistet. Mit diesem Experiment sollte zum einen untersucht werden, ob dieses System der Funktionalisierung an einer SiO₂-Oberfläche erfolgreich realisiert werden kann (Probe B). Zum anderen sollte getestet werden, ob mit einer unspezifischen Bindung des Analyten, hier CRP, gerechnet werden muss (Probe A). Der dritte Assay diente der Überprüfung sonstiger unspezifischer Bindungen, beispielsweise zwischen den

Tabelle 3.11: Schritte der Entwicklung eines Fluoreszenzimmunoassay auf Objektträgern bei der Verwendung von GOPTS als Silanisierungsmittel

Schritte	Probe A	Probe B	Probe C
1. Reinigung I:	in Aceton; 10 min bei RT; Luft trocknen		
2. Reinigung II:	in 1 N HCL; 30 min bei RT; waschen in H ₂ O; Luft trocknen		
3. Reinigung III:	mit Niedrigdruck Luftplasma; 5 min; bei RT		
4. Silanisierung: (G)	2,5% GOPTS in EtOH/H ₂ O (95:5, v/v), pH ≈ 4,9; über Nacht im Dunkeln bei RT		
5. Waschen:	3 × 2 mL EtOH/H ₂ O (95:5, v/v)		
6. Immobilisierung I: (Apt)		Aptamerlösung, c = 1 μM in H ₂ O; über Nacht im Dunkeln bei RT	
7. Waschen:		3 × 2 mL H ₂ O	
8. Deaktivierung des Epoxids:	2 h in 50 mM L-Cysteinlösung; bei RT		
9. Waschen:	3 × 2 mL PBS; bei RT		
10. Aptameraktivierung:	3 min in 90°C Aptamerpuffer (1x); dann 5 min in 0°C Aptamerpuffer (1x)		
11. Analyt: (CRP)	CRP in Aptamerpuffer (1x), c = 2,61 · 10 ⁻⁷ M; 10 min; bei RT		
12. Waschen:	in Aptamerpuffer (1x), bei RT		
13. Immobilisierung II: (AptCy5)	Cy5-verknüpftes CRP-Aptamer in Aptamerpuffer (1x); 1 h; bei RT		
14. Waschen:	in Aptamerpuffer (1x); bei RT		

beiden Aptameren (Probe C). Bei der Probe A wurde der Teilschritt der ersten Immobilisierung weggelassen. Während bei der Probe B alle Schritte durchgeführt worden sind, ist bei der Probe C der Teilschritt der Analytimmobilisierung nicht vorhanden. Auf jedem Deckgläschen wurden zwei Bereiche funktionalisiert, sodass am Ende jede Probe (A - C) auf insgesamt jeweils vier Bereichen (je zwei Deckgläschen) vorhanden war. Die Aufnahme der Fluoreszenzbilder wurde am in **Kap. 3.3.6** beschriebenen Aufbau durchgeführt. Da nur mit einer relativ geringen Fluoreszenzintensität zu rechnen war, wurde die Belichtungsintensität der Lampe und Belichtungszeit der Aufnahme auf 100% bzw. $t = 100$ ms gestellt. Des Weiteren wurde ein am Mikroskop vorhandenes Filtersystem verwendet. Das System enthielt einen Anregungsfilter (BP 640/30 nm), einen Strahlenteiler (647 nm) und einen Emissionsfilter (BP 700/75 nm). Das Filtersystem sorgte dafür, dass das Anregungslicht zur Probe und anschließend nur das emittierte Licht zum Detektor gelangen konnte. Es wurden dann jeweils Aufnahmen an verschiedenen Positionen der Proben aufgenommen ($N = 16$). Die grafische Auswertung der Aufnahmen wurde mit QuickPALM (QuickPALM-beta version 1.1.1), welches als Zusatzprogramm in ImageJ verwendet werden kann, durchgeführt. QuickPALM wurde von R. Henriques et al. [104] entwickelt. Da hier keine Rekonstruktion einer Bilderserie erfolgen sollte, sondern nur eine Partikeldetektion in einer Einzelaufnahme, wurden nur zwei der möglichen Parameter für die Detektion gewählt. Das war zum einen ein SNR mit $\text{SNR} = 1,2$ und zum anderen ein maximales FWHM mit $\text{FWHM} = 4$ Pixeln. Ein SNR-Wert von 1,2 wurde gewählt, da sich die minimalen und maximalen Intensitäten teilweise nur um 50 a.u. unterschieden. Für die Auswertung wurden dann nur die akzeptierten Partikel weiterverwendet. Die Auswertung und grafische Darstellung erfolgte wiederum in Origin. Eine Diskussion über den Einfluss einiger Parameter auf die Rekonstruktion von Fluoreszenzaufnahmen ist in Kap. 4.3.5 von [105] beschrieben.

3.3.8.4 Validierung des GOPTS-basierten eFBG-Biosensors

Als Messmethode zur Erprobung des eFBG-Biosensorkonzepts wurde die Detektion von CRP an CRP-spezifischen Aptameren getestet. Neben der CRP-Messung mit dem GOPTS-funktionalisierten eFBG-Sensor in reinem Puffer wurden im Rahmen einer Validierung verschiedene Systeme eingesetzt, um die Stabilität dieser Messmethode für dieses Sensorsystem zu testen. Eine Zusammenfassung der einzelnen Systeme ist in **Tab. 3.12** dargestellt. Beim System I handelte es sich um die Messreihe aus **Kap. 3.2.3**, in der der Puffer keine störenden Zusatzstoffe enthielt. Für das System II wurde analog zur

Tabelle 3.12: Auflistung der Systeme zur Methodenvalidierung des auf GOPTS-basierten eFBG-Biosensors.

Systemnummer	Kurzbeschreibung
II	ohne Erkennungseinheit
III	Puffer inkl. Harnstoff und L-Ascorbinsäure als Störsubstanzen
IV	Puffer inkl. CRP-abgereicherte humanes Plasma

normalen Messung verfahren, wobei bei der Faserfunktionalisierung der Schritt der Aptameranlagerung weggelassen worden ist. Für das System III wurde zunächst eine Lösung hergestellt, die je eine Massenkonzentration von $\gamma = 3,6 \text{ g/L}$ der Störsubstanz im zweifach konzentrierten Aptamerpuffer beinhaltete. Anschließend wurde daraus dann ein Glycerin-Aptamerpuffer hergestellt, der zum einen einen Massenanteil von $w(\text{Glycerin}) = 50\%$ und zum anderen die Massenkonzentrationen von je $\gamma = 1,8 \text{ g/L}$ an Störsubstanz enthielt. Die Konzentrationsreihen wurden dann in diesem modifizierten Glycerin-Aptamerpuffer hergestellt. Beim System IV wurde das CRP-abgereicherte humane Plasma um den Faktor $1:10^{-11}$ mit dem normalen Glycerin-Aptamerpuffer verdünnt. So lag lediglich eine CRP-Konzentration ($\gamma_{\text{CRP}} \approx 6 \cdot 10^{-12} \text{ mg/L}$) im Puffer vor, die im Bereich der kleinsten vermessenen Konzentration ($\gamma_{\text{CRP}} \approx 1 \cdot 10^{-11} \text{ mg/L}$) lag. Es wurde dabei vom Maximalwert einer normalen CRP-Konzentration eines gesunden Spenders ($\gamma_{\text{CRP}} \approx 5\text{-}20 \text{ mg/L}$) und einem maximalen Gehalt von 3% im Serum ausgegangen. Die CRP-Messungen erfolgten dann

Tabelle 3.13: Verdünnungsschemata zur Herstellung des im System IV verwendeten serumhaltigen Puffers.

V_{Verd} in μL	verwendete Probe	V_{Puffer} in μL	γ_{Verd} in mg/L	resultierende Probe
50	Serum	450	$6 \cdot 10^{-2}$	A
50	A	450	$6 \cdot 10^{-3}$	B
50	B	450	$6 \cdot 10^{-4}$	C
50	C	450	$6 \cdot 10^{-5}$	D
50	D	450	$6 \cdot 10^{-6}$	E
50	E	450	$6 \cdot 10^{-7}$	F
50	F	450	$6 \cdot 10^{-8}$	G
50	G	450	$6 \cdot 10^{-9}$	H
50	H	450	$6 \cdot 10^{-10}$	I
350	I	34.650	$6 \cdot 10^{-12}$	serumhaltiger Puffer

mit diesem serumhaltigen Puffer. Das Verdünnungsschema zum Erhalt des serumhaltigen Puffers ist in **Tab. 3.13** dargestellt. Es bedurfte einer größeren Menge an serumhaltigem Puffer, da wie auch in den anderen Systemen mit dem jeweiligen Puffer zum einen die einzelnen Proben hergestellt worden sind und zum anderen, da in Vorbereitung auf die Messung und zum Spülen des Sensors nach erfolgter Probeninkubation der jeweilige Puffer ebenfalls verwendet worden ist. Im Endeffekt wurde für jede Messreihe ein Puffervolumen von ungefähr $V \approx 35$ mL benötigt.

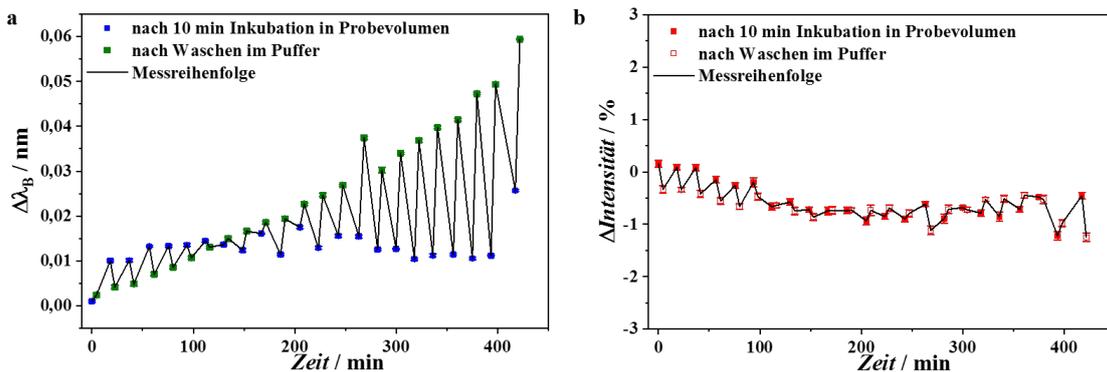
3.3.9 Messoptimierungen bei den eFBG-Sensoren

Im Rahmen der einzelnen Experimente vom Ätzen bis hin zur Auswertung der eFBG-basierten Sensoren kam es zu Problemen, die auf unterschiedliche Weise versucht wurden zu optimieren bzw. zu korrigieren. Die wesentlichen Problemfragen, die während der Messungen auftraten und für die Vergleichbarkeit der einzelnen Ergebnisse nötig waren, sollen in diesem Abschnitt besprochen werden.

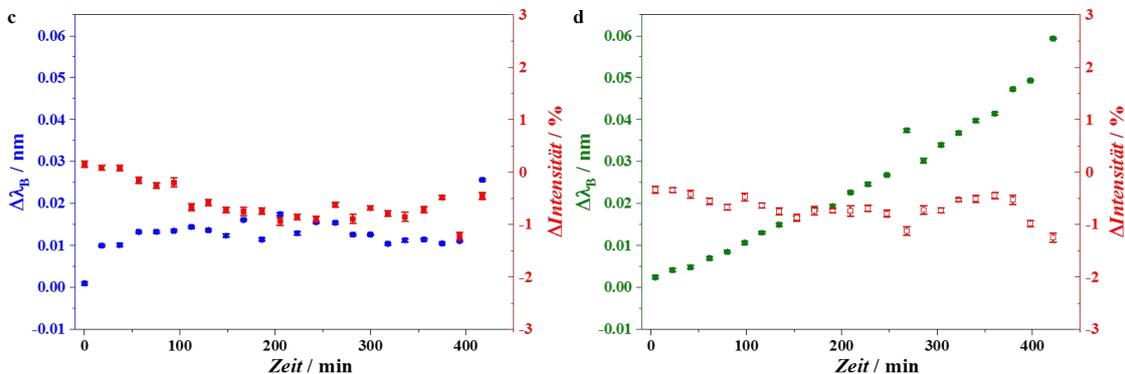
3.3.9.1 Messeinflüsse und Korrekturen

In diesem Abschnitt werden die Beobachtungen und die Korrekturen beschrieben, die den Zeitpunkt der Messung im Probentropfen und nach dem Waschen betreffen, die sich auf die unterschiedliche Verschiebung zwischen der reinen Pufferprobe und der Probe mit der geringsten Analytkonzentration beziehen und die durch den Einfluss von Biegeeffekten auftreten. Wie in **Abb. 3.8** zu erkennen ist, gab es große Unterschiede zwischen den Zeitpunkten der Messungen. Zur Erklärung muss man wissen, dass der experimentelle Aufbau (**Abb. 3.3c**) für jeden Messtag, d. h. für die simultane Vermessung von ein bis zwei Fasern, neu aufgebaut werden musste. Dabei wurden die Stäbchen mit den Fasern so platziert, dass eine Schräge vorlag bei der die Faserspitzen mit dem biofunktionalisierten Areal im unteren Bereich des Stäbchens lagen. Das System mit der Perfusionspumpe wurde nun so arrangiert, dass die Flüssigkeit vom Influx an der Faser herab floss und anschließend anstieg bis es wieder vom Efflux entfernt worden ist. Es wurde versucht, dass auf dem Stäbchen ein Flüssigkeitsfilm von etwa $V \approx 160$ μ L vorrätig war. Nach der zehnmütigen Inkubation der Faser im Probenvolumen wurden $V = 500$ μ L Puffer gespült, wobei weiterhin überschüssiges Volumen entfernt worden ist, sodass man davon ausgehen kann, dass am Ende fast ausschließlich nur noch Puffer um den Bereich der Faserspitzen vorlag. Die-

ses Volumen wurde anschließend nach der zweiten Messung mit Hilfe von Papiertüchern bis auf einen kleinen Flüssigkeitsfilm um die Faserspitzen herum fast vollständig abgesaugt. Innerhalb der Messreihe wurde nun beobachtet, dass sich der Flüssigkeitsfilm beim Befüllen mit dem Probenvolumen unterschiedlich aufbaute, aufgrund dessen sich höchstwahrscheinlich kein kontinuierliches $\Delta\lambda_B$ über die Zeit entwickeln konnte (**Abb. 3.8c**). Die Intensität der Signale blieb währenddessen relativ konstant und änderte sich, wenn überhaupt, dann nur geringfügig. Durch das Spülen mit dem größeren Volumen lag am



Die Abbildungen zeigen die Rohdaten aller Spektren in Abhängigkeit der Zeit einer Messreihe von (a) $\Delta\lambda_B$ und (b) $\Delta\text{Intensität}$.



Die Abbildungen stellen die aus a und b extrahierten Werte in Abhängigkeit des Messzeitpunktes von (c) $\Delta\lambda_B$ und $\Delta\text{Intensität}$ nach zehnminütiger Inkubation im Probevolumen und (d) $\Delta\lambda_B$ und $\Delta\text{Intensität}$ nach dem Waschen im Puffer dar.

Abbildung 3.8: Die Abbildungen zeigen eine komplette Darstellung von $\Delta\lambda_B$ über die Messzeit, wobei bei jeder Konzentration jeweils zu zwei verschiedenen Zeitpunkten Spektren ($N = 10$) aufgenommen worden sind. Zum einen wurden nach zehnminütiger Inkubation im Probevolumen Spektren aufgenommen und zum anderen nach dem Waschen mit dem Puffer. Die blauen und grünen Quadrate stellen $\Delta\lambda_B$ bei Messungen im Probevolumen bzw. nach dem Waschen dar. Die relativen Intensitätsänderungen ($\Delta\text{Intensität}$) sind als gefüllte und leere rote Quadrate für Messungen im Probevolumen bzw. nach dem Waschen dargestellt. Die schwarzen Linien weisen auf die zeitliche Abfolge der Messungen hin. Bei den Fehlerbalken handelt es sich um SE der einzelnen Messungen.

Ende des Waschvorganges bei jeder einzelnen Probe ein konstantes Volumen vor, sodass hier ein kontinuierliches $\Delta\lambda_B$ beobachtet werden konnte (**Abb. 3.8d**). Des Weiteren wurden auch nur marginale Änderungen der Signalintensitäten beobachtet. Das der Flüssigkeitsstand einen Einfluss auf $\Delta\lambda_B$ hatte, ist in **Abb. 3.8d** zu sehen. Versehentlich wurde bei der Probe, die bei $t \approx 270$ Minuten vermessen worden ist, vor der Messung in der Pufferlösung das Volumen teilweise entfernt, sodass sich daraus ein deutlich veränderter Wert von $\Delta\lambda_B$ im Vergleich zu den restlichen Proben ergab. Im Endeffekt wurde bei keiner Faser während der Vermessung im Probenvolumen eine kontinuierliche Änderung von $\Delta\lambda_B$ beobachtet, wogegen bei den korrespondierenden Messungen nach dem Waschvorgang ansteigende $\Delta\lambda_B$ -Werte detektiert worden sind. So sind alle präsentierten Ergebnisse, die in **Kap. 4.5** und **Kap. 4.6** beschrieben worden sind, aus den Messungen nach dem Waschen im Puffer entstanden. Im Gegensatz zu den Messungen mit dem GOPTS-funktionalisierten eFBG-Sensor gab es Unterschiede bei den Messungen mit dem NP-funktionalisierten eFBG-Sensor. Zu Beginn dieser Messungen wurde noch ohne Perfusionspumpe gearbeitet. D. h., für die einzelnen Messungen im Probenvolumen bzw. nach dem Waschen im Puffer wurden die Stäbchen auf definierte Positionen platziert. Des Weiteren erfolgte die Probenzugabe und -entfernung bzw. das Waschen mit dem Puffer per Pipette. Die Messungen im Probenvolumen fand analog zu den GOPTS-funktionalisierten Fasern in horizontaler Position statt, während die Messungen im Puffer nach dem Waschen in vertikaler Position in einem 15 mL-Zentrifugenröhrchen stattfand. Erst im Laufe der verschiedenen Messungen mit den NP-funktionalisierten eFBG-Sensoren wurde die Messprozedur zu der in **Abb. 3.3c** geändert, da trotz der definierten Positionen gleichzeitige Änderungen von $\Delta\lambda_B$ und $\Delta\text{Intensität}$ auf Bewegungen und Biegeeffekte der Faser zurückführen sein könnten. Die Folge war, dass sowohl positive als auch negative $\Delta\lambda_B$ -Änderungen ohne Trend beobachtet worden sind.

Eine weitere Auffälligkeit bei den Messungen war, dass es zwischen der Blindprobe (nur Puffer) und der Probe mit der geringsten Konzentration ($c_{\text{CRP}} = 8,7 \cdot 10^{-20}$ M) von Faser zu Faser unterschiedliche $\Delta\lambda_B$ -Änderungen im Bereich von $\Delta\lambda_B = (-)1,2 - 6,3$ pm gab (**Abb. 3.9**). Die nachfolgenden Probenkonzentrationen zeigten dann bei allen Fasern ähnliche Verläufe für ihre jeweiligen Systeme, wie z. B. in **Abb. 3.8d** für das System I. Da es bei diesen Änderungen zu keinem erkennbaren Schema kam, wurden alle Proben relativ zu dieser Probe aufgetragen, d. h. die Konzentration $c_{\text{CRP}} = 8,7 \cdot 10^{-20}$ M wurde auf null gesetzt ($c_{\text{CRP}} = 0$ M) und alle anderen Konzentration wurden nun im Verhältnis zu dieser dargestellt. Mechanische Einflüsse durch die relative Position vom Efflux könnten hier die Ursache sein. Es kam vor, dass diese nach der Blindprobe ($c_{\text{CRP}} = 0$ M) nochmals angepasst werden musste, um eine kontinuierliche Messdurchführung zu gewährleisten. Zu

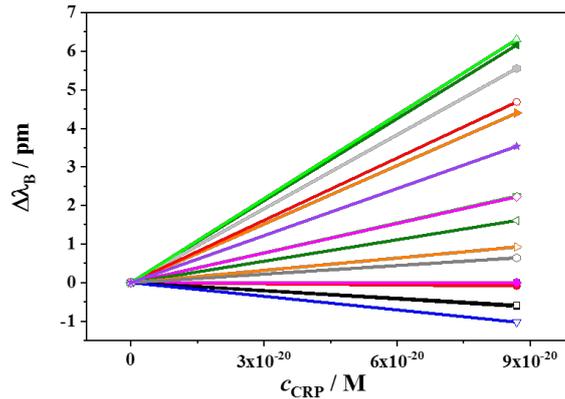


Abbildung 3.9: Die Abbildung zeigt $\Delta\lambda_B$ zwischen dem Puffer ($c_{\text{CRP}} = 0 \text{ M}$) und der in der standardmäßigen Messreihe kleinsten CRP-Konzentration ($c_{\text{CRP}} = 8,7 \cdot 10^{-20} \text{ M}$) von $N = 17$ bio-funktionalisierten Fasern.

diesem Zeitpunkt konnte auch nicht von vorn, d. h. erneute Messung des Puffers, begonnen werden. Der Grund war, dass die nachfolgende Konzentration bereits im Zufuhrschlauch vor dem Influx war.

Im Verlauf einer Messreihe wurden teilweise negative $\Delta\lambda_B$ -Änderungen im Vergleich zu vorherigen Proben beobachtet, wobei auch jeweils ein positives $\Delta\text{Intensität}$ zu beobachten war (siehe grün markierte Bereiche in **Abb. 3.10a**). Dies dürfte aufgrund von Biegeeffekten passiert sein. FBG, die mit *fs*-gepulsten Lasern geschrieben worden sind, zeigen starke Polarisationsabhängigkeiten [29, 106], was bei Bewegungen der Faser, innerhalb und außerhalb des sensitiven Bereiches um das FBG herum, zu einer spektralen λ_B -Verschiebung führte. Beim Absaugen mit dem Papiertuch kann es vorgekommen sein, dass das Stäbchen oder die Faserspitze berührt wurde. Obwohl das Stäbchen fixiert wurde, könnte es aufgrund von etwaiger Druckausübung beim Entfernen des Probevolumens zu einer minimalen Bewegung gekommen sein. Des Weiteren könnten beim Absaugen auch die Faserspitzen mit dem Tuch in Kontakt geraten sein, der dann zu einer leichten Biegung führte. Transversale Krafteinwirkungen auf die Faser, die zu Verbiegungen führen, verändern die optische Geometrie innerhalb des Faserkerns. D. h., n_{eff} ändert sich, sodass sich λ_B spektral verschob [37]. Des Weiteren wirken sich diese Krafteinwirkungen auch auf die Signalintensitäten aus und führten zu deutlichen Intensitätsveränderungen [107]. Aus diesen Grund fand unter der Annahme, dass sich $\Delta\lambda_B$ kontinuierlich mit steigender CRP-Konzentration ändert, an diesen Stellen eine Korrektur statt, auch mit dem Wissen, dass das ein enormer Eingriff in die Datenanalyse ist. In diesen Fällen wurde der entsprechende $\Delta\lambda_B$ -Wert und die jeweils nachfolgenden Werte um diese „negative“ $\Delta\lambda_B$ -Änderung verschoben, sodass nun der $\Delta\lambda_B$ -Wert vor und nach der Berührung identisch waren (siehe grün markierte Bereiche in **Abb. 3.10b**). Diese Korrektur bildete zwar ein weiteres

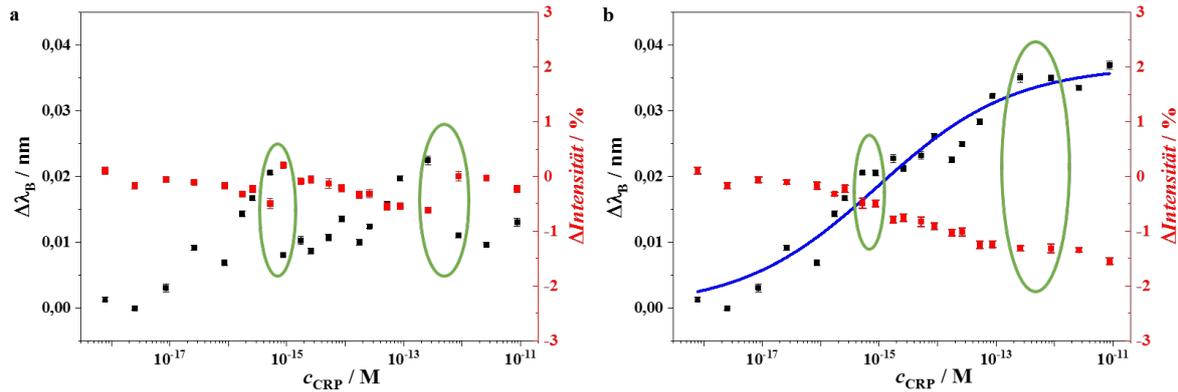


Abbildung 3.10: Die Abbildung stellt eine $\Delta\lambda_{\text{B}}-c_{\text{CRP}}$ -Kurve mit der entsprechenden $\Delta\text{Intensität}$ über der Zeit in einer Beispielmessung dar. (a) $\Delta\lambda_{\text{B}}-c_{\text{CRP}}$ -Kurve mit dazugehörigen $\Delta\text{Intensität}$ der Originalmessung. Die grünen Markierungen kennzeichnen eine plötzlich auftretende intensive Änderung von $\Delta\lambda_{\text{B}}$ und $\Delta\text{Intensität}$. (b) Korrekturen in den grün markierten Bereichen. Veränderungen wurden durch parallele Verschiebungen der restlichen Datenpunkte auf den vorherigen Wert verändert. Durch diese Veränderung entstehen konstante Verläufe mit steigender c_{CRP} . Dadurch war es möglich, die $\Delta\lambda_{\text{B}}-c_{\text{CRP}}$ -Kurve mit **Gl. 4.9** anzupassen (blaue Linie). Die Fehlerbalken sind SE aus den Einzelspektren dieser Messreihe ($N = 10$).

Artefakt bei der Anpassung, aber jede Korrektur auf eine im Vergleich zum vorherigen Messpunkt positivere $\Delta\lambda_{\text{B}}$ -Änderung wäre rein willkürlich. Des Weiteren wurde mit dieser Maßnahme in Kauf genommen, dass dadurch S_{eFBG} , welches ermittelt worden ist, auf die veränderte CRP-Konzentration geringer ausfiel als sie in Wirklichkeit wäre. Ein Setzen von $\Delta\lambda_{\text{B}}$ auf den Wert der vorherigen Messung führte global gesehen zu einer kontinuierlichen Änderung von $\Delta\lambda_{\text{B}}$ von der niedrigsten zur höchsten CRP-Konzentration. Änderungen wurden auch nur dann vorgenommen, wenn einerseits bei nachfolgenden Messungen von $\Delta\lambda_{\text{B}}$ ein kontinuierlicher Trend beobachtet worden ist und andererseits eine starke Intensitätsänderung mit gegenläufigem Verhalten zu etwaiger globaler Intensitätsänderung gemessen worden ist. Im gezeigten Beispiel (**Abb. 3.10**) war ein Intensitätsverlust von rund $\Delta\text{Intensität} \approx -1,5\%$ über sieben Größenordnungen ($c_{\text{CRP}} \approx 10^{-18} - 10^{-11} \text{ M}$) zu beobachten. Die Korrekturen wurden in dieser Beispielmessung dann an den Stellen durchgeführt, an dem positive Intensitätsänderungen von rund $\Delta\text{Intensität} > 0,5\%$ zwischen zwei nacheinander folgenden Messwerten beobachtet worden sind, so dass man hier auf einen äußeren Einfluss schließen konnte. Es lässt sich auch daran erkennen, dass diese Beobachtungen auf äußere Einflüsse zurückzuführen sind, weil sie zum einen nicht kontinuierlich bei allen Messungen gemessen worden sind und zum anderen weil sie, wenn sie auftraten, nicht immer bei derselben Konzentration zu beobachten waren. Messungen bei denen keine Trends von $\Delta\lambda_{\text{B}}$ und $\Delta\text{Intensität}$ sichtbar waren, wurden verworfen.

3.3.9.2 Berücksichtigung der Sensitivitäten

Wie bereits in **Kap. 4.4.3** beschrieben worden ist, resultierte das Faserätzen in Fasern mit verschiedenen S_{eFBG} -Werte der einzelnen Fasern zu n_{U} . Um die erzielten Resultate zwischen den einzelnen Fasern vergleichbar zu machen, wurden die jeweils nach dem Ätzzvorgang gemessenen S_{eFBG} als Maß für eine Gewichtung verwendet. Anhand eines Beispiels (**Abb. 3.11**) soll dieses Verfahren erläutert werden. Nach erfolgter Beendigung der Messreihe wurde die aufgenommene $\Delta\lambda_{\text{B}}-t$ -Kurve wie in **Kap. 3.3.9.1** beschrieben korrigiert. Diese Zeitkurve wurde nun in eine $\Delta\lambda_{\text{B}}-c_{\text{CRP}}$ -Kurve transformiert, dabei wurden die einzelnen Spektren ($N = 10$) pro CRP-Konzentration gemittelt (grüne Kurve in **Abb. 3.11**). Die Mittelwertbildung war nötig, um geringe Vibrationen beispielsweise von elektrischen Geräten (experimenteller Fehler des Messgeräts) auszugleichen. Im Anschluss erfolgte die Gewichtung der Messreihe mit der für diese Faser bestimmten S_{eFBG} (faser-spezifische S_{eFBG} , leere rote Quadrate in **Abb. 3.11**). Die ersten Schritte wurden nun für jede verwendete Faser eines Systems wiederholt. Anschließend erfolgte eine Mittlung aus

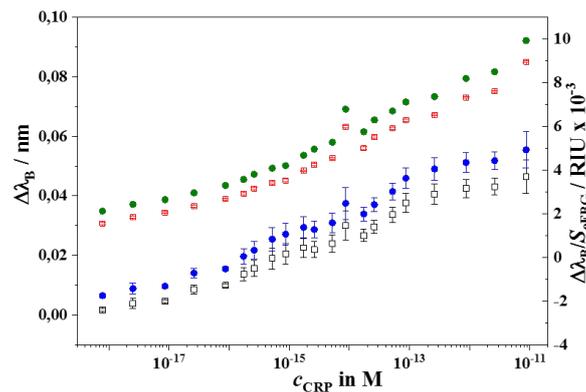


Abbildung 3.11: In dieser Abbildung ist die Bearbeitung der ungewichteten Einzelmessung bis hin zur Entstehung der gemittelten systemspezifischen $\Delta\lambda_{\text{B}}-c_{\text{CRP}}$ -Kurve am Beispiel einer Messkurve für das System I ohne Pufferzusätze dargestellt. Zunächst wird die ungewichtete $\Delta\lambda_{\text{B}}-c_{\text{CRP}}$ -Kurve (grüne Kreise) mit der nach dem Ätzzvorgang ermittelten faserspezifischen S_{eFBG} gewichtet (leere rote Quadrate). Nun werden alle gewichteten Messkurven des Systems gemittelt (leere schwarze Quadrate). Am Ende erfolgt eine Transformation mit der gemittelten systemspezifischen S_{eFBG} aus allen zugehörigen einzelnen faserspezifischen S_{eFBG} in eine gemittelte systemspezifische $\Delta\lambda_{\text{B}}-c_{\text{CRP}}$ -Kurve (blaue Kreise). Zur Übersicht wurden die Messwerte der $\Delta\lambda_{\text{B}}-c_{\text{CRP}}$ -Kurve (grün) mit +0,03, die der faserspezifisch gewichteten Messkurve (rot) mit +2 und die der gemittelten und gewichteten Messkurve (schwarz) mit -2 aufsummiert. Die gemittelte systemspezifische $\Delta\lambda_{\text{B}}-c_{\text{CRP}}$ -Kurve (blau) ist ohne Aufsummierung dargestellt. SE, gekennzeichnet durch die Fehlerbalken, für die grünen und roten Datenpunkte ergibt sich aus der Mittelwertbildung von Spektren einer Einzelmessung ($N = 10$) und die entsprechenden für die schwarzen und blauen Punkte stammen von der Mittelwertbildung verschiedener Messreihen eines Systems (hier $N = 5$).

den faserspezifisch gewichteten Messreihen desselben Systems (leere schwarze Quadrate in **Abb. 3.11**). Im letzten Schritt wurden diese Datenpunkte dann mit Hilfe der jeweiligen systembedingten S_{eFBG} in eine gemittelte systemspezifische $\Delta\lambda_{\text{B-CRP}}$ -Kurve transformiert (blaue Kurve in **Abb. 3.11**). Die gemittelten systemspezifischen S_{eFBG} -Werte und die Anzahl der dafür verwendeten Fasern aller vermessenen Systeme sind in **Tab. 3.14** aufgelistet.

Tabelle 3.14: Die Tabelle zeigt eine Auflistung der für die Transformation von einer gemittelten und gewichteten Messkurve eines Systems in eine gewichtete systemspezifische $\Delta\lambda_{\text{B-CRP}}$ -Kurve verwendeten gemittelten systemspezifischen S_{eFBG} .

System	systemspezifische	
	S_{eFBG} in nm/RIU	Faseranzahl
GOPTS-Silanisierung	5,61	32
CRP-Aptameranlagerung an GOPTS	5,76	20
I	6,70	5
II	4,95	3
III	5,84	8
IV	5,53	3

Für die Darstellung der gemittelten Biofunktionalisierungsschritte beim GOPTS-basierten Biosensor (**Kap. 4.6.1**) wurden die einzelnen $\Delta\lambda_{\text{B-}t}$ -Kurven einzeln mit ihren jeweiligen faserspezifischen S_{eFBG} -Werten gewichtet und dann gemittelt. Als letzter Schritt erfolgte wieder eine Transformation zu einer gemittelten systemspezifischen $\Delta\lambda_{\text{B-}t}$ -Kurve. Die aus den Mittlungen errechneten SE-Werte wurden in allen Fällen ebenfalls transformiert.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Biosensorkonzept I

Im Folgenden soll das Funktionsprinzip des in dieser Arbeit präsentierten PC-basierten Biosensors kurz erläutert werden (**Abb. 4.1**). Beim allgemeinen Aufbau des PC-basierten Biosensors wurde sich an den Arbeiten von S. Mandal et al. orientiert [108, 109]. Dieser besteht aus einer SiO_2 -Unterlage mit einem n_{SiO_2} von $n_{\text{SiO}_2} \approx 1,46$ (graue Flächen in **Abb. 4.1**), einem Wellenleiter und einem 1-D PC, der als Hohlraumresonator seitlich neben dem Wellenleiter positioniert wurde (blaue und grüne Bereiche in **Abb. 4.1**). Beide Elemente bestanden aus reinem Si mit einem n_{Si} von $n_{\text{Si}} \approx 3,48$, sodass Lichtverluste in die Unterlage vorbeugt werden sollten. Die photonische Bandlücke vom PC wurde so konstruiert, dass sie im Bereich von $\lambda = 1500 - 1600 \text{ nm}$ lag und eine zentrale Defektstelle im selben

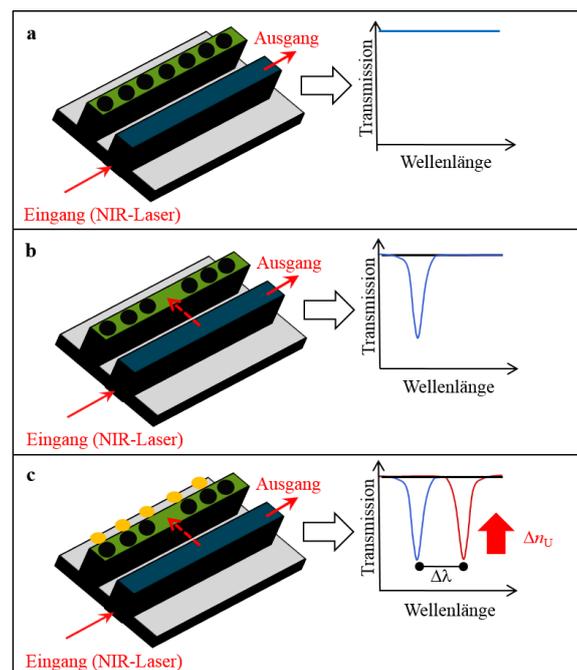


Abbildung 4.1: Die Abbildungen zeigen die Grundkomponenten des PC-Biosensorelements mit Transmissionsspektrum (rechts). (a) Unbehandeltes Arrangement, sodass in diesem Fall keine Sensoreignung vorhanden ist. (b) PC mit Defektstelle erzeugt Signal im Transmissionsspektrum. (c) Änderung von n_U durch Anlagerung eines Analyten sorgt für spektrale Verschiebung der Resonanzwellenlänge (Signal). Blaue Kurve zeigt Spektrum für $\Delta n_U = 0$ an. Die rote Kurve zeigt die spektrale Verschiebung der Resonanzwellenlänge bei $n_U > 0$ an. Der rote Pfeil und die gelben Punkte deuten eine evaneszente Interaktion bzw. den Analyten an, verändert nach [25].

spektralen Bereich besaß. Des Weiteren wurde der n -Kontrast zur PC-Bildung durch den Einbau von Löchern erzeugt (schwarze Kreise im grün angedeuteten PC in **Abb. 4.1**). Im „normalen“ Zustand transmittierte ein PC das eingekoppelte Licht ohne Veränderung (**Abb. 4.1a**), sodass ein PC in dieser Konfiguration nicht als Sensoren geeignet war. Die Defektstelle sorgte nun dafür, dass messbare Signale im Transmissionsspektrum vorhanden waren. Die Defektstelle erlaubte im Fall vom PC evaneszentes Lichtkoppeln vom Wellenleiter zum PC bei einer definierten Resonanzwellenlänge (**Abb. 4.1b**). Eine Änderung von n_U , wie z. B. durch die Anlagerung des Analyten (gelbe Flächen in **Abb. 4.1c**) führte in diesem System zu einer Verschiebung der Resonanzwellenlänge, wodurch das System für biochemische Anwendungen geeignet wäre. Vorteile dieser Sensorkonfiguration sind u. a., dass man mehrere Zielmoleküle nebeneinander detektieren könnte und dass man sogar einzelne Moleküle in sehr kleinen Volumina (fg bis ag Bereich [110, 111]) nachweisen könnte.

Die praktische Umsetzung der zu Beginn vorhandenen theoretischen Vorstellungen war die Herausforderungen bei der Entwicklung des PC-basierten Sensors. Deshalb werden im folgenden Abschnitt die Arbeiten bei der Entwicklung dieses Sensors dargelegt über die Simulationen, die zu Beginn des Projektes durchgeführt worden sind, bis hin zur Optimierung des Prototyps und den ersten Modellaufbauten.

4.2 Biosensor basierend auf photonischen Kristallen

4.2.1 Charakterisierung des verwendeten Lasers

Eine wichtige Komponente im geplanten Modellaufbau bzw. generell im Messaufbau ist die Lichtquelle. Deshalb war eine Begutachtung der Lichtquelle, hier TLS, hinsichtlich ihrer spektralen Eigenschaften von enormer Bedeutung für eine Verwendung als Lichtquelle. Für die TLS-Charakterisierung wurden deshalb zum einen P_{av} und zum anderen die Wellenlängengenauigkeit des Lasers kontrolliert. Für die Genauigkeitsestimmung vom ausgegebenen λ -Wert wurde nun zuerst eine Spannungs- t -Kurve von einer CO₂-Absorptionsmessung an einem Oszilloskop aufgenommen, welche anschließend in eine Spannungs-Wellenlängen-Kurve umgewandelt worden ist. Dies entsprach dann einer T -Wellenlängen-Kurve. Anhand **Abb. 4.2** erkennt man, dass die Anzahl der Absorptionssignale im gemessenen Spektrum (blaues Spektrum in **Abb. 4.2a**) in dem Transmissionsspektrum im Bereich von $\lambda = 1600 - 1620$ nm auch im Referenzspektrum aus der HITRAN-Datenbank (rotes

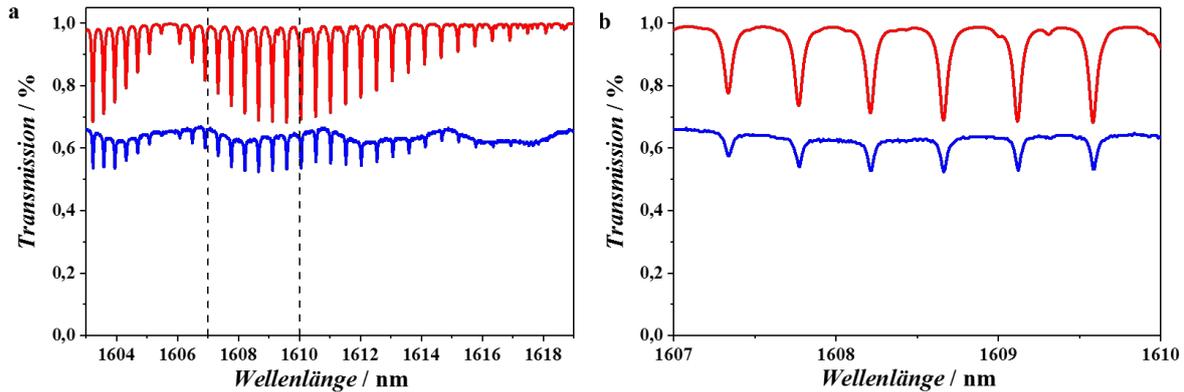


Abbildung 4.2: Vergleich zwischen den CO₂-Absorptionsspektren aus der HITRAN-Datenbank (rot) und dem mit TLS (blau) und einem Oszilloskop aufgenommenen. (a) Es ist der spektrale Bereich von $\lambda = 1603 - 1619$ nm gezeigt. Die gestrichelten Linien verdeutlichen den in b vergrößerten Bereich des Spektrums an. (b) Vergrößerter Bereich von $\lambda = 1607 - 1610$ nm aus a.

Spektrum in **Abb. 4.2a**) vorhanden sind. Beide Spektren unterscheiden sich lediglich hinsichtlich ihrer Intensität, sodass im Referenzspektrum mehr Signale sichtbar sind. Des Weiteren sind die Abstände zwischen den einzelnen Signalen ähnlich in beiden Spektren. Für eine genauere Betrachtung der Distanzen zwischen den Signalen wurde der Bereich von $\lambda = 1607 - 1610$ nm vergrößert dargestellt (**Abb. 4.2b**). Die Position jedes der sechs dargestellten Signale in **Abb. 4.2b** wurde bestimmt und mit dem entsprechenden Referenzsignal verglichen. Im Endeffekt wurde bei den verglichenen Signalmaxima eine konstante Verschiebung von $\Delta\lambda = (-0,10 \pm 0,00)$ nm beobachtet. Beim Vergleich zwischen dem angezeigten und der tatsächlich gemessenen Ausgangsleistung wurden im gesamten spektralen Messbereich Leistungsabweichungen von $\Delta L_P = (0,1 \pm 0,0)$ dBm bzw. $\Delta P_{av} = (0,08 \pm 0,01)$ mW registriert. Das entsprach einer prozentualen Abweichung von 2,9% bzw. 2,6%. Letztlich konnte deshalb der Laser als Energiequelle für die experimentellen Aufbauten dienen.

4.2.2 Simulationen

Bei der Entwicklung des PC-basierten Biosensors handelte es sich um eine Kooperation der ALSCoMBi-Nachwuchsgruppe mit nanoplus Nanosystems and Technologies GmbH, Gerbrunn. Zu Beginn des Projektes wurden einige Simulationen² durchgeführt. Diese dienten dazu, dass es zu einem besseren Verständnis kam, wie die Parameter des Wellenleiters und vom PC die optischen Eigenschaften beeinflussten. Des Weiteren wurden die Simulationen genutzt, um die Parameter zu verändern, sodass sie für das Projekt verwendet werden konnten. Der n -Unterschied im PC wurde bei den Simulationen nicht verändert, da mit einem System bestehend aus einer Si-Struktur mit luftgefüllten Löchern geplant

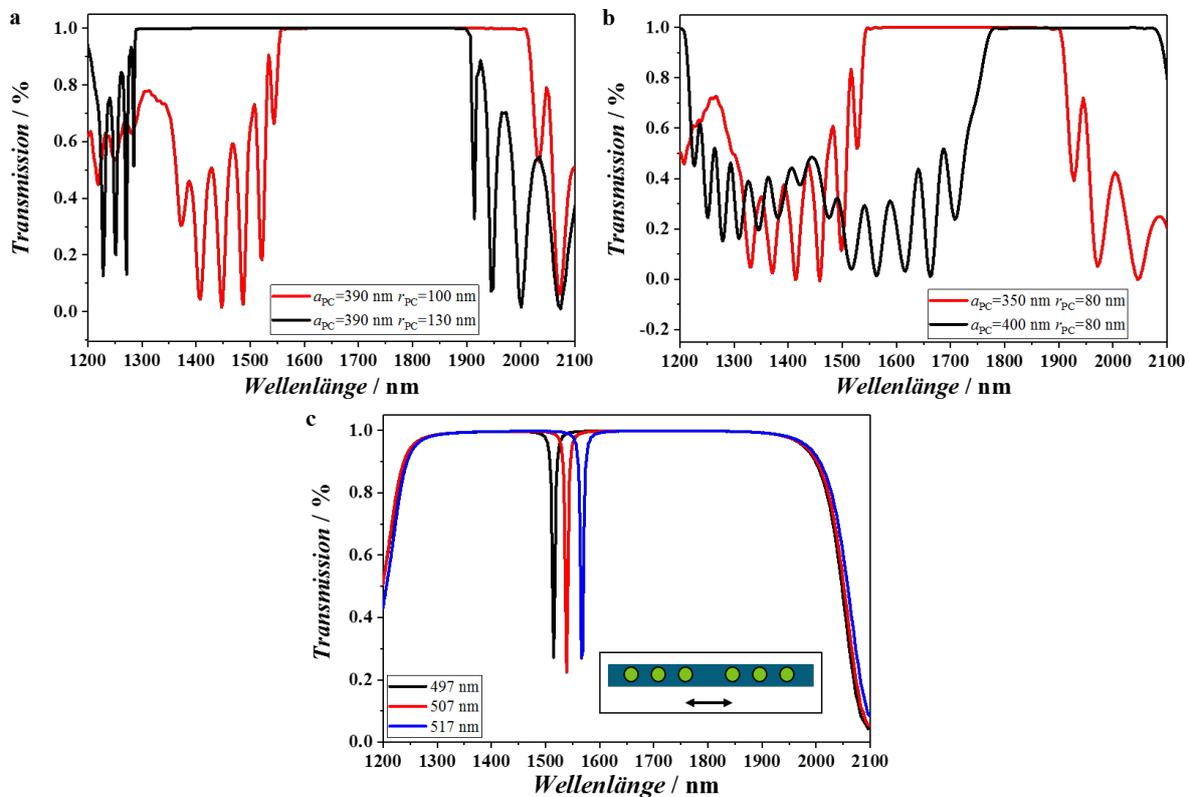


Abbildung 4.3: (a) Das Diagramm zeigt eine Variation der Gitterperiode a_{PC} mit konstantem Elementradius r_{PC} mit dem daraus resultierenden Spektrum im Wellenlängenbereich $\lambda = 1200 - 2100$ nm. (b) In diesem Diagramm wird das Transmissionsspektrum im Wellenlängenbereich $\lambda = 1200 - 2100$ nm dargestellt, wobei hier der Elementradius variiert wird und die Gitterperiode dagegen konstant bleibt. (c) Eine Störung der periodischen Modulation sorgt für eine schmalbandige spektrale Lichtausbreitung im PC, analog einem Mikroresonator. Hier am Beispiel von drei verschiedenen Größen der Defektstellen. Die Einfügung zeigt beispielhaft einen 1-DPC mit einer Defektstelle in der periodischen n -Modulation.

²Die Simulationen wurden mit dem frei erhältlichen Programm MEEP (*MIT Electromagnetic Equation Propagation*) [112] von Dr. R. Flehr durchgeführt.

worden ist. Die wichtigsten Parameter für einen PC neben den n -Unterschied sind a_{PC} und r_{PC} . In **Abb. 4.3a,b** ist jeweils ein Spektrum simuliert worden, was spektrale Verschiebungen aufzeigt, die durch Variationen eines der beiden Parameter auftraten. In **Abb. 4.3a** wurde bei konstanten a_{PC} -Wert von $a_{\text{PC}} = 390 \text{ nm}$ r_{PC} verändert, d. h. r vom Bereich mit niedrigeren n wurde von $r_{\text{PC}} = 100 \text{ nm}$ auf $r_{\text{PC}} = 130 \text{ nm}$ vergrößert. Diese Veränderung führte dazu, dass die Bandlücke mit einer Transmission von $T = 100\%$ von $\lambda \approx 1550 - 2000 \text{ nm}$ auf einen spektralen Bereich von $\lambda \approx 1300 - 1925 \text{ nm}$ verschoben worden ist. Im Vergleich dazu führte eine a_{PC} -Vergrößerung von $a_{\text{PC}} = 350 \text{ nm}$ auf $a_{\text{PC}} = 400$ bei einem konstanten r_{PC} -Wert von $r_{\text{PC}} = 80 \text{ nm}$ zu einer spektralen Verschiebung der Bandlücke von $\lambda \approx 1550 - 1925 \text{ nm}$ auf $\lambda \approx 1770 - 2075 \text{ nm}$ (**Abb. 4.3b**).

Stört man die perfekte Periodizität des Systems durch die Vergrößerung des Abstandes zwischen den innersten Bereichen mit den niedrigeren n -Werten, wird Licht mit einem bestimmten f -Wert (Resonanzwellenlänge, λ) im PC „gefangen“. Es entstand quasi ein System, das aus zwei perfekten Periodizitäten besteht. Man sieht in **Abb. 4.3c**, dass λ mit steigender Defektstellengröße von 497 nm auf 517 nm spektral eine Rotverschiebung von $\lambda \approx 1525 \text{ nm}$ auf $\lambda \approx 1575 \text{ nm}$ aufwies. Für die erste Prototyp-Generation wurde nun ein a_{PC} von $a_{\text{PC}} = 390 \text{ nm}$ und ein r_{PC} von $r_{\text{PC}} = 100 \text{ nm}$ gewählt, sodass die Bandlücke um $\lambda = 1550 \text{ nm}$ lag. Diese Dimensionen entsprachen Werten, die bereits von S. Mandal et al. verwendet worden sind [108, 109]. Für die Simulationen der Wellenleitereigenschaften wurde ebenfalls auf Literaturwerte zurückgegriffen. Die Simulationen der Wellenleitereigenschaften für eine Lichtleitung bei $\lambda = 1550 \text{ nm}$ in **Abb. 4.4** und in **Abb. 4.5** zeigen die Intensität der elektrischen Feldkomponente des Lichts, wobei blaue Bereiche die jeweiligen positiven und die roten die negativen Werte darstellen. In **Abb. 4.4** sieht man, dass bei steigendem Durchmesser des Wellenleiters von (a) $d = 450 \text{ nm}$ über (b) $d = 1 \mu\text{m}$ auf (c) $d = 2 \mu\text{m}$ sich die elektromagnetische Welle mit mehreren Moden innerhalb des planaren Wellenleiters ausbreitet. Im Gegensatz dazu

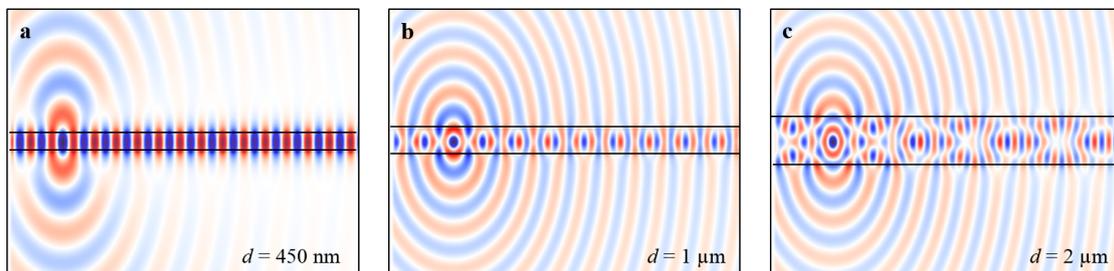


Abbildung 4.4: Simulationen des elektromagnetischen Feldes in einem Wellenleiter mit einem Durchmesser von (a) 450 nm , (b) $1 \mu\text{m}$ und (c) $2 \mu\text{m}$. Die blauen und roten Felder zeigen dabei positive bzw. negative Werte des Feldes auf. Die Ausbreitung erfolgte hierbei von links nach rechts.

eher für den Feinschliff beim PC-Entwurf, da kleine Veränderungen teilweise nur geringfügige Änderungen hervorriefen.

4.2.3 Optimierung des Prototypen und experimentelle Aufbauten

Nach den in **Kap. 4.2.2** beschriebenen Simulationen wurden vom Kooperationspartner nanoplus, Gerbrunn Prototypen der ersten Generation mittels Elektronenstrahlithografie hergestellt. Auf jeden Prototypen, d. h. pro Barren, wurden 80 Wellenleiter mit je einem seitlich lokalisierten PC als Mikroresonator aufgetragen. PC und Wellenleiter bestanden aus reinem Si, während der Prototyp als Grundfläche aus SiO₂ bestand. Die Dimensionen vom PC und Wellenleiter waren wie in **Kap. 4.2.2** beschrieben. Der n -Unterschied zur PC-Bildung wurde erreicht, indem Löcher in die SiO₂-Struktur eingebracht worden sind. Die Systeme auf einen Barren, bestehend aus Wellenleiter und PC, waren aufgrund der Variationen einiger Parameter unterschiedlich. Die einzelnen Kombinationen unterschieden sich hinsichtlich der Anzahl der Löcher durch Variation der PC-Länge im Bereich von $l_{PC} = 5 - 15 \mu\text{m}$. Des Weiteren wurden die Größe der zentralen Defektstelle und der Abstand zwischen PC und Wellenleiter variiert. In **Abb. 4.6** sind zwei elektronenmikroskopische Aufnahmen des Prototypen der ersten Generation zu sehen. Man erkennt in **Abb. 4.6a** einen Abschnitt der SiO₂-Struktur und man sieht, dass die Wellenleiter von links nach rechts verlaufen und jeweils mit einem entsprechenden Satz von Parametern beschrieben sind, die Auskunft über die entsprechende Wellenleiter-PC-Kombination geben. Man kann dabei die Anzahl der Löcher, hier $N = 40$, verschiedene Abstände zwischen

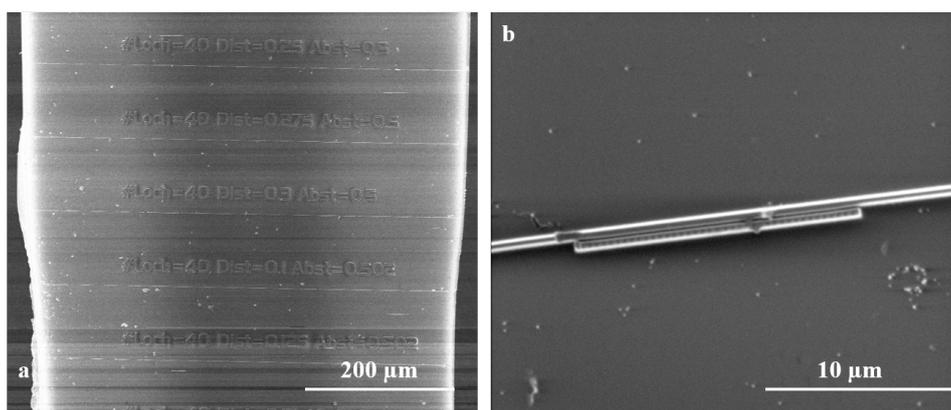


Abbildung 4.6: (a) SEM-Aufnahme des ersten Prototyps mit einer Breite von ca. 0,5 mm. Dieser Prototyp enthält viele Wellenleiter mit je einem seitlich angebrachten PC (weiße Markierungen). PC besitzen verschiedene Abstände zum Wellenleiter und sind verschieden groß. (b) Vergrößerte Aufnahme zeigt ein am Wellenleiter gekoppelten PC mit einer Länge von 15 μm .

PC und Wellenleiter mit Abständen im Bereich von 100 nm bis 300 nm erkennen. Die Größe der Defektstelle für die gezeigten Systeme in **Abb. 4.6a** ist ungefähr 500 nm. In **Abb. 4.6b** ist eine vergrößerte Aufnahme gezeigt, in der ein PC neben einem Wellenleiter zu sehen ist. Der dargestellte PC beinhaltet 20 Löcher auf beiden Seiten der zentralen Defektstelle. Beim Herstellungsprozess wurden mehrere Chip-Barren gleichzeitig produziert, sodass das große Gebilde gebrochen werden musste, um die einzelnen Prototypen zu erhalten. Dies führte aber dazu, dass die Bruchkanten eine gewisse Rauigkeit aufwiesen (**Abb. 4.7a**). Die Rauigkeit müsste zu einer hohen Reflektivität des Lichtes an der Oberfläche des Chip-Barrens beim Einkoppeln in diesen führen. Aus diesem Grund wurde versucht, die Bruchkanten zu polieren, um den Prozentsatz an eingekoppeltem Licht zu erhöhen. Zur Bewerkstelligung dieser Aufgabe wurde in der Arbeitsgruppe ein Handgerät angefertigt, womit es möglich war, die Oberfläche zu polieren, da eine Politur per Hand aufgrund der Chip-Barren-Dimension von $d \approx 0,5$ mm in Breite und $d \approx 10$ mm in Länge sehr kompliziert war. Die Resultate dieser Polierungen sind beispielhaft in **Abb. 4.7b** und **c** zu sehen. Im Laufe dieses Vorganges wurde festgestellt, dass während der Bearbeitung der zweiten Bruchkante die zuvor polierte Seite mechanischem Stress durch das Handgerät ausgesetzt worden ist, was zu Einrissen auf der ersten Seite führte.

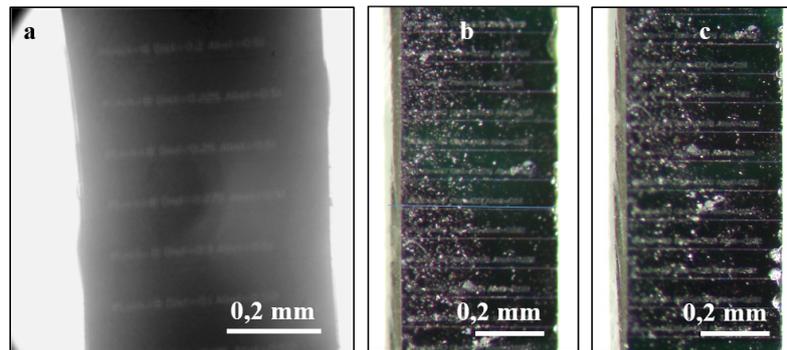


Abbildung 4.7: (a) Mikroskopische Aufnahme zeigt den ersten Prototypen vor der Polierung. Beide Kanten weisen hohe Rauigkeit auf. (b,c) Mikroskopische Aufnahmen zeigen den ersten Prototypen nach der Polierung. Die polierten Seiten sind in b und c auf der jeweiligen linken Seite erkennbar. Die rechte Seite wurde bei der Durchführung wieder aufgeraut.

Nichtsdestotrotz wurde versucht, Licht in und aus dem Chip-Barren zu koppeln. Für dieses Experiment wurde auf die Expertise von Wissenschaftlern vom AIP zurück gegriffen. Sie besaßen bereits einen experimentellen Aufbau, um Licht in und aus siliziumbasierte Strukturen zu koppeln. Eine mikroskopische Aufnahme eines Chip-Barrens, der in dem Aufbau integriert worden ist, ist in **Abb. 4.8** zu sehen. Zum Koppeln des Lichts in und aus den Chip-Barren heraus verwendeten sie gelinste Fasern. Um die Fasern zu positionieren, wurde sichtbares rotes Licht verwendet (**Abb. 4.8b**). Des Wei-

teren sind in **Abb. 4.8a** beide Fasern, die für die Lichtkopplungen verwendet worden sind, und der Chip-Barren auf dem Vakuumtisch, der den Barren in Position halten sollte, erkennbar. Außerdem sieht man, dass durch den Polierungsschritt die Breite des Chip-Barrens reduziert worden ist, sodass der Barren die Vakuumlöcher der vorhandenen Haltevorrichtung nicht komplett bedeckte, was sich negativ auf die Positionierung der Fasern auswirkte. Der Luftstrom sorgte nun dafür, dass sich die Fasern leicht bewegten, was sich wiederum negativ auf das Ein- und Auskoppeln auswirkte. Am Ende war es nicht möglich, Licht, das durch den Wellenleiter transmittierte, zu detektieren. Es konnte nur das Licht detektiert werden, das direkt von Faser zu Faser überkoppelte.

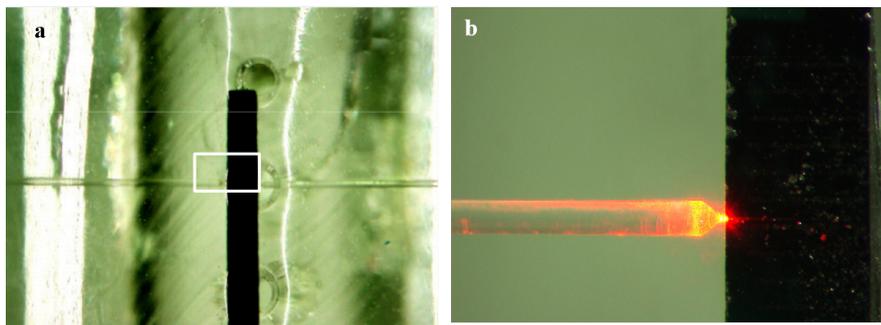


Abbildung 4.8: (a) Die mikroskopische Aufnahme zeigt den ersten Prototypen auf einem Vakuumtisch. Es sind sowohl links als auch rechts gelinste Fasern an den Chip-Barren platziert worden. (b) Die mikroskopische Aufnahmen stellt den in a markierten Bereich während der Positionierung dar. In diese Faser wurde rotes Licht zur besseren Visualisierung eingekoppelt.

Gründe für das fehlende positive Ergebnis könnten zum einen weiterhin die starken Reflexionen an der Chip-Barrenoberfläche als auch die unmittelbare Nähe zwischen den Fasern oder die gerade Ausrichtung des Wellenleiters sein. Anhand dieser Erfahrung wurde ein neues Konzept für den Prototypen der zweiten und dritten Generationen entworfen, um die vorhandenen Probleme zu lösen. Zunächst sollte die Dimension des Chip-Barrens vergrößert werden, was zum einen zu einer verbesserten Handhabung führen sollte und zum anderen den Anteil an direkt übertragendes Licht beim Ein- und Auskoppeln zwischen Fasern verringert. Des Weiteren sollte der gradlinige Verlauf des Wellenleiters auf einer Seite in einen S-förmig endenden Wellenleiter verändert werden, sodass es einen 2-3 mm Versatz zwischen den beiden Fasern gäbe (**Abb. 4.9**). Im Endeffekt würde der direkte Energieübertrag wegfallen. Dazu wurde außerdem beschlossen, die Wellenleiter in Richtung der jeweiligen Chip-Barrenkanten, wie in **Abb. 4.9** gezeigt, spitz zulaufen zu lassen (*tapern*), um die Kopplungseffizienz zwischen gelinsten Fasern und Substrat weiter zu erhöhen [113].

Es wurde auch ein eigener Messaufbau entworfen und realisiert (**Abb. 4.10a**). Als Lichtquelle wurde der in **Kap. 4.2.1** charakterisierte Laser (TLS) verwendet. Mittels Fa-

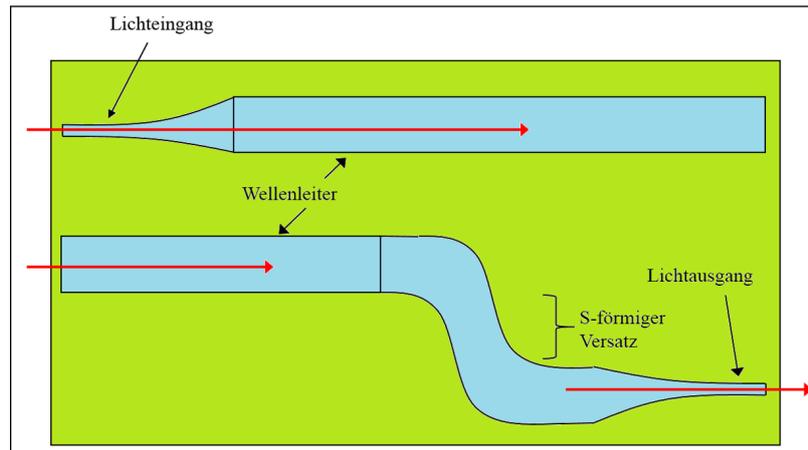


Abbildung 4.9: Die Abbildung zeigt schematisch den Aufbau eines Wellenleiters mit S-förmigen Versatz am Lichtausgang und der Verengung des Wellenleiters an den Kanten des Chip-Barrens. Die Richtung des Lichtes wird durch die roten Pfeile angedeutet

sen wurde das Licht in einen Polarisator geführt, da die verwendeten SMF bei Bewegungen die Polarisation des Lichtes verändern würden. Über ein Kopplungsstück konnte das Anregungslicht entweder vom Laser oder von einem Justageelement, hier ein faserkoppelbarer Laserstift im roten Spektralbereich, herkommen. Vom Polarisator wurde das Licht dann zu einer gelinsten Faser geführt, welche sich auf einem x,y,z-Verschiebetisch befand, sodass eine μm genaue Positionierung zu den einzelnen Wellenleitern möglich war. Mit der x- und y-Richtung war die orthogonale bzw. die parallele Bewegung der Faser in Relation zum Chip gemeint. Bei der z-Richtung wurde die Faserposition in der Höhe verändert. Die gelinsten Fasern waren im Gegensatz zu den „normalen“ Fasern polarisationserhaltend. Der Chip-Barren sollte dann zentral auf einem eigens hergestellten Vakuumentisch platziert werden, sodass Bewegungen während des Experimentes verringert wurden (**Abb. 4.10b** und **c**). Das ausgekoppelte Licht sollte dann von einer zweiten gelinsten Faser, welche sich ebenfalls auf einen separaten x,y,z-Verschiebetisch befand, „aufgefangen“ werden. Am Ende wurde eine Photodiode als Detektor verwendet. Trotz Verwendung der gelinsten Fasern war die Positionierung an die Wellenleiter weiterhin schwierig. Es war zwar möglich, die Faser mit Hilfe des Justageelements auszurichten, aber Si transmittiert kein bzw. zu wenig Licht in diesem spektralen Bereich, sodass nur reflektiertes Licht beobachtet werden konnte (**Abb. 4.10d** und **e**).

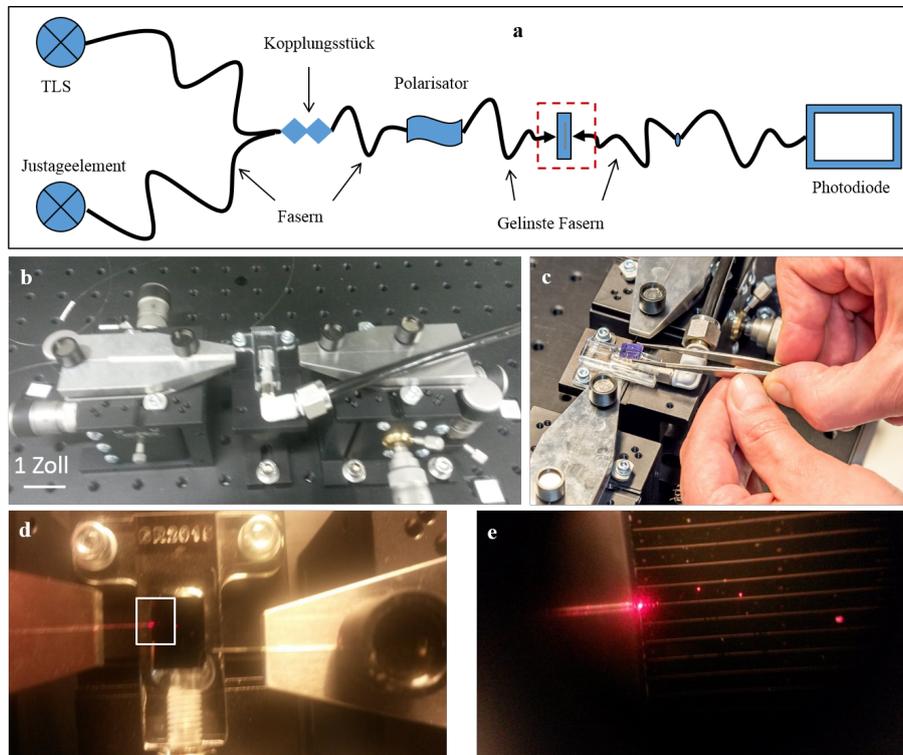


Abbildung 4.10: (a) Es ist die schematische Darstellung des in der Physikalischen Chemie entwickelten ersten Aufbaus zur Transmissionsmessung des PC-basierten Biosensors gezeigt. Das Licht wird über ein Kopplungsstück entweder vom TLS oder von einem Justageelement, der rotes Licht emittiert, in den Polarisator geführt. Das nun linear polarisierte Licht wird über eine gelinste Faser zum Chip geführt. Der Chip befindet sich auf einem Vakuumschreibtisch. Mit einer zweiten gelinsten Faser wird das Licht zu einer Photodiode geführt. Die gelinsten Fasern sind auf x,y,z-Verschiebetischen platziert. (b) Es ist eine Lichtaufnahme des in a markierten Bereiches dargestellt. Es zeigt den Vakuumschreibtisch, der links und rechts von je einem x,y,z-Verschiebetisch umgeben ist. Auf der linken Seite ist eine gelinste Faser, die von einer Schutzhülle umgeben ist, erkennbar. (c) Es ist eine Lichtaufnahme des Prototyps der zweiten Generation beim Positionieren auf den Vakuumschreibtisch des in a dargestellten Messaufbaus gezeigt. Das Bild wurde von K. Fritze aufgenommen (veröffentlicht in M. ZIMMERMANN, „Der Traum vom universellen Sensor - Was photonische Kristalle und Faser-Bragg-Gitter ans Licht bringen können“, *PORTAL*, **3/2015**, 6). (d) Die Lichtaufnahme zeigt den Chip-Barren auf dem Vakuumschreibtisch. Links und rechts vom Chip-Barren ist jeweils eine gelinste Faser positioniert. Mit Hilfe des Justageelementes, der rotes Licht emittiert, wird die Faser an die gewünschte Position zum Chip-Barren bewegt. (e) Die Aufnahme zeigt eine Vergrößerung des in d markierten Bereiches. Es zeigt eine direkt am Chip-Barren positionierte Faser. Des Weiteren sind auf den Chip-Barren mehrere Wellenleiter (helle Linien) erkennbar.

Dabei tauchte auch ein weiteres Problem auf, da auch die zweite Faser auf der gegenüberliegenden Seite des Chip-Barrens für die Signalerkennung positioniert werden musste. Ohne transmittiertes Licht durch den Chip-Barren war es fast unmöglich, die richtigen Positionen für die gelinste Faser zu finden. So wurde der Messaufbau modifiziert, um die vorhandenen Probleme zu lösen (**Abb. 4.11a**). Ein NIR-Objektiv (10x, Zeiss) wurde anstatt der zweiten gelinsten Faser in den Aufbau integriert. Das Licht, welches durch den Wellenleiter auf den Chip-Barren geleitet wurde, sollte somit großflächig gesammelt werden, da ein Objektiv ein großes Lichtsammelvermögen besitzt (**Abb. 4.11b** und **c**). Die Position des Objektivs wurde während der Positionsänderung der ersten gelinsten Faser dabei konstant gehalten. Das durch das Objektiv gesammelte Licht wurde dann in eine MMF gekoppelt. Nun wurde erfolgreich der Lichtweg ohne Vorhandensein des Chip-Barrens von der gelinsten Faser über Objektiv und MMF zum Detektor getestet, so dass ein Signal detektiert werden konnte. Trotzdem wurde festgestellt, dass eine Positions-

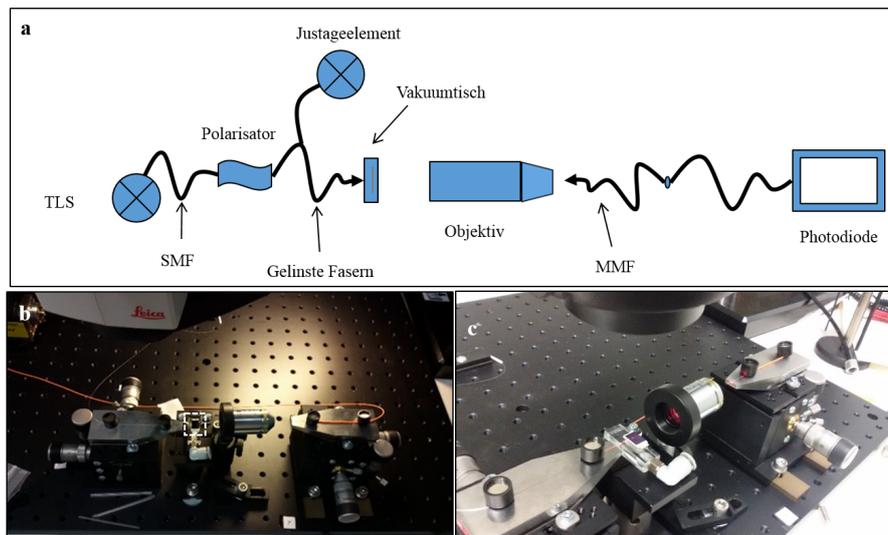


Abbildung 4.11: (a) Es ist eine schematische Darstellung des in der Physikalischen Chemie entwickelten überarbeiteten Aufbaus zur Transmissionsmessung des PC-basierten Biosensors dargestellt. Das Licht wird über ein Kopplungsstück entweder vom TLS-Laser oder von einem Justagelement, der rotes Licht emittiert, in eine gelinste Faser geführt. Lediglich das vom TLS-Laser kommende Licht wird polarisiert. Das Licht wird über die Faser zum Chip geführt. Der Chip befindet sich auf einem Vakuumentisch. Um das aus dem Chip-Barren ausgekoppelte Licht großflächig „einzufangen“, wurde zwischen Barren und einer MMF ein NIR-Objektiv (10x, Zeiss) eingebaut. Diese Faser führt das Licht zu einer Photodiode. Die optischen Fasern sind auf x,y,z-Verschiebetischen platziert. (b) Lichtbildaufnahme des Prototyps der dritten Generation (markierter Bereich), der auf dem Vakuumentisch platziert worden ist. Daneben ist das Objektiv zu erkennen, welches zwischen die zwei x,y,z-Verschiebetische platziert wurde. (c) Sichtbares Licht wurde verwendet, um eine grobe Justierung zwischen der optisch zu einer Linse verjüngten Faser, Objektiv und MMF durchzuführen.

änderung der gelinsten Faser eine kleine Änderung der MMF-Position benötigt, da sich der Fokuspunkt des Objektivs ebenfalls ändert. Für die Positionierung wurde im weiteren Versuchsablauf auch eine IR-Karte als zusätzliches Hilfsmittel eingesetzt. Die Ausrichtung der gelinsten Faser in x - und y -Richtung wurde per Augenmaß über ein Vergrößerungsglas (8x), welches oberhalb der Chip-Halterung positioniert wurde, durchgeführt, während die z -Richtung über die IR-Karte kontrollierbar war.

Trotz weiterer Bemühungen wurde bisher kein erfolgreicher Lichtübertrag von gelinster Faser zum Chip-Barren und vom Barren zum Detektor realisiert, sodass die Experimente vorzeitig gestoppt wurden. Obwohl erfolgreiche Versuche mit ähnlichen Aufbauten, wie sie in **Abb. 4.11** beschrieben sind, durchgeführt worden sind. In diesen Aufbauten wurde ebenfalls jeweils ein TLS, der im NIR-Bereich Licht aussendet, verwendet. Außerdem wurde ein Polarisator vor der Einkopplung in den Wellenleiter und ein Photodetektor, wobei das Licht direkt von der nach dem Wellenleiter vorhandenen Sammellinse zum Detektor geführt wurde und nicht erst noch in eine Faser gesammelt worden ist, eingesetzt [108, 114]. Dass man das Licht auch wieder direkt in eine zweite gelinste Faser einfangen kann oder von einer Sammellinse in eine Faser, wie in **Abb. 4.10** und **Abb. 4.11** gezeigt, ist in der Literatur ebenfalls erfolgreich getestet worden [115, 116]. Des Weiteren verwendeten S. Mandal et al. 2008 [108] einen sehr ähnlichen Aufbau des Chips mit seinen an den Kanten verengten Wellenleitern und dem Versatz der Wellenleiterenden, wie sie in **Abb. 4.9** skizziert sind. Alternativ sind in der Literatur auch einige Unterschiede in den apparativen Aufbauten zu finden, die den Ein- und Auskopplungsvorgang im vorhandenen Aufbau bei etwaigen zukünftigen Experimenten erleichtern könnten. M. G. Scullion et al. benutzten 2011 u. a. noch eine IR-Kamera, anstelle eines Justageelements bzw. einer IR-Karte, oberhalb der Chip-Halterung, um das Ein- und Auskoppeln des Laserlichtes zu beobachten [116]. Außerdem wurde mehrmals ein zweiter Polarisator eingesetzt, um nur eine Polarisationsrichtung zum Detektor zu führen [108, 117, 118]. Des Weiteren benutzte J. García Costelló 2014 für den in seiner Dissertation verwendeten Aufbau ein piezoelektrischen Regler, wodurch es ihm möglich war bis auf 20 nm genau die gelinste Faser zu positionieren [118]. Auch am Chip selbst könnte man noch Veränderungen durchführen. J. García Costelló schrieb in seiner Dissertation, dass es besser sei eine etwa gleiche Dimension zwischen gelinster Faser und Wellenleiterende zu verwenden. In seiner Chip-Konfiguration waren die Wellenleiterende auf etwa 3 μm verbreitert. Diese Mehrmodenwellenleiter wurden aber anschließend wieder zu der normalen Dimension von 450 nm Breite verengt, sodass dann nur eine einzelne Mode geführt worden ist [118].

4.3 Biosensorkonzept II

Im Folgenden soll das Funktionsprinzip der in dieser Arbeit präsentierten Biosensoren basierend auf der FBG-Technik erläutert werden. Im „normalen“ Zustand reflektiert bzw. transmittiert die optische Faser das eingekoppelte Licht ohne Veränderung (**Abb. 4.12a**), sodass die Faser in dieser Konfiguration nicht als Sensor geeignet war. Hier wird nur das Reflexionsspektrum betrachtet, da in dieser Arbeit fast ausschließlich bei Verwendung einer optischen Faser im Reflexionsmodus gearbeitet worden ist. Des Weiteren ist das Verhalten im Transmissionsspektrum analog. Ein FBG in der Faser sorgte nun dafür, dass ein messbares Signal im Reflexionsspektrum vorhanden war (**Abb. 4.12b**). FBG in dieser Arbeit wurden mit der ULI-Methode hergestellt (siehe **Kap. 2.1.3.4** und **Kap. 3.3.3**). Bei den hier geschriebenen FBG handelte es sich um Gitter 2. Ordnung. Doch zeigen FBG, die mit f_s -gepulsten Laserstrahlen mit einer Wellenlänge im NIR-Bereich, Kopplungen zu diversen Mantelmoden [56, 119]. Diese Modenkopplungen sind im Spektrum im

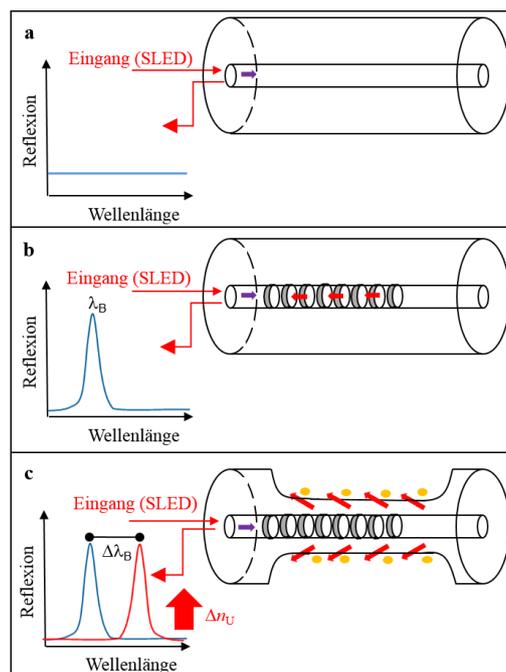


Abbildung 4.12: Die Abbildungen zeigen die Grundkomponenten des Biosensorelements basierend auf einer optischen Faser mit Reflexionsspektrum (links). (a) Unbehandeltes Arrangement, sodass in diesem Fall keine Sensoreignung vorhanden ist. (b) Optische Faser mit FBG erzeugt Signal im Reflexionsspektrum. (c) Änderung von n_U durch Anlagerung eines Analyten sorgt für spektrale Verschiebung der Resonanzwellenlänge (Signal). Blaue Kurve zeigt Spektrum für $\Delta n_U = 0$ an. Die rote Kurve zeigt die spektrale Verschiebung der Resonanzwellenlänge bei $n_U > 0$ an. Die roten Pfeile und die gelben Punkte deuten eine evaneszente Interaktion bzw. den Analyten an, verändert nach [25].

Vergleich zum Resonanzsignal in einem weiten Spektralbereich bei kürzeren Wellenlängen sichtbar. Da diese Signale aber eine relativ geringe Intensität besitzen, waren sie im weiteren Verlauf, aufgrund des in **Kap. 3.3.4** erwähnten zusätzlichen Analysenprogramms, in den aufgenommenen Spektren ($\Delta\lambda_B - t$ -Kurven) nicht mehr erkennbar. Beim FBG ist ein evaneszentes Koppeln im unbehandelten Faserzustand normalerweise nicht möglich, da b größer ist als die Eindringtiefe (d_p) des evaneszenten Feldes. Möglich ist es beispielsweise dann, wenn exzentrische FBG in Kombination mit SPR verwendet werden [120]. Exzentrische FBG sind solche, die an der Kern-Mantel-Grenzfläche geschrieben werden.

Dennoch kann ein FBG in der Faser bereits im ungeätzten Zustand (**Abb. 4.12b**) als „physikalischer Sensor“ verwendet werden. Wie die **Abb. 4.13** zeigt, verändert sich λ_B beim Einwirken von äußeren physikalischen Einflüssen (Temperatur ϑ und Dehnung) auf die Faser. Auch Biegeprozesse beeinflussen die Position von λ_B im Spektrum, mit gewollten (FBG-Waage) bzw. ungewollten Effekten (siehe **Kap. 3.3.9**). In diesen Fällen veränderten sich Λ_{FBG} und damit auch n_{eff} vom FBG. Sowohl in **Abb. 4.13a** als auch in **Abb. 4.13b** erkennt man, dass sowohl bei einem Temperatureinfluss als auch bei einer Faserdehnung in longitudinaler Richtung eine simultane Reaktion des Sensors auf den physikalischen Einfluss erfolgt, sodass diese Technik hervorragend als physikalischer Sensor fungieren kann. FBG wurden versuchsweise daher bereits für die Überwachung von Krafteinwirkungen auf Brücken [121] und Windenergieanlagen [99, 122] getestet. Für die Verwendung als Biosensor bedarf es aber einer Kopplung zwischen dem Licht innerhalb der Faser mit n_U . Dafür musste b beispielsweise durch das Ätzen mit HF minimiert werden [123]. Eine Änderung von n_U , wie z. B. durch die Anlagerung des Analyten (gelbe Flächen

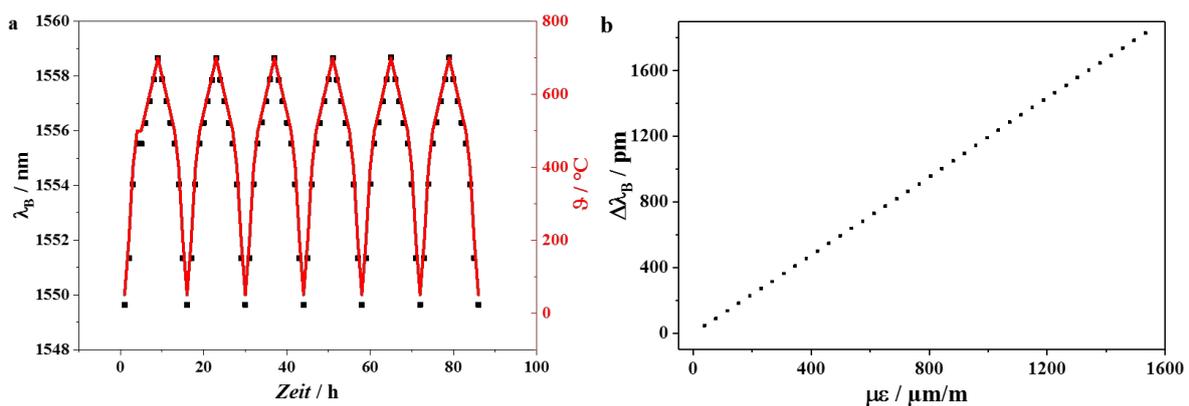


Abbildung 4.13: Die Abbildungen zeigen die Änderung von λ_B eines FBG bei (a) Einfluss einer äußeren Temperatur im Bereich von $\vartheta = 25 - 700^\circ\text{C}$ und bei (b) Einfluss einer äußeren Krafteinwirkung auf die Faser in longitudinaler Richtung. Bei beiden Graphen handelt es sich um Originaldaten aus im Institut durchgeführten Bachelorarbeiten, verändert nach (a) [124] und nach (b) [125].

in **Abb. 4.12c**) führt in diesem System zu einer Verschiebung der Resonanzwellenlänge ($\Delta\lambda_B$), wodurch das System dann für biochemische Anwendungen geeignet sind.

Aufgrund der Faserpräparierung, d. h. Verwendung von FBG, die mit der ULI-Methode hergestellt worden sind, und dem Faserätzen ergaben sich mehrere potentielle Konflikte bei der Entwicklung eines Biosensors. Bei den potentiellen Konflikten handelt es sich um die mechanische Fragilität, die Einflüsse von physikalischen Parametern und die Einflüsse der Polarisation auf die Messergebnisse. Mit der mechanischen Fragilität ist die Anfälligkeit der optischen Faser gegenüber äußeren Krafteinwirkungen gemeint. Die geätzten Fasern zeigten bei seitlichen Krafteinwirkungen, die senkrecht auf die Faserachse wirkten, eine relative Resistenz. Kräfte, die longitudinal auf die Faser einwirkten, führten dagegen schnell zum Bruch. Dies wurde minimiert, indem die Fasern auf Plastikstäbchen fixiert worden sind, sodass die Fasern lediglich seitlich bewegt werden konnten. Wie in **Kap. 3.3.3** bereits erwähnt worden ist, waren pro Faser immer zwei FBG vorhanden. Das zweite Gitter diente zur Erkenntnis, ob ein $\Delta\lambda_B$ von einem äußeren physikalischen Einfluss herrührt oder nicht. Anhand von **Abb. 4.14** ist erkennbar, dass der Einfluss der Umgebungstemperatur während der einzelnen Messungen mit maximalen Werten im Bereich von $\Delta\lambda_B \approx 5$ pm sehr gering war, sodass er vernachlässigt werden konnte, da er im Bereich der Auflösung des zusätzlichen Analysenprogramms lag ($\Delta\lambda_{\text{fit}}$). A. Martínez et al. wiesen bereits 2004 [56] auf die FBG-Polarisationsabhängigkeit hin. D. h., dass Biegungen der Fasern nicht nur n_{eff} [37] sondern auch die Polarisations Ebenen des Lichtes ändern. Eine Änderung der Polarisation führt bei FBG zu Doppelbrechungen (Δn_B). Die ULI-Technik

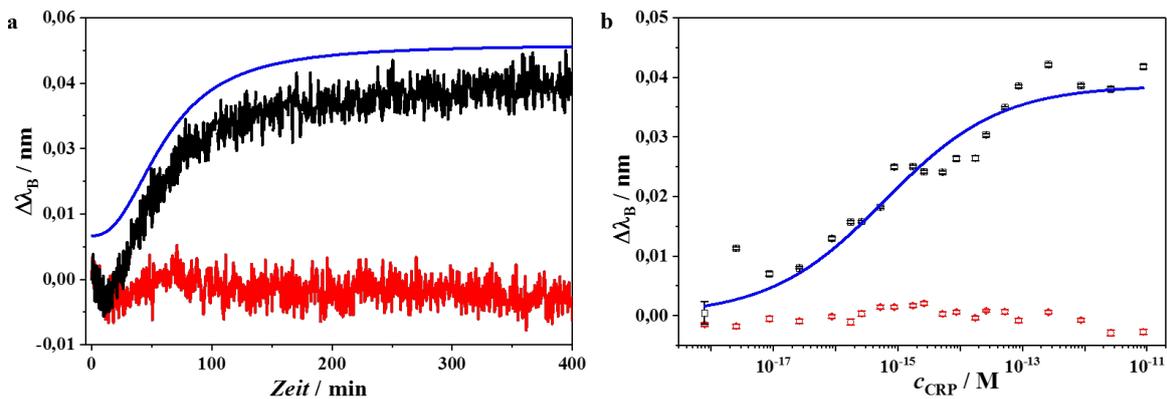


Abbildung 4.14: Die Abbildungen zeigen den Einfluss der Temperatur auf die Messergebnisse anhand von einer Beispielmessung, während (a) einer Biofunktionalisierung mit GOPTS und (b) einer GOPTS-funktionalisierten Faser bei der Messung verschiedener CRP-Konzentrationen. Die schwarzen Messkurven zeigen die Veränderung von $\Delta\lambda_B$ des Messgitters und die roten Messkurven stellen die jeweiligen $\Delta\lambda_B$ -Änderungen der Referenzgitter dar. Die blauen Kurven sind die jeweiligen nach **Kap. 4.9** nicht linearen Anpassungen (siehe **Kap. 4.5.2**). Die Werte der nicht linearen Anpassung in a wurden zur besseren Übersicht mit 0,01 aufsummiert.

produziert u. a. ellipsoidale Hohlräume innerhalb des Faserkerns (**Abb. 4.15**). Dies hat zur Folge, dass eine Veränderung der Polarisations Ebene zu einer spektralen Verschiebung führt (Doppelbrechung) mit:

$$\Delta n_B = \frac{\Delta\lambda}{\Lambda_{\text{FBG}}}, \quad (4.1)$$

mit $\Delta\lambda$ als der Differenz zwischen dem kürzeren Wellenlängensignal (λ_s) und dem höheren Wellenlängensignal (λ_l) und Λ_{FBG} als die FBG-Gitterperiode. λ_s entspricht der Wellenlänge beim Polarisationszustand, der senkrecht zur Schreibrichtung liegt, und die Wellenlänge λ_l für den, der parallel zur Schreibrichtung liegt, da in diesem Fall gilt, dass $n_{\text{eff},l} > n_{\text{eff},s}$ (**Abb. 4.15b**). Das bedeutet auch, dass n_{eff} des Hohlraumes geringer ist, als der des umgebenden Kernmaterials. Eine weitere Folge ist, dass die Energie der Mode vom Kernzentrum verschoben wird, sodass diese dann mehr in den Mantelbereich eindringt, was zur Kopplung mit Mantelmoden führt. Auch der verdichtete Bereich um den Hohlraum beeinflusst die Doppelbrechung. Mit ansteigender Größe und n -Differenz nimmt die Doppelbrechung zu [106]. Zur Minimierung von Verschiebungen von $\Delta\lambda_B$ aufgrund von veränderter Polarisation (Doppelbrechung) wurden die Fasern deshalb während der einzelnen Funktionalisierungsschritte und CRP-Messreihen am Labortisch fixiert, sodass Faserbewegungen auf ein Minimum reduziert worden sind. Lediglich die Faserspitzen waren unter normalen Umständen beweglich, damit sie für die einzelnen Schritte verwendet werden konnten. Mit normalen Umständen ist gemeint, dass es Bewegungen aufgrund von geringe Vibrationen am Messplatz gab, welche aber bei der Anpassungsgenauigkeit berücksichtigt worden sind. Bewegungen des ganzen Systems waren dagegen deutlich im

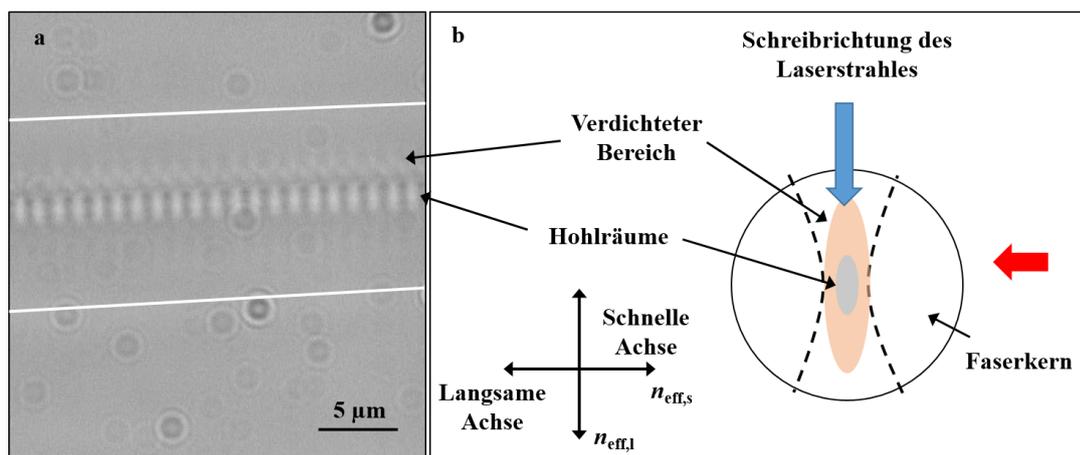


Abbildung 4.15: (a) Mikroskopische Aufnahme eines Abschnittes eines mit fs -Pulsen geschriebenen Gitters im Faserkern. Die weißen Linien stellen die Kern-Mantel-Grenzfläche dar. (b) Schematische Darstellung eines Gitterpunktes innerhalb eines FBG, verändert nach [106]. Der rote Pfeil zeigt die Blickrichtung auf die Gitterstruktur in a im Vergleich zur räumlichen Orientierung der schematischen Darstellung.

Spektrum als $\Delta\lambda_B$ -Sprünge erkennbar und wurden analog zu **Kap. 3.3.9.1** korrigiert.

In den folgenden Abschnitten werden nun die Arbeiten, die während der Faserpräparierung notwendig waren und die für die Entwicklung der eFBG-Biosensoren durchgeführt worden sind, präsentiert. Dies umfasst sowohl den Schreib- und Ätzprozess als auch die Biofunktionalisierungs- und Validierungsschritte.

4.4 Faserpräparierung

4.4.1 Charakterisierung des Schreibverfahrens

Mit der Verwendung der ULI-Technik zur FBG-Herstellung werden nur im Kern lokalisierte n -Änderung erreicht, wohingegen bei der Phasenmaskenmethode eine entlang des gesamten Querschnitts aufgrund des Interferenzmusters der Phasenmaske zu sehen wäre (**Kap. 2.1.3**). Ein solches Gitter ist in **Abb. 4.16** gezeigt, wobei hier die Fokusebene entlang der Faserachse verläuft. Die weiß gestrichelten Linien weisen auf die Kern-Mantel-Grenzflächen hin und die schwarzen Pfeile zeigen die Position der Gitterpunkte im Faserkern. Da die n -Änderung nur lokal im Kern ist, bedarf es keiner Vorbehandlung der Faser

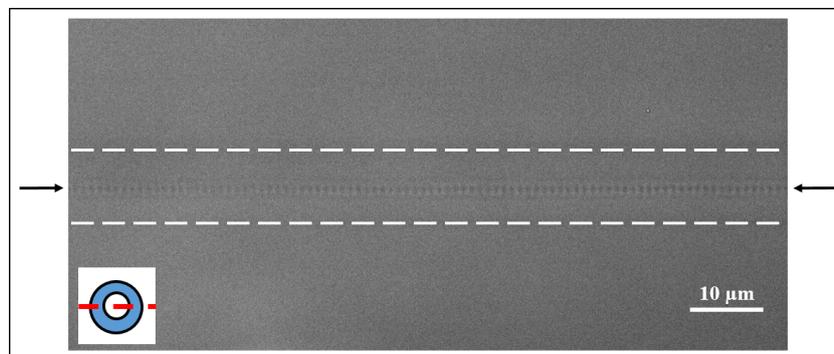


Abbildung 4.16: Die mikroskopische Aufnahme zeigt ein Teilstück eines mit der ULI-Methode geschriebenen FBG. Die schwarzen Pfeile zeigen die Position der einzelnen Gitterpunkte entlang der Faserachse. Die weiß gestrichelten Linien stellen die Kern-Mantel-Grenzflächen dar. Der Einsatz in der linken unteren Hälfte zeigt den optischen Schnitt durch die Faser.

im Vorfeld des Schreibprozesses (**Kap. 2.1.3.1**), wobei aber eine genaue v_t -Kontrolle während des FBG-Schreibens benötigt wird, die teilweise mehrere Sekunden bis Minuten pro Gitter in Anspruch nehmen. Ein Grund ist u. a. dass die Fasern im verwendeten Setup nicht zu hundertprozentig fixiert sind. Im Vergleich zur Phasenmaskenmethode bietet generell die Mikrobearbeitung, zu der die ULI-Methode gehört, den Vorteil, dass man sehr

leicht andere Strukturen schreiben kann [126]. So ist es beispielsweise möglich mehrere FBG nebeneinander zuschreiben, wobei sie keine räumlich Trennung in Bezug zur Entfernung von der Lichtquelle besitzen. Die Gitter würden dann wie in **Abb. 4.17** gezeigt lediglich eine andere Position um den Kern haben und aufgrund verschiedener Schreib-

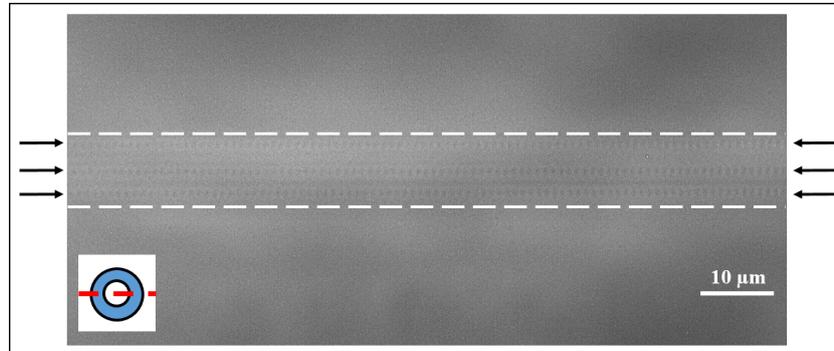


Abbildung 4.17: Die mikroskopische Aufnahme stellt ein Faserteilstück, das drei nebeneinander liegende mit der ULI-Technik geschriebene FBG im Kern enthält, dar. Die Gitter besitzen jeweils verschiedene Gitterperioden, sodass man alle FBG simultan nebeneinander im Spektrum beobachten kann. Die schwarzen Pfeile zeigen die jeweiligen Positionen der einzelnen Gitter entlang der Faserachse an. Die weiß gestrichelten Linien zeigen die Kern-Mantel-Grenzflächen. Der Einsatz in der linken unteren Hälfte zeigt den optischen Schnitt.

geschwindigkeiten kann man trotzdem alle FBG gleichzeitig im Spektrum beobachten (spektrale Trennung). Eine solche Gitteranordnung könnte zum einen verwendet werden, um die generelle Sensitivität zu n_U zu erhöhen, aber auch zum anderen, um Biegeeffekte der Faser anzuzeigen. Dadurch könnte man solche Gitterstrukturen auch für medizinische bzw. biomechanische Zwecke verwenden, wie z.B. im orthopädischen Bereich [127–129]. Des Weiteren kann man mit fs -gepulsten Laserstrahlen neben der Herstellung von Gitterstrukturen beispielsweise auch Wellenleiter- [130–133] oder mikrofluidische Strukturen [134, 135] in Gläser produzieren. Im weiteren Verlauf wurden aber nur Fasern verwendet, die jeweils mit zwei Gittern beschrieben worden sind, die eine räumliche und spektrale Trennung aufwiesen (**Tab. 3.7**). Ein Gitter wurde dann später im weiteren Verlauf biofunktionalisiert und das andere diente als Referenzgitter in den einzelnen Herstellungsschritten der FBG-Biosensoren.

Das Schreiben der verschiedenen Strukturen bedarf einiger Veränderung in den Schreibparametern. Das Realisieren von beispielsweise mikrofluidischen Strukturen ist nur möglich, wenn u. a. die Bewegung des x,y,z-Verschiebetisch so klein ist, dass keine separaten n -Änderung produziert werden, sondern lediglich eine durchgängige. Wie in **Kap. 2.1.3** erwähnt, sind u. a. E_p , τ_p und NA von entscheidender Bedeutung in Bezug auf das makroskopische Erscheinungsbild der n -Modulation. Da sowohl NA als auch meist τ_p systembedingt nicht so einfach verändert werden können, spielt die Energie die wichtigste

Rolle, wenn es um das Aussehen der n -Änderungen geht. Die Energie, mit der die für diese Arbeit geschriebenen FBG produziert worden sind, ist dabei so hoch, dass der Kontakt zwischen den fs -NIR-Pulsen und dem Glasmaterial der optischen Faser zu Hohlräumen führte (**Abb. 4.18**). SEM-Aufnahmen wurden in der Literatur bereits eingesetzt, um eine visuelle Begutachtung von Bearbeitungsschritten durchzuführen. So wurden beispielsweise mit fs -gepulsten Laserstrahlen geschriebene Löcher in Silika-Strukturen [136–138] oder die Beschichtung mit Goldnanopartikel [93, 139] optisch ausgewertet. In den hier gezeigten SEM-Aufnahmen (**Abb. 4.18**) sind die Hohlräume deutlich erkennbar. Bei diesen Fasern handelt es sich um geätzte Fasern, sodass die n -Modulationen bzw. die Hohlräume an der Oberfläche liegen. Weitere SEM-Aufnahmen sind in **Kap. A.4.3** zu finden. Fasern, die bei niedrigeren Energien geschrieben worden, werden hier nicht gezeigt, weil der Schreibprozess auf die Entwicklung des Biosensors orientiert ist. D. h. es wurde so geschrie-

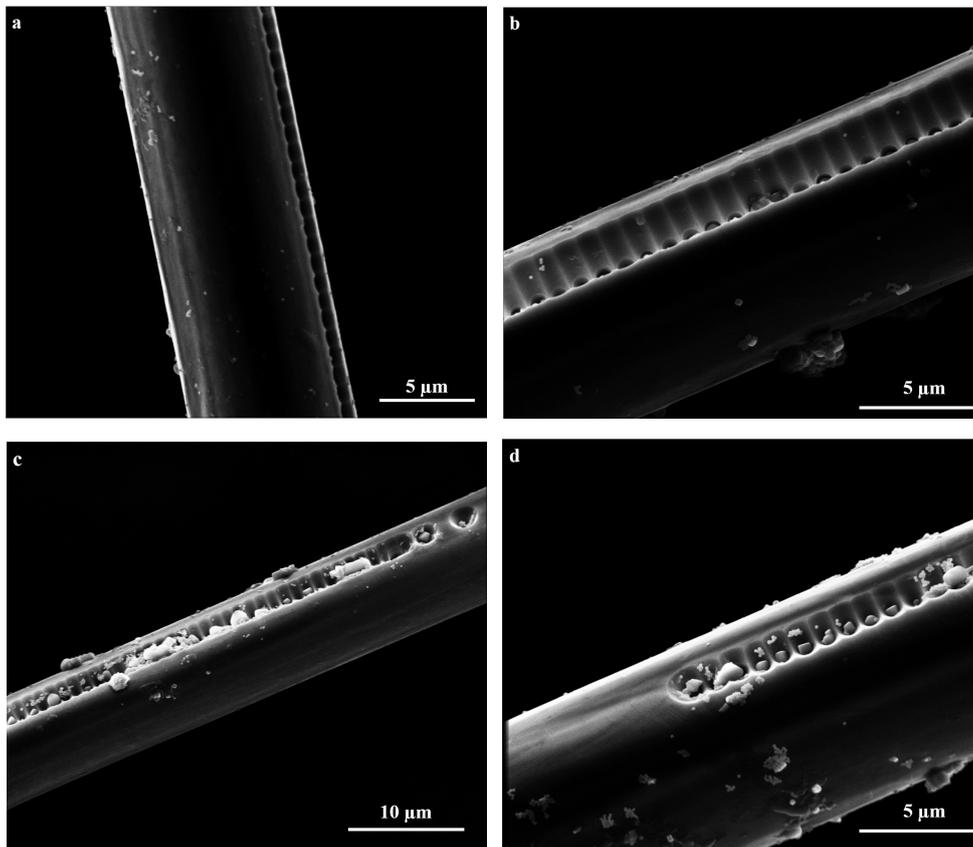


Abbildung 4.18: Die SEM-Aufnahmen a - d zeigen die strukturellen Veränderungen, die durch die fs -Pulse auf die Fasern verursacht worden sind. Die Gitter sind als Hohlraumstrukturen erkennbar. Die Aufnahmen wurden mit Faserspitzen nach der Biofunktionalisierung bzw. nach der CRP-Messung aufgenommen. Bei den hellen rechteckigen Strukturen handelt es sich um kristalline Pufferrückstände, während die runden Strukturen $\text{SiO}_2\text{:Au-NP}$ sind.

ben, dass hohe Reflektivitäten bei relativ schmalen FWHM mit $\text{FWHM} < 1 \text{ nm}$ erreicht wurden. Das Schreiben mit kleineren Energien führte zu geringeren Reflektivitäten. Bei noch höheren Energien konnte auch nicht geschrieben werden, da es dann zur Bildung von „tunnelartigen“ Strukturen kam, was im Spektrum zu Signalen führte, die ebenfalls geringere Reflektivitäten besaßen, aber dafür breitere FWHM aufwiesen. Wie bereits erwähnt, wird während der ULI-Technik eine v_t -Kontrolle des x,y,z,-Verschiebetisches benötigt. Ansonsten würde die FBG-Gitterperiode unregelmäßig werden und/oder die lokalen n -

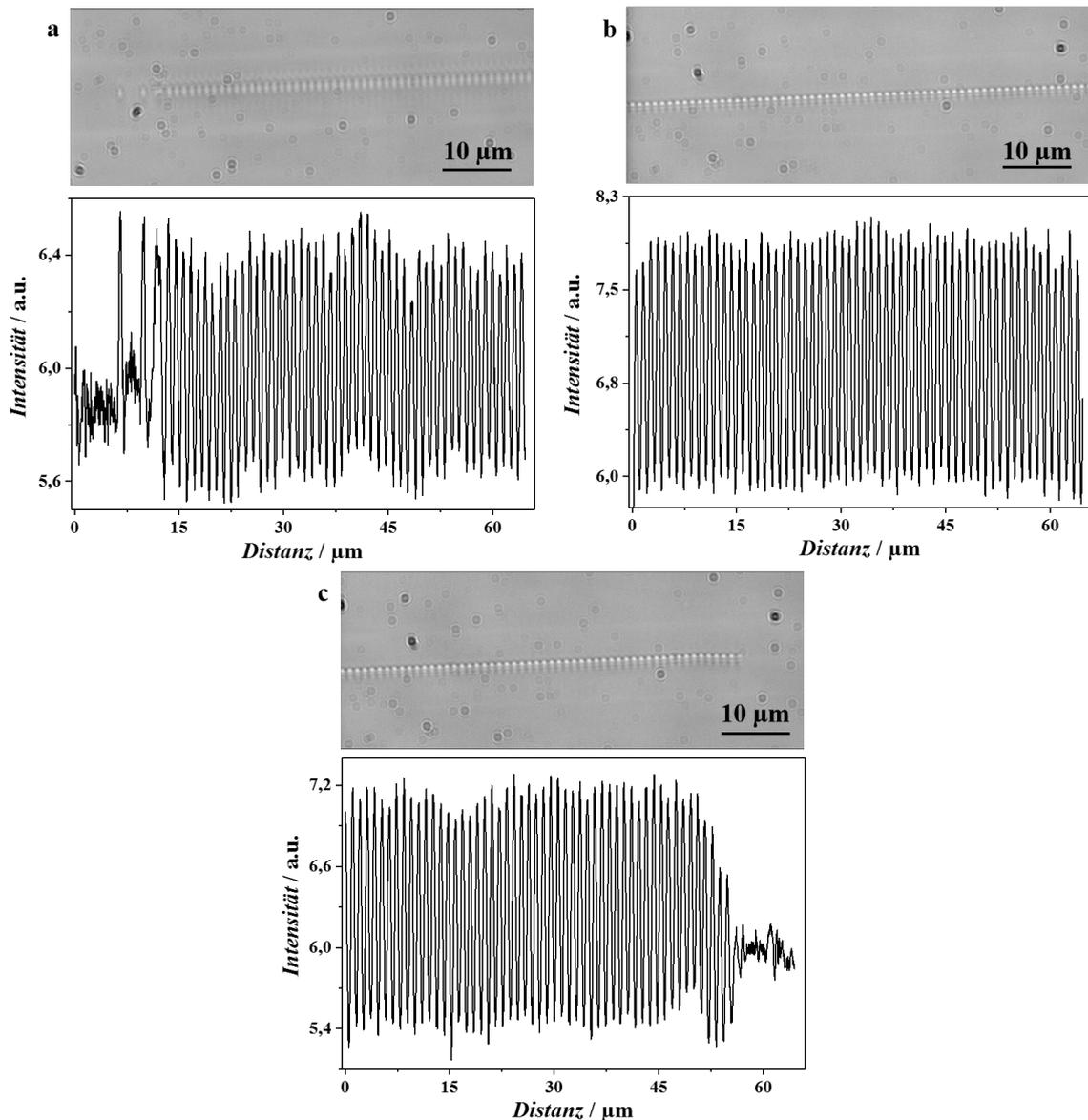


Abbildung 4.19: Mikroskopische Aufnahmen von Abschnitten eines mit fs -Pulsen geschriebenen Gitters im Faserkern. Die dargestellten Kurven unterhalb der jeweiligen Aufnahmen zeigen Intensitätsmessungen der Gitter entlang der Faserachse. (a) Der Startbereich des Gitters (b) ein mittlerer Bereich innerhalb des Gitters und (c) der Endbereich des Gitters.

Änderungen würden teilweise verschiedene Abstände in Bezug zur Faserachse bzw. zur Kern-Mantel-Grenzfläche aufweisen, was zu einer geringeren Reflektivität und einer nicht konstanten S_{eFBG} zu n_{U} führen würde.

Als Kontrollexperiment (**Abb. 4.19**) wurde deswegen die Λ_{FBG} -Homogenität von geschriebenen FBG mittels lichtmikroskopischen Aufnahmen stichpunktartig überprüft. Einen kleinen Abschnitt mit inhomogenen Gitterpunktabständen konnte lediglich in der FBG-Startregion beobachtet werden (**Abb. 4.19a**), wohingegen die mittleren und Endregionen homogen waren (**Abb. 4.19b** und **c**). Die Anpassung der Intensitätsprofile aus **Abb. 4.19** der einzelnen Segmente mit der Sinusfunktion (**Gl. 3.2**) resultierte in Perioden von $\omega = 528,2 - 540,3 \text{ nm}$ mit einem mittleren SE von $\text{SE} = 0,2 \text{ nm}$ ($N = 20$) für die korrespondierenden λ_{B} -Werte im Bereich von $\lambda_{\text{B}} = 1530 - 1565 \text{ nm}$. Die ermittelten ω -Werte der Anpassungsfunktion entsprachen dabei der Hälfte von Λ_{FBG} , wodurch sie beispielsweise eine relative Abweichung vom theoretisch erwarteten Λ_{FBG} -Wert bei $\lambda_{\text{B}} = 1565 \text{ nm}$ von $0,2\%$ ($N = 4$) und bei $\lambda_{\text{B}} = 1560 \text{ nm}$ von $0,1\%$ ($N = 4$) besaßen. Aus diesem Grund konnte man davon ausgehen, dass die mit der ULI-Methode geschriebenen FBG ein sehr homogenes Gitter in Bezug auf dessen Λ_{FBG} innerhalb des Faserkerns aufwiesen.

Der reine Schreibprozess, d. h. der Kontakt zwischen dem Laserstrahl und dem Fasermaterial, dauerte im Allgemeinen rund 30 Sekunden, wobei mit wachsender Zahl an Gitterpunkten die Intensität zunahm (**Abb. 4.20a**). Bei den gezeigten Kurven in **Abb. 4.20** handelt es sich um Originalspektren, welche eine „geringe“ Auflösung von $\Delta\lambda_{\text{sp}} = 0,18 \text{ nm}$ besaßen. Dadurch sahen die Signale relativ unsymmetrisch bzw. uneben aufgrund der wenigen vorhandenen Datenpunkte pro Wellenlängenintervall aus. Des Weiteren erkennt

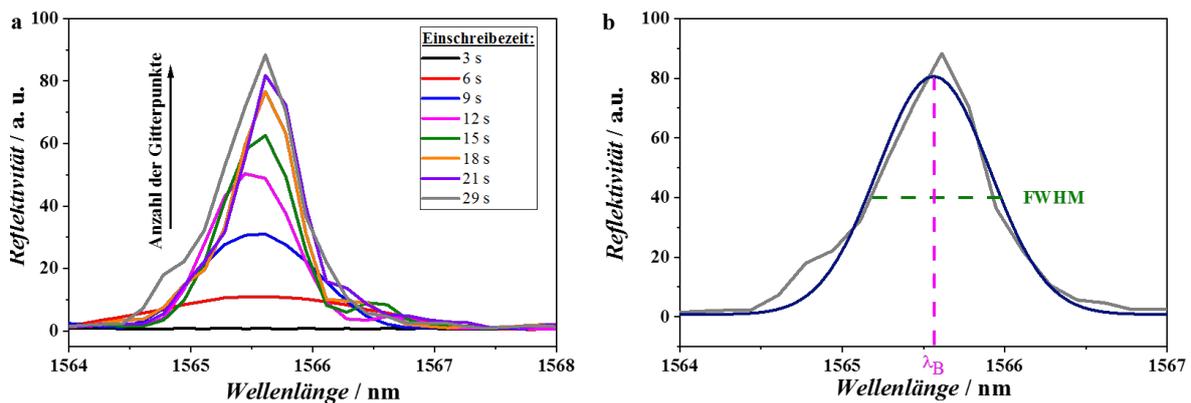


Abbildung 4.20: (a) Reflexionsspektren von λ_{B} mit steigender Anzahl an Gitterpunkten, wodurch die Reflektivität des geschriebenen Gitters, gemessen zu verschiedenen Zeitpunkten während des Einschreibeprozesses mit der ULI-Technik, ansteigt. (b) Das Spektrum zeigt das Reflexionsspektrum nach 29 Sekunden und die entsprechende Kurve, welche mit einer Gauß-Funktion angepasst worden ist. Des Weiteren sind im Spektrum λ_{B} (violett gestrichelte Linie) und FWHM (grün gestrichelte Linie), die sich aus der Anpassung ergeben, gezeigt.

man, dass eine gewisse Reflektivität notwendig war, um das Signal ordnungsgemäß anzupassen. Aus diesem Grund wurde zur Auswertung der Signalparameter das in **Kap. 3.3.4** erwähnte zusätzliche Analysenprogramm verwendet, wodurch die Signale dann einem idealen Gaußprofil entsprachen. Im Endeffekt konnten damit Reaktionen ($\Delta\lambda_B$ über die Zeit) relativ simultan beobachtet werden. Mit FWHM von $\text{FWHM}=(0,81\pm 0,01)$ nm (**Abb. 4.20b**) resultierte der Schreib- und Auswerteprozess außerdem in relativ schmale Reflexionssignale. Für die Ermittlung des Mittelwertes von FWHM wurden insgesamt $N=345$ Gitter ausgewertet, welche über einen Zeitraum von zwölf Monaten geschrieben worden sind. Einige FWHM-Werte aus der Literatur sind in **Tab. 4.1** gelistet. Im Vergleich zu anderen FBG, die mit *fs*-gepulsten Laserstrahlen direkt geschrieben worden sind, sind FBG-FWHM, die während der Promotion geschrieben worden sind, teilweise

Tabelle 4.1: Eine ausgewählte Liste von FWHM-Werte, die in der Literatur zu finden sind.

FWHM in nm	Herstellungsmethode	Quelle
$0,81\pm 0,01$	ULI	eigene Arbeit
2,7	ULI mit UV-Licht	A. Othonos 1997 [26]
0,1 - 0,2	ULI	A. Martínez 2004 [56]
0,55	ULI	C. Liao 2016 [100]
$\approx 0,6$	Phasenmaske	T. M. Libish 2015 [140]
0,05 - 0,3	allgemein	M. M. Werneck 2013 [141]

bis zu 0,7 nm breiter. Aber man erkennt, dass es trotz der gleichen Herstellungsmethode zu FWHM-Unterschieden kam. Wahrscheinlich dürften die Unterschiede in den apparativen Aufbauten zu finden sein bzw. dürfte der jeweilige verwendete P_{av} der Grund für die Unterschiede sein. Die Größe der *n*-Modifikation ist u. a. abhängig von E_p [53, 106]. Die Größe der Modifikation kann auch einen negativen Einfluss auf FWHM haben, wenn sich beispielsweise die *n*-Modifikationen überlappen. Dass es in den vergangenen Jahren eine Entwicklung in der Herstellung von FBG zu beobachten war, könnte man sehen, wenn man die Arbeiten von A. Othonos (1997) und A. Martínez (2004) miteinander vergleicht. Während 1997 die Punkt-für-Punkt-Methode mit UV-Strahlen in FWHM von $\text{FWHM}=2,7$ nm resultierte, wurden im Jahr 2004 mit *fs*-Pulsen im NIR-Bereich FWHM von $\text{FWHM}=0,1-0,2$ nm erreicht. FWHM von FBG, die mit der Phasenmaske und UV-Bestrahlung geschrieben worden sind, befinden sich im selben Bereich, wie die die mit *fs*-NIR-Pulsen geschrieben worden sind. T. M. Libish schrieb 2015 FBG mit FWHM von

FWHM $\approx 0,6$ nm [140]. Im Allgemeinen sind FWHM im Bereich von einigen hundert Pikometern, wobei einige Faktoren diese noch verbreitern können. So sind z. B. FBG-FWHM, geschrieben mit der Phasenmaske, abhängig von der Gitterlänge [43, 141]. Ein weiteres Vergleichskriterium wäre die resultierten Intensitäten bzw. resultierendes SNR der geschriebenen FBG. Den besten SNR-Wert zeigen im Vergleich zu Gitter höherer oder niedrigerer Ordnungen Gitter zweiter Ordnung [56]. Des Weiteren sind die erreichbaren maximalen Intensitäten bei der FBG-Herstellung mit der ULI-Methode wahrscheinlich auch abhängig von den verwendeten Gerätschaften, wie E_p des Lasers, NA des Objektivs und das maximale Sättigungslimit des Spektrometers. So war es beispielsweise möglich mit der ULI-Methode im Vergleich zum in **Kap. 3.3.3** beschriebenen Prozess Signale mit höherer Intensität zu schreiben [93]. Ist z. B. die Sättigung des Detektors erreicht, verbreitern sich die Signale im Spektrum anstatt an Intensität zu zunehmen, sodass der Prozess dann abgebrochen wurde. Ein Intensitätsvergleich mit der Literatur erweist sich als schwierig, da oftmals die Reflektivität nicht prozentual oder über eine Anzahl (in *counts* oder a.u.) angegeben wurde, sondern in logarithmischer Form als L_P (in dBm). Visuell betrachtet scheinen aber FBG, die mit der Phasenmaskenmethode geschrieben worden sind, geringere SNR-Werte zu besitzen als *fs*-geschriebene [140, 142].

Es gab beim vorhandenen Schreibstand, inkl. des verwendeten Lasers, immer wieder kleine auftretende Probleme. Während ein homogenes Λ_{FBG} realisiert werden konnte (**Abb. 4.19**), gab es beispielsweise, wie in **Abb. 4.21a** zu erkennen ist, Abweichungen von $\lambda_{\text{B,soll}}$ zu $\lambda_{\text{B,ist}}$. So gab es je nach Wellenlänge Differenzen zwischen $\lambda_{\text{B,soll}}$ und $\lambda_{\text{B,ist}}$ von $\Delta\lambda_{\text{B}} = 0,63$ -1,26 nm. Bei bestimmten Wellenlängen war die Spanne zwischen

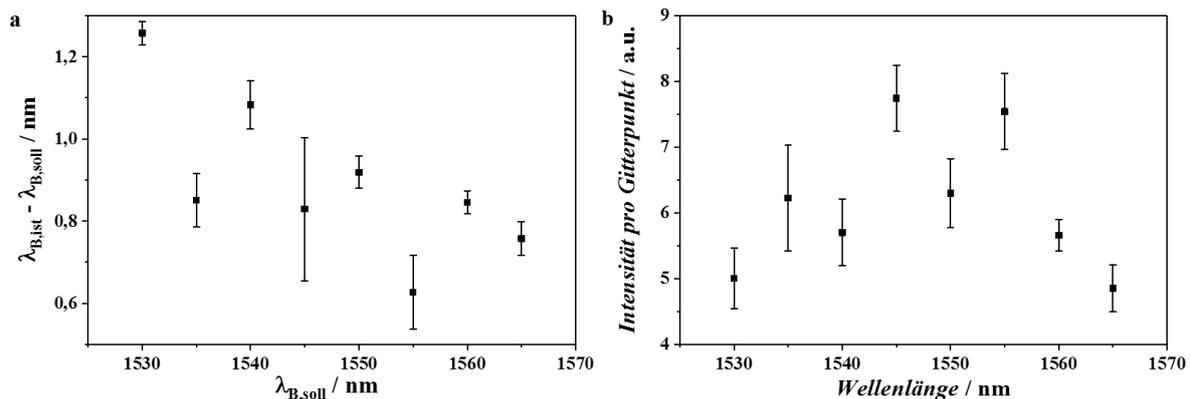


Abbildung 4.21: Die Diagramme zeigen stichpunktartige grafische Darstellungen von (a) der spektralen Abweichung der geschriebenen Signalposition im Spektrum ($\lambda_{\text{B,ist}}$) zur gewünschten spektralen Position ($\lambda_{\text{B,soll}}$) mit $N_{\text{Gesamt}} = 54$, wobei pro $\lambda_{\text{B,soll}}$ eine Stichprobe von $N = 6$ -7 vorlag. Des Weiteren zeigt (b) eine stichpunktartige grafische Darstellung der erreichten Intensität des Signals pro geschriebenen Gitterpunkt in Abhängigkeit von $\lambda_{\text{B,soll}}$ mit $N_{\text{Gesamt}} = 72$, wobei pro $\lambda_{\text{B,soll}}$ eine verschiedene Anzahl an Stichproben von $N = 6$ -18 vorlag.

den einzelnen Differenzen ($N = 6-7$) wie z. B. bei $\lambda_B = 1545$ nm mit $SE \approx \pm 0,17$ nm relativ groß und bei anderen dagegen beispielsweise bei $\lambda_B = 1560$ nm mit $SE \approx \pm 0,03$ nm im Vergleich dazu klein. Dies erklärt auch die prozentuale Abweichung vom errechneten Λ_{FBG} -Wert aus dem Kontrollexperiment und der theoretischen, die zu $\lambda_{B,\text{soll}}$ führen würde. Des Weiteren wurde wie oben beschrieben versucht FBG mit hoher Reflektivität zu schreiben. Dies hatte zur Folge, dass die einzelnen Gitter nicht immer dieselbe maximale Gitterlänge von $\approx 2,7$ mm besaßen. Man sieht in **Abb. 4.21b**, dass die erzielte Intensität pro Gitterpunkt ebenfalls von λ_B zu λ_B unterschiedlich war. Das bedeutet, dass bei relativ konstant erreichten Reflektivitäten, die Gitterlänge zwischen den einzelnen FBG variierte. Die Intensität pro Gitterpunkt lag im gesamten Bereich zwischen $5,0 \pm 0,5$ a.u. und $7,7 \pm 0,5$ a.u.. Gründe für die Beobachtungen (**Abb. 4.21**) dürften hauptsächlich beim Aufbau zu finden sein. Im Laufe der Experimente kam es beispielsweise zu gewissen Leistungsschwankungen beim Laser, wodurch die Intensität pro Gitterpunkt von Tag zu Tag variieren konnte. Die Schwankungen konnten auch nicht durch den Einsatz eines zusätzlichen Filtrerrades, welche die transmittierte Leistung veränderte, komplett ausgeglichen werden, da es beispielsweise auch innerhalb eines Tages zu Leistungsschwankungen kam. Des Weiteren könnten auch beim Schreibstand Fehlerquellen zu finden sein, da wären z. B. der Einsatz des Objektträgers und der Magnete zur Faserfixierung zu nennen. Der Objektträger sorgte zwar für Vermeidung von zylindrischen Linseneffekten, aber mit der Zeit wurde sein Material durch den Laser beeinflusst, sodass es zu Energieverlusten am Fokuspunkt des Laserstrahles kam. Die Magnete fixierten zwar die Metallschienen und damit auch die Faser, dennoch waren die Fasern im Immersionsölfilm in einem gewissen Maße beweglich, sodass es auch vorkam, dass sich die Faser geringfügig während des Schreibprozesses bewegte. In der Folge konnte die Reflektivität von Gitter zu Gitter variieren, da die Gitterposition im Faserkern einen Einfluss auf die Reflektivität hat. Je größer die Abweichung von einer zentralen Position ist, desto geringer ist die Kopplung zur Kernmode [106] und je größer ist dementsprechend die Kopplung zu Mantelmoden [119]. Auch die Größe der geschriebenen Struktur beeinflusst die Kopplung, d. h. größere Strukturen führen vermehrt zu Kopplungen mit Mantelmoden [119]. Des Weiteren würde sich damit auch n des verdichteten Bereiches um die geschriebene Struktur ebenfalls erhöhen. Eine Folge wäre u. a., dass ein Transmissionsspektrum von FBG dem von tFBG gleichen würde [143]. Des Weiteren wurde die Position der Faser auf dem x,y,z-Verschiebetisch manuell verändert, mit der Folge, dass die Menge des Immersionsöl unterhalb des Objektträgers veränderte. Es wurde zwar regelmäßig Öl nachgegeben, trotzdem kam es zur Luftblasenbildung. Die Luftblasen hatten je nach Größe unterschiedlichen Einfluss auf den Schreibprozess. Großtechnisch ist es aber möglich FBG mit einer gewünschten Reflektivität und Gitter-

länge zu schreiben, z. B. bei einer vollautomatischen Herstellung unter Verwendung einer Durchflusszelle, in der das Ölvolumen konstant bleibt.

4.4.2 Berechnung der Eindringtiefe der evaneszenten Welle

Ein wichtiger Parameter von FOB, die auf einer refraktometrischen Detektionsmethode und auf die FBG-Technik beruhen, ist d_p des evaneszenten Feldes in das faserumgebende Medium. Für Werte von n_U mit $n_U = 1,333$ ist die Kernmode hauptsächlich im Kern gebunden und verfügt daher nur über ein geringes evaneszentes Feld im Gebiet mit niedrigeren n , sodass S_{eFBG} in Abhängigkeit von Δn_U ebenfalls klein ist. Die Kernmode wird immer weniger im Kern gebunden, wenn sich n_U zu Werten nahe n_K mit $n_U \rightarrow 1,45$ nähert. Daher wird das evaneszente Feld im größer. Die Folge daraus ist, dass S_{eFBG} in Abhängigkeit von Δn_U ebenfalls ansteigt [144]. d_p hat einen Einfluss auf n_{eff} , welcher bei einer Veränderung zu einer λ_B -Änderung führt (**Kap. 2.1.2**). Zusammengefasst kann man sagen, dass n_{eff} proportional zu n_0 der Region ist, in dem Licht existiert, gewichtet nach dem lokalen Intensitätsprofil [145]. D. h., verändert sich d_p , dann variiert auch der Bereich, in dem Licht existiert und damit auch n_{eff} . In diesem Abschnitt wird d_p einer optischen Faser mit einigen Annahmen theoretisch für verschiedene n_U -Werte berechnet. d_p lässt sich, wie in **Kap. A.2** hergeleitet, abgeleitet von **Gl. A.24** berechnen mit:

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi \sqrt{[n_K^2 \sin^2 \theta - n_M^2]}}, \quad (4.2)$$

wobei θ der Einfallswinkel der elektromagnetischen Welle auf die Kern-Mantel-Grenzfläche, n_K und n_M die Brechungsindizes des Faserkerns bzw. des Mantels sind. Für geätzte Fasern kann man anstatt n_M auch n_U schreiben, unter der Bedingung (*Annahme 1*), dass der Mantel vollständig beim Ätzzvorgang entfernt worden ist ($r = a$). Im Allgemeinen ist d_p definiert als die Wegstrecke des evaneszenten Feld von der Kern-Mantel-Grenzfläche in das Medium mit niedrigeren n , bei dem die anfängliche Intensität der evaneszenten Welle auf einen Wert von $1/e$ abgesunken ist [146]. Für die Berechnung wurde angenommen, dass der Mantel aus reinem SiO_2 besteht (*Annahme 2*). Dieser Wert wurde mit Hilfe der Sellmeier-Gleichung (**Gl. A.11**) [148] und den 1965 von I. H. Malitson ermittelten experimentellen Daten für reines SiO_2 in verschiedenen optischen Fasern [147] bestimmt (**Abb. 4.22b**). Zu Beginn wurde n_K berechnet, dafür wurde der vom Datenblatt entnommene Wert des relativen Kern-Mantel-Index von $\Delta = 0,36\%$ verwendet [22]. Nach **Gl. 2.9** ergibt sich n_K

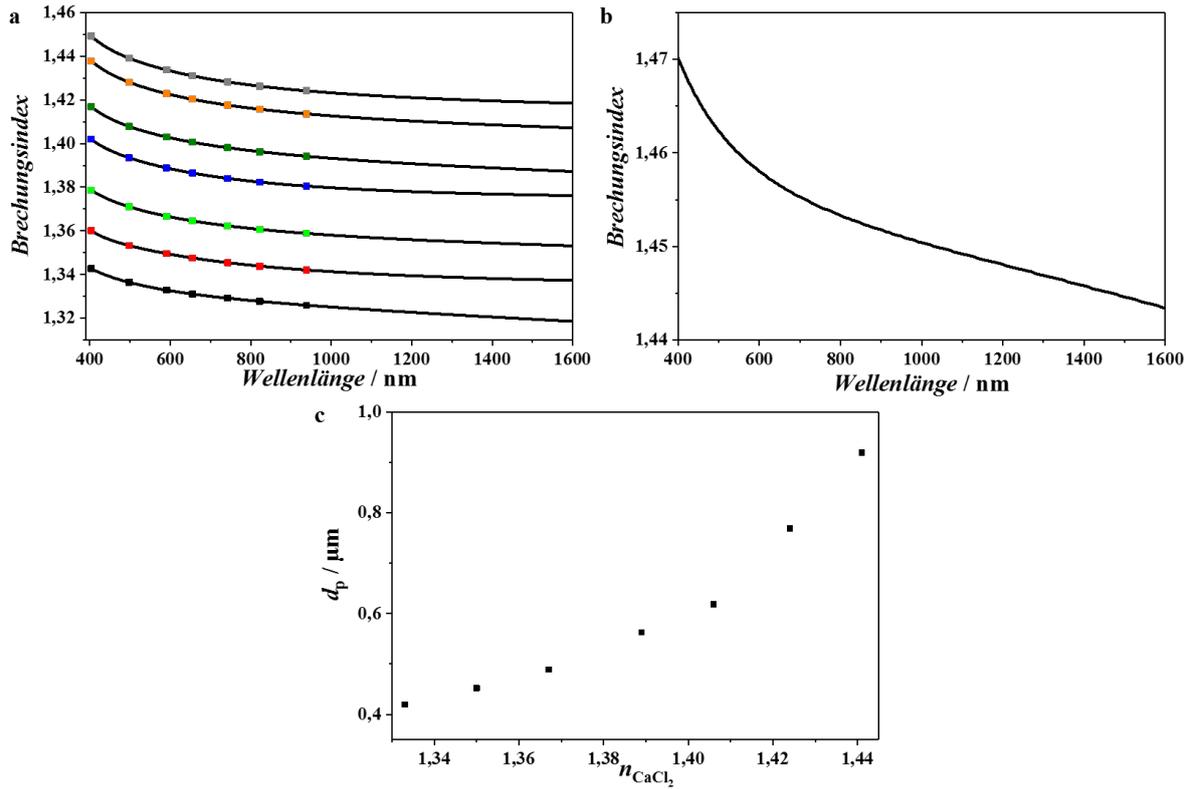


Abbildung 4.22: Die Diagramme zeigen Kurven zur Berechnung von verschiedenen d_p -Werten. (a) Auftragung der Brechungsindizes verschiedener CaCl_2 -Lösungen in Abhängigkeit der Wellenlänge im Bereich von $\lambda = 400 - 900\text{nm}$ und eine Interpolierung im Wellenlängenbereich $\lambda = 400 - 1600\text{nm}$, angepasst mit **Gl. A.10**. (b) Auftragung von n_{SiO_2} von reinem SiO_2 in Abhängigkeit der Wellenlänge im Bereich $\lambda = 400 - 1600\text{nm}$ nach [147]. (c) Ermitteltes d_p gegen die der zur Berechnung verwendeten Brechungsindizes. Für die Berechnung wurden die Brechungsindizes bei $\lambda = 1550\text{nm}$ verwendet. Bei der Auftragung im Diagramm sind zur besseren Vergleichbarkeit die entsprechenden Werte für die Natrium-D-Linie aus **Tab. 3.2** gezeigt.

aus:

$$n_K = \frac{n_M}{(1 - \Delta)} \quad (4.3)$$

Für $\lambda = 1550\text{nm}$ ergaben sich daraus Werte für den Kern von $n_K = 1,4492$ und für den Mantel von $n_M = 1,4440$. n_{CaCl_2} -Werte der verschiedenen Lösungen wurden bestimmt, indem die jeweiligen Lösungen im Wellenlängenbereich von $\lambda = 403 - 938\text{nm}$ vermessen worden sind. Anschließend wurden die Messkurven mit **Gl. A.10**, bei dem nach dem zweiten Glied der Taylor-Reihe abgebrochen worden ist, bis zu einer Wellenlänge von $\lambda = 1600\text{nm}$ interpoliert (**Abb. 4.22a**). Obwohl die Werte bei $\lambda = 1600\text{nm}$ fehlerbehaftet worden sind, wurden sie für weitere Berechnungen verwendet. Des Weiteren wurde angenommen, dass die Abstände zwischen den n_{CaCl_2} -Werten unabhängig von λ sind (*Annahme 3*) [149]. Für das Vorhandensein von „innerer“ Totalreflexion muss nach **Gl. A.20** gelten, dass $\theta > \theta_c$

ist. Der aus n_K und n_M für eine ungeätzte Faser ermittelte θ_c -Wert bei $\lambda = 1550$ nm ist $\theta_c = 85,14^\circ$. θ_c -Werte für die einzelnen CaCl_2 -Lösungen liegen im Bereich von $\theta_c = 65,53 - 78,28^\circ$ für n_U -Werte von $n_U = 1,32 - 1,42$. Aus diesem Grund wird für alle Lösungen mit einem $\theta = 85,20^\circ$ gerechnet (*Annahme 4*). Am Ende ergeben sich d_p -Werte, welche nicht linear ansteigen, von $d_p = 0,420 - 0,920$ μm (**Abb. 4.22c**). Der maximale d_p -Wert wird theoretisch erreicht, wenn $n_U = n_K$ [25]. Alle Ergebnisse der einzelnen CaCl_2 -Lösungen sind in **Tab. 4.2** noch einmal zusammengefasst.

Tabelle 4.2: Auflistung der Ergebnisse zur Berechnung von d_p bei $\lambda = 1550$ nm mit den Zwischenergebnissen aus der Ermittlung von n_K , n_U und θ_c .

n_K	Umgebung	n_U	θ_c	d_p in μm
1,4492	$w(\text{CaCl}_2) = 40\%$	1,419	78,28	0,920
	$w(\text{CaCl}_2) = 34\%$	1,408	76,31	0,769
	$w(\text{CaCl}_2) = 28\%$	1,388	73,29	0,619
	$w(\text{CaCl}_2) = 22\%$	1,376	71,71	0,563
	$w(\text{CaCl}_2) = 14\%$	1,353	69,01	0,489
	$w(\text{CaCl}_2) = 7\%$	1,337	67,31	0,452
	$w(\text{CaCl}_2) = 0\%$	1,319	65,53	0,420

4.4.3 Faserätzen

Zum Entfernen des Mantels von mit FBG-beschriebenen Fasern wurde das nasse Ätzen mit HF verwendet. Es ist eine lang bekannte Methode, um den Faserdurchmesser zu reduzieren bzw. den Fasermantel zu entfernen [140, 150–153]. Die Ätzprozeduren unterschieden sich teilweise aber von Durchführung zu Durchführung, so wurden beispielsweise verschiedenen konzentrierte Säuren im Bereich von $w(\text{HF}) = 40 - 50\%$ eingesetzt. Die hier präsentierte Ätzprozedur gliederte sich in drei Abschnitte, dem Ätzen mit $w(\text{HF}) = 40\%$ iger Säure (1), mit $w(\text{HF}) = 20\%$ iger Säure (2) und der S_{eFBG} -Messung mit verschiedenen CaCl_2 -Lösungen (3). Der Grund für diese Durchführung war zum einen das schnelle Ätzen zu Beginn der Reaktion und zum anderen die Möglichkeit der Faserentfernung bei einer gewünschten Bragg-Wellenlängenverschiebung ($\Delta\lambda_B$). Der Ätzvorgang musste simultan beobachtet werden, um den Prozess sofort nach Erreichen eines erwarteten Faserdurchmessers und vor dem kompletten Ätzen der Faser zu stoppen. Der vermutete

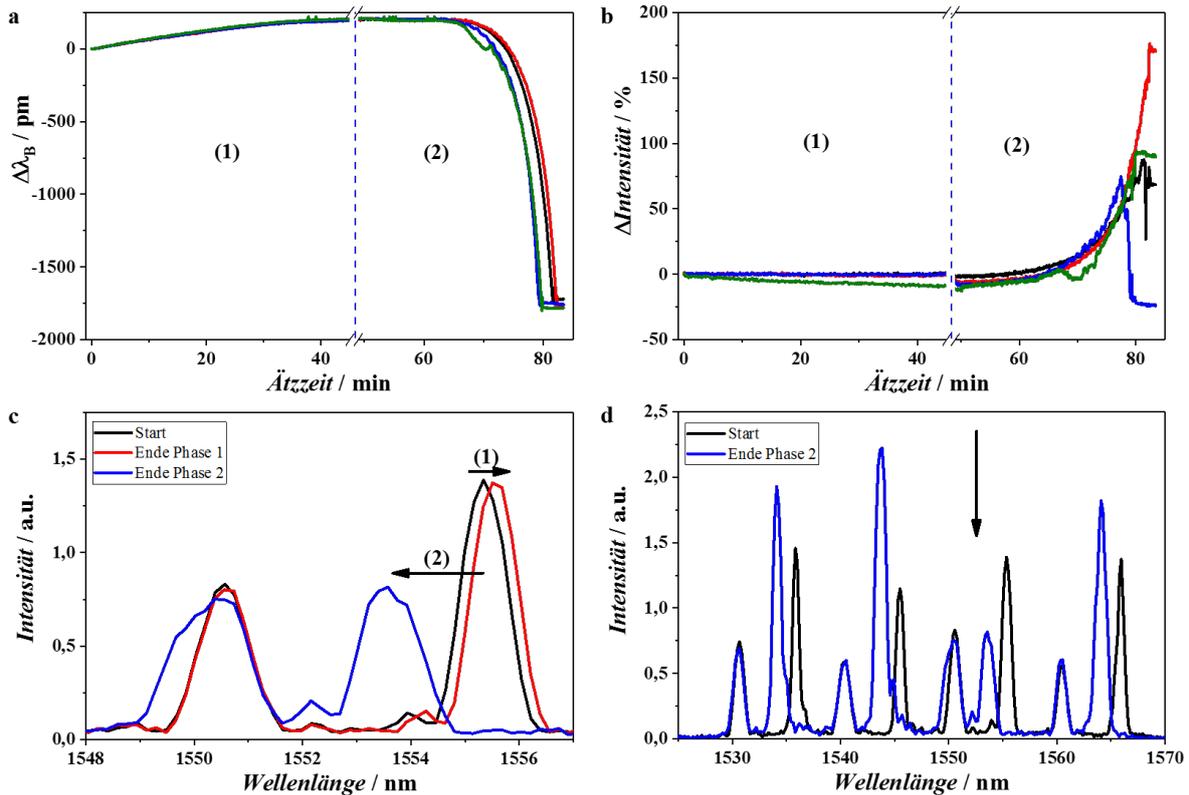


Abbildung 4.23: Messdaten aus dem Ätzvorgang von FBG. Auftragung der (a) $\Delta\lambda_B$ und (b) der Intensitätsänderung $\Delta\text{Intensität}$ aller beobachteten Fasern (schwarz - Faser 1; rot - Faser 2; blau - Faser 3 und grün - Faser 4) in Abhängigkeit der Ätzzeit. Die gestrichelten Linien weisen auf die in **Kap. 3.3.5** beschriebenen Phasen hin. (c) Position des Signalmaximums der dritten Faser aus a und b vom Start des Vorgangs (schwarz), vom Ende von Phase 1 (rot) und vom Ende Phase 2 (blau). (b) Das Diagramm zeigt die Signalpositionen aller in diesem Versuch beobachteten FBG am Anfang und am Ende des Ätzvorganges. Der vertikale Pfeil zeigt die in c gezeigte Faser.

Faserdurchmesser korrelierte bei mit FBG-beschriebenen Fasern mit einem beobachteten $\Delta\lambda_B$, während das Erreichen einer vollständigen Faserätzung mit einer kompletten Abnahme der Signalamplitude ($\Delta\text{Intensität}$) vergleichbar war. Eine beispielhafte simultane Beobachtung einer durchgeführten Ätzprozedur ist in **Abb. 4.23** gezeigt. In den ersten 45 Minuten wurde eine Veränderung von λ_B zu höheren λ -Werten ($\Delta\lambda_B > 0$) beobachtet (**Abb. 4.23a**). Dies ist auf die thermisch induzierte Ausdehnung der Faser aufgrund der exothermen Reaktion von HF mit dem SiO_2 der Faser zurück zuführen [149]. Die Reaktion lässt sich vereinfacht ausdrücken mit [154, 155]:



Während der Reaktion wurde die Oberfläche leicht bis teilweise stark angeraut [154] (siehe auch **Kap. C.3**). Die exotherme Reaktion führte in Phase 1 zu einer maximalen Verschiebung von $\Delta\lambda_B \approx 200$ pm. Wenn man von einer Temperaturabhängigkeit von $\Delta\lambda_{B,T} \approx 13$ pm/K ausginge, würde dies einem lokalen Temperaturanstieg von $\vartheta \approx 260^\circ\text{C}$ entsprechen. Mit der Zeit wurde der Anstieg von $\Delta\lambda_B$ über die Zeit immer geringer, was auf eine Abnahme der Zufuhr zur Reaktionstemperatur aufgrund des kleiner werdenden Faserradius herrühren könnte. Danach folgte ein Plateau ($\Delta\lambda_B = \text{const.}$) bis etwa zur 65. Minute, was auf eine konstante Umgebungstemperatur hindeuten würde. Nach 65 Minuten erfolgte in Phase 2 eine Verschiebung von $\Delta\lambda_B$ wieder zu λ -Werten, die auf eine Änderung von n_{eff} zurückzuführen ist (**Abb. 4.23a**). Die Änderung von n_{eff} ist auf einen im stärker werdenden Einfluss von n_U im Vergleich zur Temperatur auf λ_B aufgrund des immer weiter reduzierenden b -Wertes zurückzuführen [149, 155, 156]. Das Ätzen wurde beendet, sobald ein $\Delta\lambda_B$ von $\Delta\lambda_B \approx -1750$ pm erreicht wurde. Es wäre auch möglich gewesen die Fasern noch weiter zu ätzen ($\Delta\lambda_B < -1750$ pm), wobei dann aber die Anfälligkeit gegen über äußerer Krafteinwirkung zu nehmen würde. Die Faser besaß selbst jetzt schon eine gewisse Anfälligkeit, diese war aber abhängig von der Orientierung der Krafteinwirkung. Wurde beispielsweise eine Kraft in longitudinaler Richtung ausgeübt, zerbrach sie sehr leicht. Bei seitlichen Krafteinwirkungen zeigten die geätzten Fasern dagegen eine relativ starke Flexibilität.

Die Beobachtungen von $\Delta\text{Intensität}$ (**Abb. 4.23b**) zeigten, dass sich die Signalintensität in Phase 1 nur unwesentlich bis gar nicht veränderte. Erst nach ca. 65 Minuten war ein Anstieg der Intensität zu erkennen. Am Ende der Reaktion in Phase 2 zeigten die einzelnen Fasern unterschiedliche Verläufe. In der Literatur war lediglich der Fall beschrieben, dass die Intensitäten sinken ($\Delta\text{Intensität} < 0$), sobald die Fundamentalmode, aufgrund des kleiner werdenden Faserradius, ein Energieverlust widerfährt [149]. Dies könnte von einer Änderung von NA zwischen der ungestörten Faser und der geätzten Region in Abhängigkeit von n_K , n_M und n_U herrühren [144]. Das unterschiedliche Verhalten der Intensität am Ende der Reaktion könnte auf Fehler im Schreibvorgang begründet sein. Es wäre möglich, dass Gitter beim FBG-Schreiben geringfügig schräg oder minimal nicht zentral im Faserkern positioniert worden sind, sodass sie in ihrem Intensitätsverhalten variierten. In **Abb. 4.23d** ist das komplette Spektrum zu Beginn und am Ende der Reaktion gezeigt. Man erkennt, dass sich lediglich die Signalpositionen und -intensitäten von geätzten FBG änderten, während die jeweiligen Referenzgitter unverändert blieben (**Abb. 4.23c**). Die Abbildung zeigt auch die Intention hinter dem gewählten Schreibparametern von den Mess- und Referenzgittern (**Kap. 3.3.3**). Mit der halben Intensität der Referenzgitter wurde dafür gesorgt, dass zum einen der Ätzvorgang rechtzeitig bei fallen-

der Intensität abgebrochen werden konnte und zum anderen dass die Vergleichsgitter für die nachfolgenden Schritte ungefähr identische Intensitäten besaßen, sodass beide Gitter auswertbar waren. Des Weiteren wurde der spektrale 5 nm Abstand zwischen den beiden FBG beim Schreibprozess deshalb gewählt, um beide auch nach dem Ätzen nebeneinander auswerten zu können. Sind beide Signale sehr dicht beieinander, d. h. die Signale sind nicht mehr Grundlinien getrennt, wäre eine einzelne Anpassung beider nicht möglich.

Den Abschluss der Ätzprozedur bildete die S_{eFBG} -Messung mit verschiedenen CaCl_2 -Lösungen (**Abb. 4.24a**). S_{eFBG} ist dabei abhängig vom Mantelradius und erreicht sein Maximum beim vollständigen Entfernen des Mantels [144]. Man erkennt, dass $\Delta\lambda_{\text{B}}$ mit steigendem n_{U} nicht linear anstieg [25], da $\Delta\lambda_{\text{B}}$ proportional zur Änderung von n_{eff} ist [144], mit:

$$\frac{\Delta\lambda_{\text{B}}}{\lambda_{\text{B}}} = \frac{\Delta n_{\text{eff}}}{n_{\text{eff}}}. \quad (4.5)$$

Das Verhalten ähnelte stark dem d_{p} -Anstieg des evaneszenten Feldes in Abhängigkeit von n_{U} (**Kap. 4.4.2**). Man kann sagen, dass S_{eFBG} proportional zu d_{p} ist und damit als Qualitätsmerkmal der späteren Sensoren angesehen werden kann. Dass das nicht lineare Verhalten nicht vom n_{CaCl_2} der CaCl_2 -Lösungen herrührte, kann mit **Abb. 4.24b** verdeutlicht werden. Die Brechungsindizes der einzelnen Lösungen zeigten in Abhängigkeit des Massenanteils w_{CaCl_2} eher ein lineares Verhalten, wobei man nicht von einem linearen Verhalten sprechen kann, da n nicht nur von der Wellenlänge, sondern u. a. auch von den induzierten Dipolmomenten der Partikel innerhalb der Lösung abhängt [17, 157]. Im Endeffekt entsprach die n -Abhängigkeit eher einer abflachenden Kurve, wie

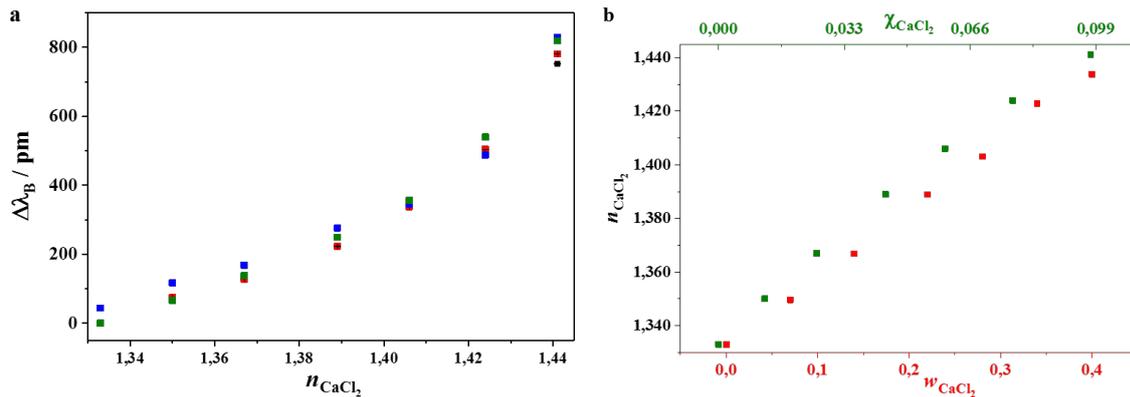


Abbildung 4.24: (a) Die Abbildung zeigt $\Delta\lambda_{\text{B}}$ von FBG in den geätzten Bereichen in Abhängigkeit von n_{U} . Es handelt sich hierbei um die in **Abb. 4.23** gezeigten FBG (schwarz - Faser 1; rot - Faser 2; blau - Faser 3 und grün - Faser 4). Δn_{U} wurde durch Verwendung verschiedener CaCl_2 -Lösungen erreicht. (b) Auftragung der Brechungsindizes verschiedener CaCl_2 -Lösungen, gemessen bei $\lambda = 589\text{ nm}$, gegen ihren Massenanteil w_{CaCl_2} (rote Punkte) und gegen ihren Molbruch χ_{CaCl_2} .

sie in **Abb. 4.24b** mit χ_{CaCl_2} angedeutet wurde. Im Laufe der einzelnen Ätzprozeduren wurden S_{eFBG} mit Werten bis zu $S_{\text{eFBG}} = 8 \text{ nm/RIU}$ gemessen. Die Beispielmessung (**Abb. 4.24**) resultierte in S_{eFBG} im Bereich von $S_{\text{eFBG}} = 6,96 - 7,58 \text{ nm/RIU}$. Wurden S_{eFBG} von $S_{\text{eFBG}} \leq 3 \text{ nm/RIU}$ gemessen, wurden diese Fasern dann entsorgt und nicht mehr für die Herstellung des Biosensors verwendet. Es zeigte sich, dass diese Fasern nach der Biofunktionalisierung keine messbare S_{eFBG} mehr auf verschiedene Analytkonzentrationen aufwiesen. Nach D. A. Pereira et al. musste der Ätzvorgang unbedingt simultan beobachtet werden [149], was sich auch in den einzelnen Ätzdurchläufen gezeigt hatte. Die Ergebnisse mehrerer Ätzdurchläufe ($N = 23$) sind in **Abb. 4.25** dargestellt. Man erkennt in **Abb. 4.25a**, dass das in Phase 3 ermittelte S_{eFBG} abhängig von der $\Delta\lambda_{\text{B}}$ -Änderung war. Mit sinkendem $\Delta\lambda_{\text{B}}$ ($\Delta\lambda_{\text{B}} < 0 \text{ nm}$) stieg die S_{eFBG} der Faser gegenüber n_{U} . Für die spätere Anwendung konnte man sagen, dass mindestens eine ungefähre Verschiebung von $\Delta\lambda_{\text{B}} \approx -0,5 \text{ nm}$ nötig war, um die erforderlichen Anforderungen von $S_{\text{eFBG}} > 3 \text{ nm/RIU}$

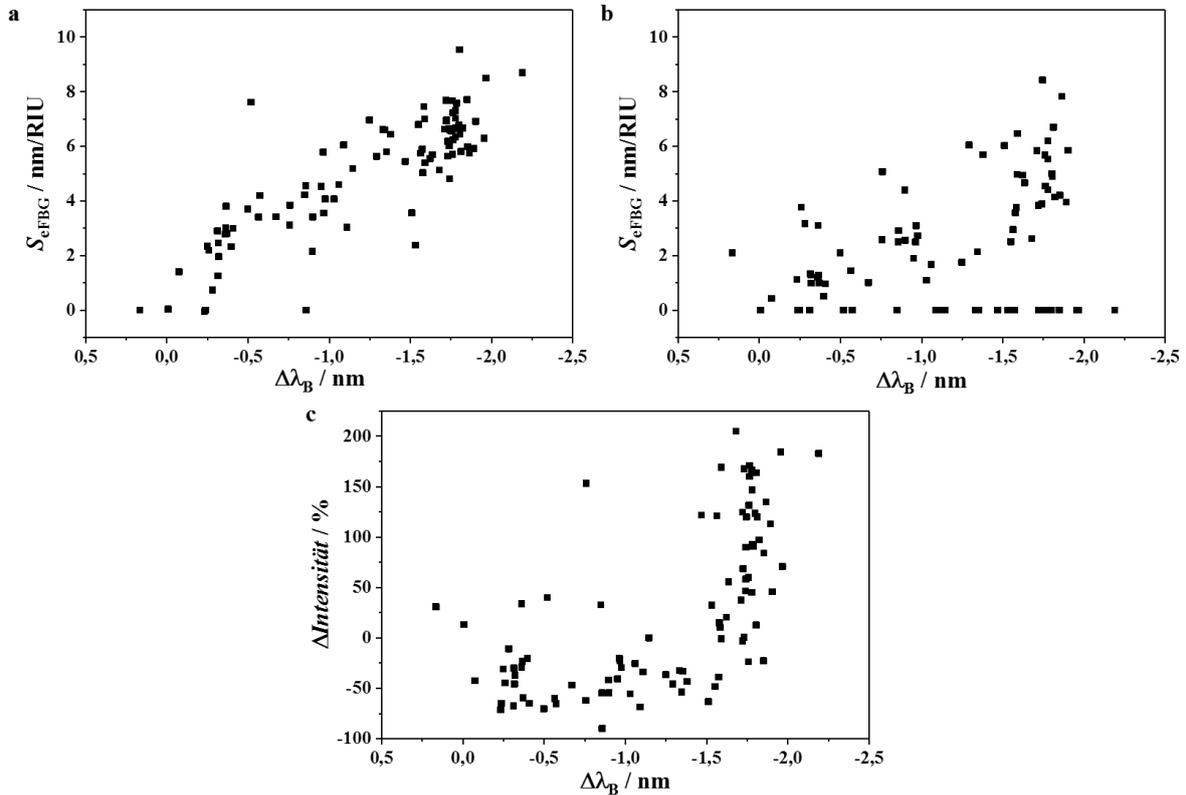


Abbildung 4.25: Die Spektren zeigen die Abhängigkeiten von S_{eFBG} nach dem Ätzen und von $\Delta\text{Intensität}$ am Ende der Ätzprozedur gegenüber $\Delta\lambda_{\text{B}}$ am Ende des Faserätzens. Es sind die Ergebnisse mehrerer Ätzdurchläufe ($N = 23$) mit je vier beobachteten und je vier blind geätzten Fasern gezeigt. (a) Auftragung von S_{eFBG} der beobachteten Fasern gegen $\Delta\lambda_{\text{B}}$ derselben Faser. (b) Auftragung von S_{eFBG} der blind geätzten Fasern gegen $\Delta\lambda_{\text{B}}$ der beobachteten Faser des selben Stäbchens. (c) Auftragung von $\Delta\text{Intensität}$ der beobachteten Fasern am Ende des Faserätzens gegen $\Delta\lambda_{\text{B}}$ derselben Faser.

zu erfüllen. Im Vergleich zu den beobachteten Fasern war bei den parallel blind geätzten Fasern zu sehen, dass es teilweise starke Unterschiede gab (**Abb. 4.25b**). In dieser Teilabbildung ist S_{eFBG} der blind geätzten Fasern gegen $\Delta\lambda_{\text{B}}$ der parallel auf demselben Stäbchen befindlichen und beobachteten Fasern dargestellt. Zum einen ist auffällig, dass es viele Fasern gab, die keine S_{eFBG} ($S_{\text{eFBG}} = 0 \text{ nm/RIU}$) aufwiesen. Es bedeutet in diesen Fällen, dass FBG vollständig geätzt worden sind und deshalb nicht mehr zur Verfügung standen. Zum anderen erkennt man, dass die $\Delta\lambda_{\text{B}} - S_{\text{eFBG}}$ -Abhängigkeit anscheinend nicht mehr wie bei den beobachteten Fasern vorhersehbar zu sein schien, obwohl sie unter identischen Bedingungen geätzt worden sind. Letztlich waren S_{eFBG} der blind geätzten im Vergleich zu den beobachteten Fasern teilweise niedriger, im selben Bereich oder auch höher. Es zeigte sich aber, dass wenn das Ätzen der beobachteten Fasern etwas länger dauerte, die blind geätzten Fasern eher dazu neigten vollständig aufgelöst zu werden, als bei den relativ kurzen Durchläufen.

Ein Grund für das teilweise generell variierende Ätzverhalten der einzelnen Faser in einem Ätzdurchgang könnte in der Vorbereitung auf das Ätzen liegen. Vor dem Ätzen wurde die polymerhaltige Schutzschicht mechanisch per Hand und Werkzeug entfernt. Daher wäre es möglich, dass auch der Mantel angegriffen worden ist, sodass der Manteldurchmesser b leicht in Mitleidenschaft geraten hätte können. Wie oben bereits erwähnt, gab es vor allem im Verhalten der Intensität am Ende der Reaktion deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Fasern eines Ätzdurchlaufes und zwischen den Durchläufen an sich (**Abb. 4.25c**). In dieser Abbildung ist erkennbar, dass das Intensitätsverhalten einen entscheidenden Einfluss auf das Ätzen hatte. Das Ätzen einer Faser musste vor der gewollten Verschiebung ($\Delta\lambda_{\text{B}} \approx -1750 \text{ pm}$) abgebrochen werden, wenn die eigene Intensität sich dem Grenzwert der vorher festgelegten minimalen Intensität näherte oder wenn die Signalintensität dermaßen anstieg, dass andere Signale unterhalb des Grenzwertes geraten würden. Der vorher festgelegte Grenzwert richtete sich prozentual nach dem aktuell intensivsten Signal im Spektrum. Im Endeffekt bedeutete das, dass eine simultane Beobachtung nur möglich war, wenn sich die Anzahl der Signale im Spektrum nicht änderte. Zusätzlich ist in **Abb. 4.25c** sichtbar, dass bei einer Verschiebung von $\Delta\lambda_{\text{B}} \approx -1750 \text{ pm}$ die Signalintensitäten der Fasern in einem Bereich von $\Delta\text{Intensität} \approx -50 - 200\%$ stark variierten. Aus diesen Beobachtungen ergab es sich, dass eine Vorhersage des Ätzens nicht möglich war und deshalb wurde aus diesem Grund eine größere Anzahl an Fasern ($N = 8$) gleichzeitig geätzt, um die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen eine gewisse Anzahl an verwendbaren Faser zu erhalten.

Zu Beginn der Versuche zur Entwicklung eines FBG-basierten Biosensors wurde mit einer anderen SMF gearbeitet. Dabei handelte es sich um eine mehrstufige SMF. Zu die-

sem Zeitpunkt war es jedoch nicht möglich mit FBG-beschriebene Fasern herzustellen, die S_{eFBG} gegenüber n_{U} aufwiesen. Eine mikroskopische Aufnahme der später standardmäßig genutzten SMF und der mehrstufigen SMF sind in **Abb. 4.26c** bzw. in **Abb. 4.26a** gezeigt. Bei der mehrstufigen SMF waren in den Aufnahmen vier unterschiedliche n -Bereiche

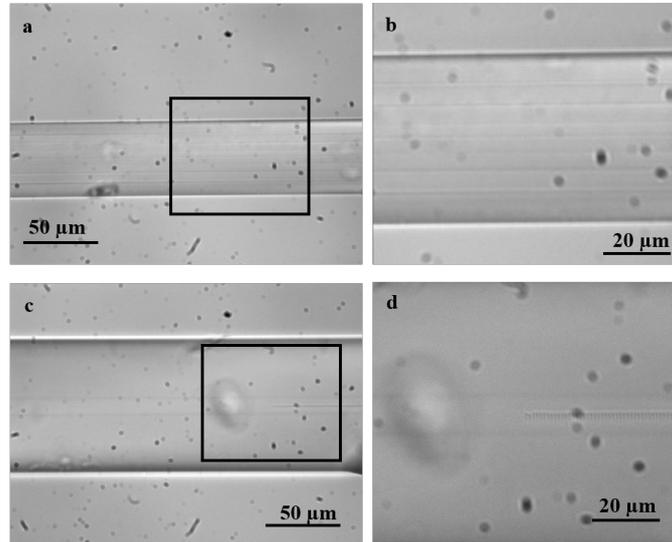


Abbildung 4.26: Hellfeld-Aufnahmen von verschiedenen geätzten Fasern. (a) Mikroskopische Aufnahme einer sehr dehnbaren SMF-28 Faser (mehrstufig) mit mehreren n -Stufen innerhalb der Faser nach 100 Minuten in 24% HF. (b) Vergrößerung des in a markierten Bereiches. (c) Mikroskopische Aufnahme einer SMF-28e Faser (Standard) nach 15 Minuten in 40% HF. (d) Vergrößerung des in c markierten Bereiches.

sichtbar (**Abb. 4.26a** und **b**). Grenzflächen zwischen solchen Bereichen waren durch breite weiß-schwarze Linien erkennbar, welche durch eine negative bzw. positive Interferenz an der Grenzfläche hervorgerufen wurden. Die Standard-SMF zeigte dagegen nur zwei verschiedene n -Bereiche, die in diesem Fall den Kern und den Mantel darstellten (**Abb. 4.26c** und **d**). Vergleicht man das Ätzverhalten ($\Delta\lambda_{\text{B}}$ - Zeit-Kurve) der standardmäßig genutzten mit der mehrstufigen SMF in HF ($w(\text{HF}) = 40\%$) waren deutliche Unterschiede erkennbar (**Abb. 4.27**). Während bei der Standard-SMF ein maximales $\Delta\lambda_{\text{B}}$ von $\Delta\lambda_{\text{B}} \approx 200$ pm (grüne Kurve in **Abb. 4.27**) zu beobachten war, erreichte die mehrstufige SMF ein $\Delta\lambda_{\text{B}}$ von $\Delta\lambda_{\text{B}} \approx 900$ pm (rote Kurve in **Abb. 4.27**). Des Weiteren war zu sehen, dass auch die Anstiege der entsprechenden Kurven variierten. Der Anstieg bei der mehrstufigen SMF wurde mit der Zeit im größer bis nach etwa 45 Minuten ein Plateau erreicht worden ist. Im Gegensatz dazu, nahm der Anstieg der zur Standard-SMF gehörigen Messkurve mit der Zeit gradlinig ab bis sich ebenfalls ein Plateau ausbildete. Trotz der Unterschiede wurde nach etwa 45 Minuten ein maximales $\Delta\lambda_{\text{B}}$ erreicht. Wie am Anfang des Abschnittes bereits erwähnt, war während dieser Zeitperiode $\Delta\lambda_{\text{B}}$ nur von der thermalen Reaktion be-

einflusst [149]. Der kontinuierlich größer werdende Anstieg von $\Delta\lambda_B$ bei der mehrstufigen SMF dürfte das Ergebnis unterschiedlicher Zusammensetzungen der einzelnen Schichten sein, sodass die steigende thermische Reaktion einen größeren Einfluss auf $\Delta\lambda_B$ hatte als die Abnahme des Faserradius. Wohingegen bei der Standard-SMF anscheinend der kontinuierlich abnehmende Anstieg von $\Delta\lambda_B$ über die Zeit nur vom immer kleiner werdenden Faserradius beeinflusst wurde.

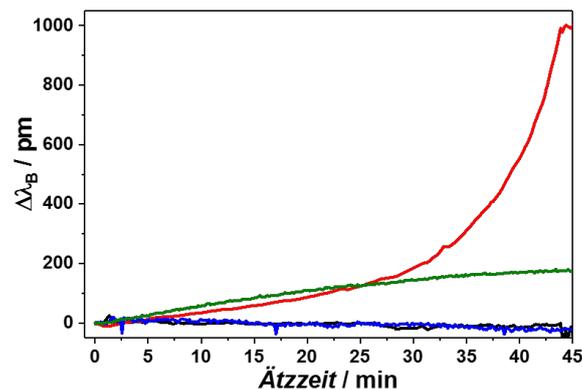


Abbildung 4.27: Diagramm zeigt $\Delta\lambda_B$ gegen die Ätzzeit einer mehrstufigen SMF (rote Linie) und einer standardmäßig genutzten SMF (grüne Linie) mit einem jeweiligen Gitter, welches nicht geätzt wird und als Referenzgitter diente (schwarze bzw. blaue Linie). Es wird hier nur das Ätzen mit 40%iger HF in den ersten 45 Minuten gezeigt. Das Ätzen der mehrstufigen und der standardmäßig genutzten SMF fand zu unterschiedlichen Zeitpunkten statt.

Neben der Herstellung von verwendbaren Fasern für die Entwicklung eines eFBG-basierten Sensors wurden Fasern während Phase 1 der Ätzprozedur, d. h. beim Ätzen in 40%iger HF, vorzeitig aus der Lösung entfernt. Diese Fasern dienten der Bestimmung der jeweiligen Faserdurchmesser (d) in Abhängigkeit ihrer Zeit in HF (**Abb. 4.28**). Unter der

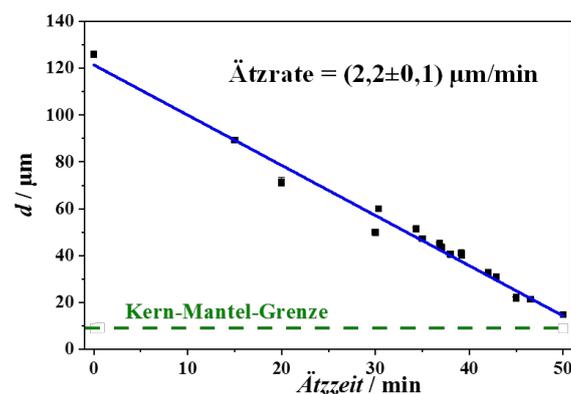


Abbildung 4.28: Das Diagramm zeigt die bestimmten d -Werte gegen die Ätzzeit der Faser in HF ($w = 40\%$). Die blaue Linie entspricht der linearen Anpassung von d in Abhängigkeit der Ätzzeit (Ätzrate). Die grün gestrichelte Linie deutet die Kern-Mantel-Grenzfläche.

Annahme einer linearen Regression wurde dabei eine Ätzrate von $2,2 \pm 0,1 \mu\text{m}/\text{min}$ ermittelt. So reduzierte sich nach 45 Minuten Inkubation in 40%iger HF der Faserdurchmesser von $d = 125 \mu\text{m}$ auf $d \approx 20 \mu\text{m}$. Die vollständige Entfernung von b würde dementsprechend ungefähr 53 Minuten dauern. Auf eine Durchmesserbestimmung, während des Ätzens mit der 20%igen HF, wurde verzichtet, da es in dieser Phase (Phase 2) zu größeren Unterschieden in Bezug auf die Dauer der Plateau-Phase ($\Delta\lambda_B = \text{const.}$) zwischen den einzelnen Fasern kam. Das Ergebnis spiegelte erneut die Intention hinter der Verwendung von zwei verschiedenen konzentrierten Säuren wieder. Die höher konzentrierte Säure diente der schnellen Durchmesserreduzierung von b , sodass am Ende mit der niedrig konzentrierten der erwartete d -Wert relativ sicher erreicht werden konnte.

Beim Arbeiten mit HF ergaben sich einige Gefahren, wie z.B. eine Lebensgefahr beim Hautkontakt (H310). Deshalb wurde auch nach Alternativen zum Ätzen mit HF gesucht. Neben der sauren Reaktion mit HF konnte man auch unter basischen Bedingungen beispielsweise mit Kalilauge (KOH) den Faserdurchmesser reduzieren. In **Abb. 4.29** ist eine Ätzrate von SiO_2 in KOH, $w(\text{KOH}) = 40\%$, in Abhängigkeit der äußeren Temperatur gezeigt [158]. Vergleicht man die ermittelte Ätzrate von HF, $w(\text{HF}) = 40\%$, mit der von KOH stellt man fest, dass sie viel langsamer verläuft. Eine Ätzrate von rund $1,8 \mu\text{m}/\text{Stunde}$ ($\equiv 0,03 \mu\text{m}/\text{min}$) würde erst bei einem Erwärmen der KOH auf $\vartheta = 100^\circ\text{C}$ erreicht werden. Der Grund dürfte in der chemischen Reaktion liegen:

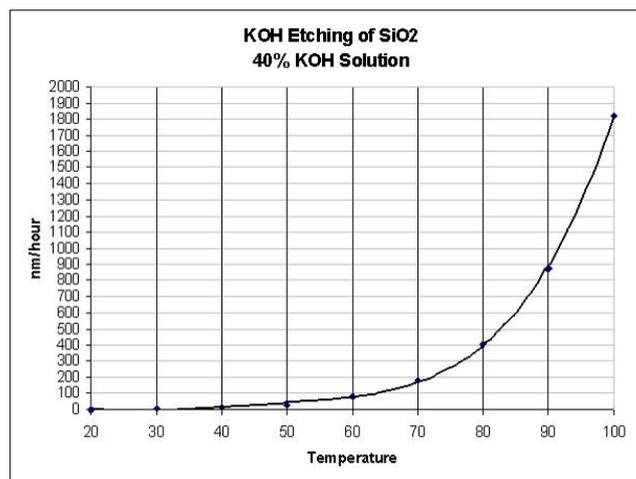
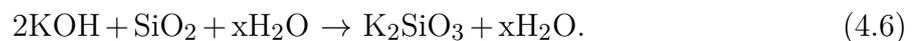


Abbildung 4.29: Das Diagramm zeigt die Ätzrate von SiO_2 in einer 40%igen KOH-Lösung in Abhängigkeit von ϑ . Die Daten entstammen einer Messreihe der Brigham Young University [158]

Anders als beim sauren Aufschluss bildet sich beim alkalischen Aufschluss eine Art Gelschicht, die ohne eine Entfernung eine weitere Reaktion stören würde. Bei einer alkalischen Reaktion mit reinem Si würde sogar Wasserstoff gebildet werden [154]. Letztlich kann man aufgrund der hochtemperierten Chemikalien auch hier von einer gefährlichen Reaktion sprechen. Des Weiteren gibt es noch das Ätzen mit gepufferter Oxidätzung (*buffered oxide etch*) [159]. Dabei handelt es sich um eine Mischung aus NH_4F und HF, das meist in einem Verhältnis von 6:1 verwendet wird. Hier werden aber nur Ätzraten von 800-1200 Å/min [142, 159], die somit nur $\approx 1/28$ bzw. $\approx 1/18$ so groß wären, wie die in dieser Arbeit ermittelte Ätzrate. Abgesehen vom sauren bzw. basischen Ätzen gibt es weitere Möglichkeiten die FBG-Technik für biochemische Fragestellungen einzusetzen.

Eine Alternative zum nassen Ätzen bildet die Entfernung des Fasermantels mittels Politur. Mit dieser Technik wurden durch halbseitiges Mantelentfernen sogenannte D-förmige Fasern erschaffen [100, 160], welche in Verbindung mit FBG ebenfalls sensitiv auf n_U sind. Des Weiteren kann man die FBG-Technik auch mit anderen Faserarten kombinieren, sodass eine Mantelentfernung nicht mehr notwendig wäre. Zu diesen gehören u. a. mikrostrukturierte [161], Hohlkern- [162] und die „suspended“-Kern-Fasern [163, 164]. Eine Verwendung dieser Alternativen würde zusätzliche intensive experimentelle Arbeit mit sich ziehen. Für die mechanische Behandlung der Faser zum Erhalt von D-förmigen bzw. mikrostrukturierten Fasern wären zusätzlich Apparaturen notwendig, um eine reproduzierbare Herstellung zu realisieren. So ist zwar möglich mit einem Faserschreibstand D-förmige Fasern zu produzieren [165], doch sind im Vergleich zu den präsentierten Aufbau (**Kap. 3.3.3**) noch Veränderungen notwendig, wie beispielsweise die MMF-Verwendung und/oder einem modifizierten Schreibprogramm. Alternativ müssten die Fasern so poliert werden, dass die auf ihnen wirkenden mechanischen Kräfte nicht zum Zerstören der Faser führen. Eine dritte Option wäre der Kauf von D-förmigen Fasern, wobei diese dann bis zu mehreren 100 Euro pro Faser kosten können. Mikrostrukturierte Fasern können beispielsweise durch Einwirkung von starker Hitze mittels Lichtbogen oder einer Flamme bei gleichzeitiger Dehnung hergestellt werden. Auch hier bedarf es wie oben erwähnt zusätzlicher Vorrichtungen, wie z. B. einer computergesteuerten Vorrichtung, die gleichzeitig Energiezufuhr und Dehnung steuert. Des Weiteren sind auch wie bereits erwähnt zusätzliche Arbeiten notwendig, um bei den anderen Faserarten, wie beispielsweise den mikrostrukturierten Fasern, den Einschreibeprozess auf den jeweiligen Fasertyp anzupassen.

Bei Verwendung anderer OFG-Arten, wie beispielsweise LPG und tFBG, wäre eine Entfernung von b nicht unbedingt notwendig. LPG können auch mit fs -gepulsten Lasern bei einer Wellenlänge von $\lambda_p = 800 \text{ nm}$ hergestellt werden, aber für den vorhandenen Auf-

bau sind sie nicht realisierbar. Zum einen müsste der x,y,z-Verschiebetisch ausgetauscht werden, da dieser nur eine maximale Auslenkung von 50 mm besitzt und zum anderen müsste die Λ -Dimension angepasst werden. Für $\Lambda \gg 1 \mu\text{m}$ sind entweder v_t -Werte von $v_t \gg 0,1 \text{ mm/s}$ oder f_{rep} von $f_{\text{rep}} < 100 \text{ Hz}$ notwendig. Die Veränderung der v_t -Dimension bedarf einer Softwareänderung. Das Herabsetzen von f_{rep} könnte bewirken, dass der Laser nicht mehr homogen Licht aussendet. Um das zu verhindern, könnte man einen „Chopper“ in den Strahlengang einbauen, der höher aussendende f_{rep} durch intervallmäßiges Blockieren die am Mikroskop ankommende Rate künstlich herab setzt. Des Weiteren würde bei der standardmäßigen Verwendung von LPG und tFBG, für den Fall eines Verzichtes der Fasermantelentfernung, nur der Transmissionsmodus übrig bleiben. Das würde bedeuten, dass Lichtquelle und Detektor nicht mehr auf derselben Faserseite sein würden. Damit wären auch Experimente, in der man die Faser vertikal in Lösungen mit kleinen Volumina eintaucht (**Abb. 3.3a,b**) nicht mehr möglich. Es wären dagegen größere Volumina notwendig, sodass das Gitter in den entsprechenden Fällen in einer horizontale Ausrichtung komplett bedeckt sind. Dabei würde unter Verwendung des in **Kap. 3.3.7** beschriebenen Versuchsdurchführung ein weiteres Problem auftauchen. Die Oberfläche der Lösung würde vergrößert werden, mit der Folge, dass der Anteil an verdampften Lösungsmittel ansteigen würde. Es müsste eine Art „Feuchtigkeitskammer“ geschaffen werden, wobei es dennoch zur Austrocknung kommen kann und es dann beispielsweise bei der Immobilisierung von biologischen Komponenten zu Funktionsverlusten eben dieser führen kann. Mit einer standardmäßigen Verwendung ist gemeint, dass das entsprechende OFG allein für die Sensorik verantwortlich ist.

In **Tab. 4.3** sind für verschiedene OFG-Techniken einige S -Werte in Abhängigkeit von n_U aufgelistet. Man erkennt, dass eFBG-Sensoren an sich eine geringere S_{eFBG} mit $S_{\text{eFBG}} \approx 10 \text{ nm/RIU}$ aufweisen als tFBG- bzw. LPG-basierte Sensoren. Des Weiteren zeigt sich, dass es auch bei den verschiedenen gezeigten eFBG-basierten Sensoren zu Unterschieden kam. So wurden S_{eFBG} zwischen $S_{\text{eFBG}} = 0,8\text{-}13,3 \text{ nm/RIU}$ registriert. Erklären könnte man das mit verschiedenen verwendeten Apparaturen. Je nachdem, wie die spektrale Auflösung ($\Delta\lambda_{\text{sp}}$) bzw. die Anpassungsgenauigkeit des verwendeten Systems ($\Delta\lambda_{\text{fit}}$) ist, kann die Dauer des Ätzworganges verlängert werden. Ist man beispielsweise in der Lage Signale mit höheren Amplituden zu schreiben, könnte man diese länger der HF aussetzen [93]. Alternativ könnte auch der Herstellungsprozess einen Einfluss haben. FBG mit zweiter Ordnung, die mit fs -gepulsten Laserstrahlen im NIR geschrieben worden sind, besitzen eine höhere Reflektivität als FBG, die mit einer UV-Maske geschrieben worden sind. Im Endeffekt beeinflusst das auch die Dauer des Ätzworganges. tFBG, die in Reflexion gemessen wurden und daher geätzt werden müssten, haben eine ähnliche Sensitivität

wie eFBG. In Transmission hängt S_{tFBG} , wie bei LPG, von der verwendeten Mantelmode ab. So können S_{tFBG} bis zu $S_{\text{tFBG}} = 100 \text{ nm/RIU}$ in Brechungsindizes nahe n_{M} erreicht werden [36]. S_{LPG} ist die höchste der drei beschriebenen OFG-Techniken. Unter Berücksichtigung gitterspezifischer Charakteristika, hier dem sogenannten Doppelsignal, konnten S_{LPG} bis zu $S_{\text{LPG}} = 794 \text{ nm/RIU}$ im Bereich von $n_{\text{U}} = 1,30 - 1,35$ beobachtet werden. Bei höheren n_{U} -Werten konnten teilweise auch S_{LPG} von $S_{\text{LPG}} \approx 10^4 \text{ nm/RIU}$ erreicht werden [166].

Tabelle 4.3: Eine ausgewählte Liste von Sensitivitäten verschiedener OFG-Techniken in Abhängigkeit von n_{U} , die in der Literatur zu finden sind.

OFG-Technik	Sensitivität zu n_{U} in nm/RIU	Quelle
eFBG	max. 8	diese Arbeit
eFBG	$\approx 0,8$	[167]
eFBG	13,3	[93]
FBG in D-förmigen Fasern	≈ 30	[100]
tFBG	100	[36]
tFBG mit Ag-Nanoröhren in Kombination mit SPR	≈ 650	[168]
Doppelsignal-LPG	bis 794 ($n_{\text{U}} = 1,30 - 1,35$)	[166]

Man kann die verschiedenen OFG-Techniken wie oben bereits kurz erwähnt auch mit anderen Fasergeometrien oder mit anderen Techniken kombinieren, um S -Werte des Systems zu steigern. Bei FBG, die in D-förmigen Fasern vorhanden sind, konnten z. B. S -Werte von bis zu $S = 30 \text{ nm/RIU}$ bei n_{U} -Werten von $n_{\text{U}} \approx 1,45$ gemessen werden [100]. Des Weiteren kann man beispielsweise FBG und tFBG mit der SPR-Technik zu plasmonischen FOB kombinieren [120, 168, 169]. Diese Kombinationen konnten dann S -Werte im Bereich von $S = 100 - 1000 \text{ nm/RIU}$ erreichen [169]. Außerdem ist es auch möglich beispielsweise tFBG ohne Fasermantelentfernung mit einer S_{tFBG} -Abhängigkeit zu n_{U} in einem Reflexionsmodus arbeiten zu lassen, indem man es schafft das transmittierte Signal am Faserende wieder zurück zu werfen. Bringt man am Faserende eine Struktur an, die z. B. eine Silberoberfläche besitzt, kann man „reflektierte“ Signale messen [170].

4.5 NP-basierter Biosensor

4.5.1 Biofunktionalisierung

Der NP-basierte Biosensor baut auf der Arbeit von J. Burgmeier et al. [93] auf. Dabei handelte es sich um einen Sensor, der zwei Messgrößen (λ_B und Intensität) besaß, die abhängig von n_U waren. Die Messgrößen zeigten dabei eine gegenläufige Abhängigkeit von n_U , d. h. während eine Messgröße eine positive Änderung bei Δn_U zeigte, war es bei der anderen eine negative. Ein weiterer Vorteil war die Möglichkeit im Reflexionsmodus zu arbeiten. Für den in dieser Arbeit vorgestellten auf NP-basierten Biosensor wurde der Aufbau so modifiziert, dass eine rein kovalente Biofunktionalisierung vorlag, um mögliche unerwünschten elektrostatische Interaktionen zu vermeiden.

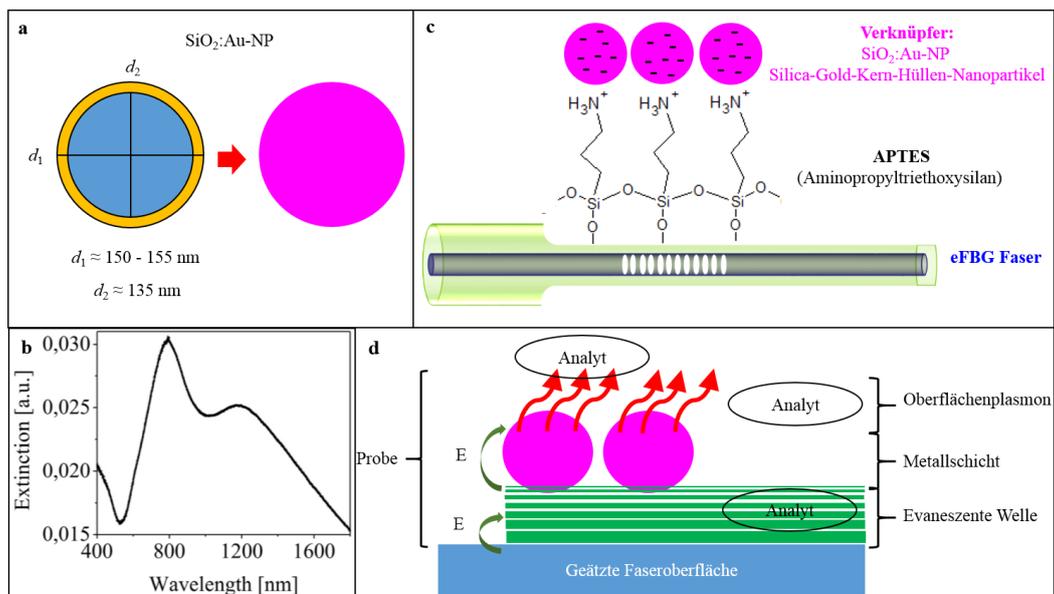


Abbildung 4.30: (a) Die Abbildung zeigt einen Querschnitt eines Silika-Gold-Kern-Hüllen-Nanopartikel ($\text{SiO}_2:\text{Au-NP}$) mit dem Durchmesser vom SiO_2 -Kern (d_2) im Verhältnis zum Gesamtdurchmesser (d_1). Im weiteren Verlauf werden die $\text{SiO}_2:\text{Au-NP}$ der Einfachheit halber als violette Kugeln dargestellt, was durch den breiten roten Pfeil angedeutet worden ist. (b) Es ist das Extinktionsspektrum der auf einer Glasoberfläche immobilisierten NP gezeigt, entnommen aus [93]. (c) Das Schema stellt die gemischte Funktionalisierung aus einer kovalenten Bindung mit APTES und der ionischen Bindung zu $\text{SiO}_2:\text{Au-NP}$ an der geätzten Faseroberfläche dar. (d) Das Schema zeigt das Koppeln zwischen der evaneszenten Welle der Faser und dem $\text{SiO}_2:\text{Au-NP}$ -Oberflächenplasmon. Das Koppeln führt zu einem Energietransfer zwischen dem Licht in der Faser und dem $\text{SiO}_2:\text{Au-NP}$ -Oberflächenplasmon in Abhängigkeit von n_U .

Zunächst soll erst einmal die Wirkungsweise für den Aufbau, der von J. Burgmeier et al. verwendet worden ist [93], erläutert werden. Als NP wurden Silika-Gold-Kernhüllen-Nanopartikel (SiO₂:Au-NP) verwendet. Diese besaßen einen Kern bestehend aus SiO₂ mit einem Durchmesser von ca. $d \approx 135$ nm und einer dünnen Goldschicht mit einem Radius von $r \approx 15$ -20 nm (**Abb. 4.30a**). Des Weiteren lag ein NP-Resonanzmaximum bei $\lambda_{\text{res}} = 792$ nm vor, gemessen in destillierten Wasser (Herstellerangabe). Als Besonderheit zeigten SiO₂:Au-NP trotz kleinerer Variationen von d_1 oder d_2 einen breiten Resonanzpeak, der noch im NIR-Bereich absorbierte [171] (vgl. **Abb. 4.30b**). Somit waren SiO₂:Au-NP in der Lage Energie im Bereich von $\lambda \approx 1550$ nm, welche in der FBG-Technologie verwendet wird, zu absorbieren. Für die Verwendung als Sensor wurden diese wie in **Abb. 4.30c** dargestellt über eine ionische Bindung an eine mit APTES ((3-Aminopropyl)triethoxysilan) funktionalisierte Faseroberfläche gebunden [93]. Dadurch war das evaneszente Feld der geätzten Faser in der Lage, aufgrund der Absorptionseffizienz im NIR-Bereich mit dem NP-Oberflächenplasmon zu koppeln (**Abb. 4.30d**). Die Signalintensität von λ_B sank als Folge eines Energietransfers zwischen dem Licht in der Faser und dem NP-Oberflächenplasmon. Die Effizienz war dabei abhängig von n_U [172]. Nebenbei wurde durch diese Kopplung S_{eFBG} zu n_U erhöht, da d_p durch das NP-Oberflächenplasmon vergrößert wurde und somit theoretische mehr Analyten detektiert werden könnten. Die Entwicklung von λ_B und der $\Delta\text{Intensität}$ über die Zeit bei der Immobilisierung von SiO₂:Au-NP an eine mit APTES funktionalisierten Faseroberfläche ist in **Abb. 4.31a** gezeigt. Diese elektrostatische Adsorption an die Faser führte nach 246 Minuten aufgrund eines n_U -Anstieges im geätzten Bereich zu einem $\Delta\lambda_B$ von ungefähr $\Delta\lambda_B \approx 65$ pm. In der gleichen Zeitspanne sank $\Delta\text{Intensität}$ um mehr als 40% der ursprünglichen Intensität zu Beginn der Reaktion. Um den in **Abb. 4.30d** dargestellten Effekt zu zeigen, wurde ein Vergleichsexperiment durchgeführt, indem dieselbe Faser zum einen als unfunktionalisierte Faser (**Abb. 4.31c**) und zum anderen mit NP-funktionalisierter Faser (**Abb. 4.31b**) in Lösungen eingetaucht wurde, die verschiedene n_{CaCl_2} -Werte aufwiesen. Ein n_U -Anstieg von $n_U = 1,33$ auf $n_U = 1,42$ führte zu einem $\Delta\lambda_B$ von $\Delta\lambda_B = 300$ pm. Im gleichen Indexbereich ($n_U = 1,33$ -1,42) sank $\Delta\text{Intensität}$ um 80% (**Abb. 4.31b**). Die unbehandelte Faser zeigte zuvor ein identisches $\Delta\lambda_B$ von $\lambda_B = 300$ pm (**Abb. 4.31c**). So kann man sagen, dass das Verwenden von NP als „Verbindungseinheiten“ (Linkermoleküle) den Sensor aufwerten würde, da man nun zwei Messparameter (λ_B und $\Delta\text{Intensität}$) gleichzeitig messen würde. Des Weiteren würde wie oben erwähnt S_{eFBG} zu n_U erhöht werden, weil d_p des evaneszenten Feldes und damit der sensitive Bereich erweitert werden würden. Eine Anwendung dieser Anordnung (**Abb. 4.30c**) als möglicher Aufbau eines Biosensors wurde nicht realisiert, da die Bildung des Biosen-

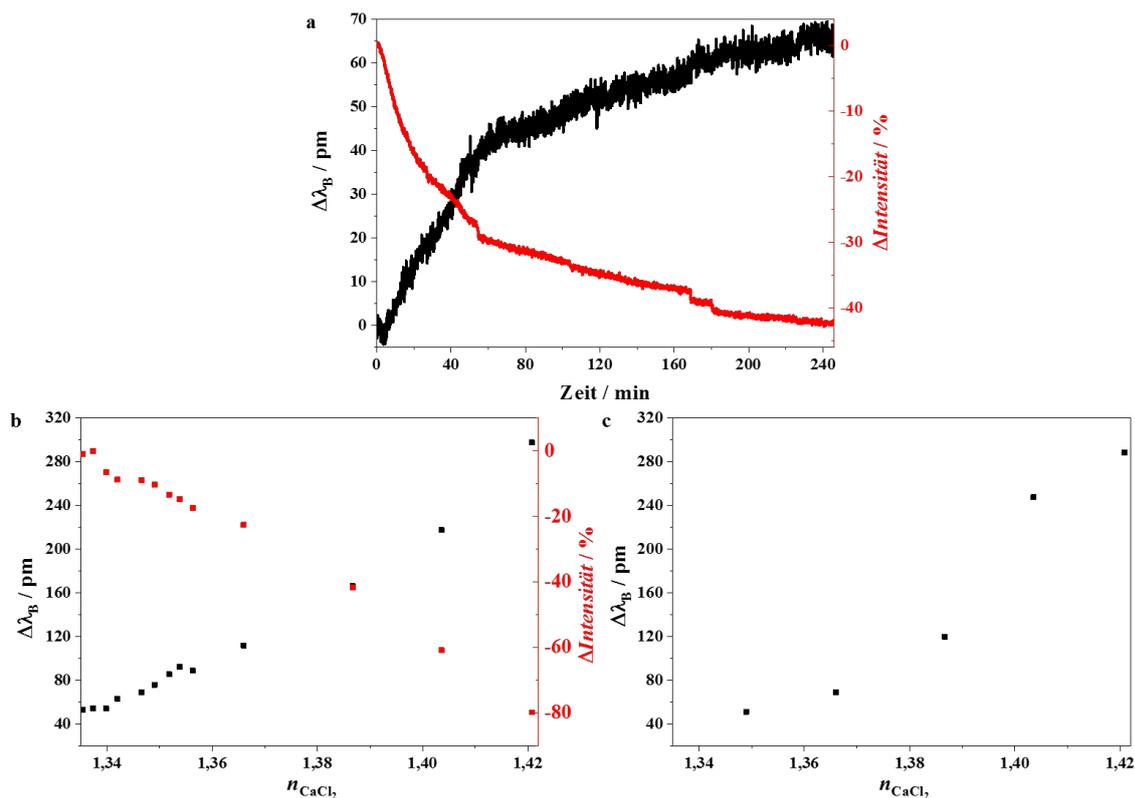


Abbildung 4.31: (a) Auftragung von $\Delta\lambda_B$ (schwarze Linie) und $\Delta\text{Intensität}$ (rote Linie) einer mit (3-Aminopropyl)triethoxysilan (APTES) funktionalisierten Faser während der elektrostatischen Immobilisation von $\text{SiO}_2\text{:Au-NP}$. Beide Größen wurden simultan gemessen. Das Eintauchen der Faser in die $\text{SiO}_2\text{:Au-NP}$ -Lösung wurde gestoppt, als die Signalintensität einen bestimmten Wert erreicht hatte. (b) Auftragung von $\Delta\lambda_B$ (schwarze Quadrate) und $\Delta\text{Intensität}$ (rote Quadrate) einer mit $\text{SiO}_2\text{:Au-NP}$ beladenen Faser in Abhängigkeit von n_U . (c) Auftragung von $\Delta\lambda_B$ (schwarze Quadrate) der entsprechenden Faser vor der Funktionalisierung mit APTES in Abhängigkeit von n_U . Die n_U -Änderung wurde mit verschiedenen konzentrierten CaCl_2 -Lösungen im Bereich von $n_{\text{CaCl}_2} = 1,333$ -1,424 erreicht.

sors, der auf elektrostatische Adsorption beruht, mögliche Probleme hervorrufen könnte. Die Kontaktfläche zwischen den positiv geladenen terminalen Aminogruppen auf der Faseroberfläche und der negativ geladenen Goldoberfläche wäre sehr klein im Vergleich zur NP-Gesamtfläche. Die Aptamere könnten rein theoretisch auf der gesamten Goldfläche binden, wenn man in dieser Betrachtung Abstoßungskräfte außer Acht lässt. Deshalb wäre es möglich, dass durch die kovalente Bindung zwischen Aptameren und NP die elektrostatische Bindung zwischen NP und Faseroberfläche soweit abgeschwächt werden könnte, sodass sich NP von der Faseroberfläche lösen würden. Eine NP-Verdrängung von der Faseroberfläche könnte außerdem auch deshalb hervorgerufen werden, weil Aptamere als DNS-Moleküle Polyanionen sind. So könnte es theoretisch passieren, dass es einen Austausch der negativen „Gegenionen“ gibt. Des Weiteren werden Proteinmessungen in

gepufferten Lösungen durchgeführt, sodass es noch mehr mögliche Gegenanionen gab, welche NP von der Faseroberfläche verdrängen könnten. Dennoch ist es möglich Biosensoren herzustellen, die auf elektrostatische Bindung beruhen. Diese Sensoren werden dann vor allem mit Polyanionen und -kationen in alternierender Anordnung funktionalisiert, sodass sich mehrere Schichten ausbilden (*Layer-by-Layer-Formation*). In diese Schichten könnten nun die Erkennungseinheiten eingebaut werden und anschließend könnten diese Analyten dann detektiert werden [173, 174].

Im Gegensatz dazu wurde für den NP-basierten Biosensor ein Aufbau verwendet, indem die einzelnen Komponenten kovalent mit einander verbunden worden sind (**Abb. 4.32**). Das Silan APTES mit seiner terminalen Aminogruppe wurde mit seinem Äquivalent MP TES ((3-Mercaptopropyl)triethoxysilan) ausgetauscht, welches eine terminale Thiolgruppe besitzt. Thiole binden sehr gut an Goldoberflächen. An NP sollen dann außerdem ebenfalls die Aptamere binden, welche auch jeweils eine terminale Thiolgruppe besitzen. Für die hier gezeigten Untersuchungen wurde ein CRP-bindendes Aptamer verwendet, sodass als Analyt CRP, als bekannter Biomarker für Entzündungsreaktionen, verwendet werden konnte.

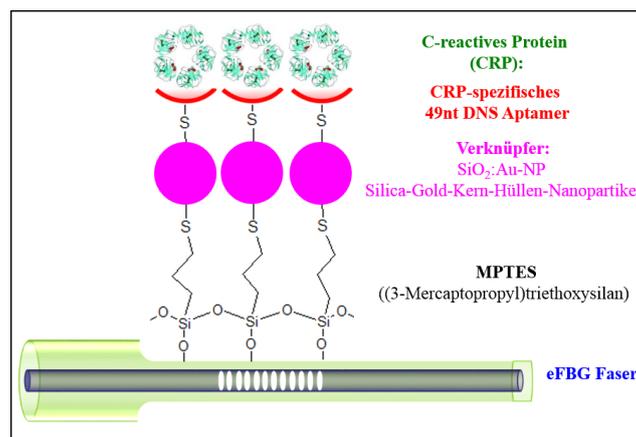


Abbildung 4.32: Die Abbildung zeigt eine schematische Darstellung des NP-basierten Biosensors. Der Bereich um das für die Messung vorgesehene FBG wird mit HF geätzt (blauer Bereich). Die Oberfläche wird dann mit dem Silan (3-Mercaptopropyl)triethoxysilan (MP TES) funktionalisiert (schwarzer Bereich). Als Verknüpfers zwischen Faser und Erkennungseinheiten fungieren SiO₂: Au-NP (magenta farbiger Bereich). Die Erkennungseinheit ist ein CRP-spezifisches Aptamer, hier ein 49 nt großes DNA-Aptamer (roter Bereich). Das Aptamer reagiert dann mit dem Analyten, hier CRP (grüner Bereich). CRP-Struktur nach [83].

Die Adsorption von MP TES an die Faseroberfläche (**Abb. 4.33a**) resultierte in einer kontinuierlichen Änderung von $\Delta\lambda_B$ über die Zeit ab etwa 25 Minuten. Zuvor wurde eine negative Änderung von $\Delta\lambda_B \approx -17$ pm beobachtet. Dies dürfte auf einen experimentellen Einfluss zurückzuführen sein, wie z. B. eine Bewegung der Faserspitzen. So könnten sich

die Faserspitzen am Anfang der Reaktion noch minimal im Reaktionsgefäß bewegt haben, bis sie ihre endgültigen Positionen für den Rest der Messung eingenommen haben. Das würde auch die im Vergleich zum restlichen Spektrum relative große Intensitätsänderung erklären. Im Gegensatz zu $\Delta\lambda_B$ änderte sich die relative Intensität dann über die gesamte Reaktionszeit nur unwesentlich ($\Delta\text{Intensität} \approx 0,5\%$). Bei der NP-Immobilisierung an die funktionalisierte Faseroberfläche (**Abb. 4.33b**) wurde ein ähnliches Verhalten von $\Delta\lambda_B$ wie in **Abb. 4.33a** registriert. In dieser Beispielmessung wurde dabei ein $\Delta\lambda_B$ von $\Delta\lambda_B \approx 0$ pm gemessen, nachdem sie zuvor nach ca. 25 Minuten auf $\Delta\lambda_B \approx -25$ pm gesunken war. Aber im Gegensatz zur Adsorption des Silans änderte sich die relative Intensität mit einer kontinuierlichen Änderung auf $\Delta\text{Intensität} \approx -6\%$ im Vergleich zur Anfangsintensität. Die Abnahmen von $\Delta\lambda_B$ in den ersten 25 Minuten in **Abb. 4.33a** und **b** könnte von Temperaturunterschiede zwischen den Lösungen, in der die Fasern gelagert worden sind und denen in den die Reaktionen stattfanden, herrühren. Wiederum anders sahen die Messkurven bei der Immobilisierung der Aptamere an die Faseroberfläche aus (**Abb. 4.33c**). Zum einen fehlte die negative $\Delta\lambda_B$ -Verschiebung ($\Delta\lambda_B < 0$ pm) zu Beginn

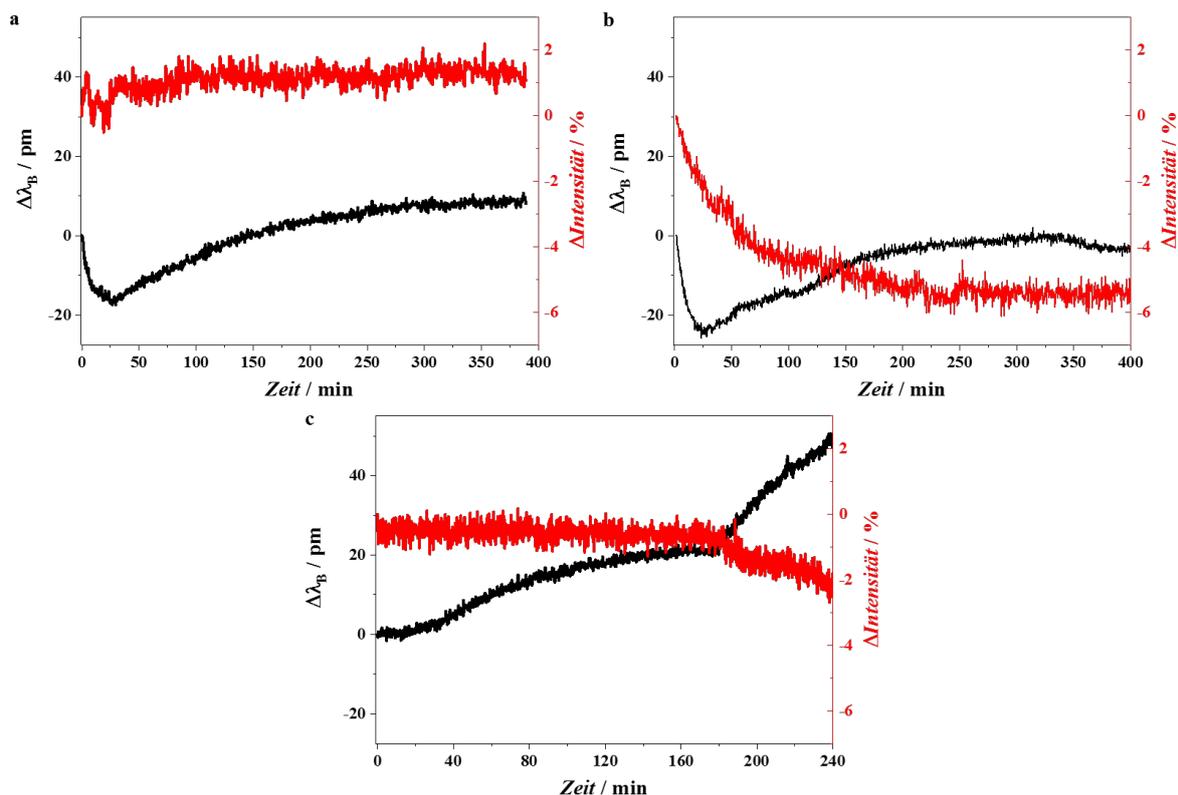


Abbildung 4.33: Es sind $\Delta\lambda_B$ (schwarze Linie) und $\Delta\text{Intensität}$ (rote Linie) während (a) der Immobilisierung in einer 5%igen MPTES-Lösung ((3-Mercaptopropyl)triethoxysilan), (b) der Immobilisierung in einer SiO_2 :Au-NP-Lösung (1×10^9 Partikel/mL) und (c) der Immobilisierung in einer Aptamer-Lösung ($c_{\text{final}} \approx 1 \mu\text{M}$) gezeigt.

der Reaktion und zum anderen war nach 180 Minuten ein steiler Anstieg von $\Delta\lambda_B$ zu beobachten. Der Unterschied von **Abb. 4.33c** zu den vorherigen Schritten in den ersten 25 Minuten dürfte an den jeweiligen Temperaturen liegen, während in den ersten beiden Funktionalisierungsschritten die entsprechenden Lösungen direkt vor der Messung hergestellt worden sind, wurden die Lösungen für die Anlagerung bis auf das Aptameraliquot in dem Labor aufbewahrt, indem auch die Reaktion stattfand, sodass Temperaturunterschiede auszuschließen sind. Aber man erkennt in den ersten 180 Minuten analog zu den vorherigen Schritten (**Abb. 4.33**) ein asymptotisches annähern zu einem maximalen $\Delta\lambda_B$ -Wert, hier bei $\Delta\lambda_B \approx 20$ pm. Der folgende steilere Anstieg von $\Delta\lambda_B$ ist auf das kontinuierliche Anheben von n_U durch NaCl-Zufuhr auf eine finale Konzentration nach 240 Minuten von $c_{\text{NaCl}} = 750 \mu\text{M}$ zurück zuführen. Die relative Intensität änderte sich in den ersten 180 Minuten zunächst mit $\Delta\text{Intensität} \approx -1\%$ nur geringfügig, aber während der Salzzufuhr sank die relative Intensität weiter auf einen Wert von ungefähr $\Delta\text{Intensität} \approx -2,5\%$. Des Weiteren ist in **Abb. 4.33b** auffällig, dass $\Delta\lambda_B$ und $\Delta\text{Intensität}$ im Vergleich zu **Abb. 4.31** geringere Werte annahmen. Dies könnte auf eine geringere Anzahl von adsorbierten NP auf der Faseroberfläche hindeuten (siehe **Kap. 4.5.2**). Auf eine weitere Betrachtung, wie in **Kap. 4.6.1**, wird hier verzichtet. Im Laufe der Versuche wurden die einzelnen Teilschritte immer wieder leicht modifiziert, wie z. B. Änderung des pH-Wertes bei der Aptamerimmobilisierung oder einer Trocknung der silanisierten Faser im Trockenschrank bei $\vartheta = 60^\circ\text{C}$, sodass eine aussagekräftige kinetische Analyse nicht vorgenommen werden kann.

4.5.2 Sensorcharakterisierung

Die Anlagerung und das Binden eines Stoffes aus einer angrenzenden Phase, hier einer flüssigen, an der Phasengrenze wird als Adsorption bezeichnet. Experimentell werden diese Prozesse bei konstanten Temperaturen durchgeführt. Wird die Menge des adsorbierten Substrats gegen die Konzentration des Adsorpts in der Lösung aufgetragen, spricht man bei der resultierenden Kurve von einer **Adsorptionsisotherme**. Diese geben dabei einen Zusammenhang zwischen der Oberflächenbelegung des Adsorbens, der stoffaufnehmenden Phase, und der freien Adsorptkonzentration, der Konzentration der abgegebenen Komponenten wieder [175]. Im Laufe der Jahrzehnte wurde eine Vielzahl verschiedener Isothermen mathematisch beschrieben [176], die sich von unterschiedlichen Modellvorstellung ableiten. Die bekanntesten Modelle sind die 1907 empirische ermittelte Isotherme von Herbert M. F. Freundlich (1880 - 1941), die 1918 von Irving Langmuir (1881 - 1957) entwi-

ckelte Isotherme und die von Stephan Brunbauer (1903-1986), Paul H. Emmett (1900-1985) und Edward Teller (1908-2003) entwickelte Isotherme. Die *Freundlich-Isotherme* beschreibt einen nicht linearen Zusammenhang zwischen der Adsorbataktivität und der Beladung (q) [177]:

$$q = K_F c^{\text{cop}}. \quad (4.7)$$

Dagegen beschreibt die *Langmuir-Isotherme* ein idealisiertes Modell einer Monolage, bei der alle Belegungsplätze äquivalent sind [177]:

$$q = q_{\text{max}} \left[\frac{K_L c}{1 + K_L c} \right]. \quad (4.8)$$

Die dritte Isotherme (*BET-Isotherme*) beschreibt im Gegensatz zur Langmuir-Isotherme die Bildung eines mehrlagigen Systems [177]. Diese Isothermen werden verwendet, um anorganische Problemstellung analytisch zu lösen. So wird die Langmuir-Isotherme beispielsweise genutzt, um chromatografische [178] oder elektrochemische [179] Sorptionsfragestellungen zu lösen. Des Weiteren können auch fluoreszenzquenchende Phänomene mit der Langmuir-Isotherme beschrieben werden [180]. Die Freundlich-Isotherme wird beispielsweise in physikochemischen Praktika verwendet, um die Adsorption von Essigsäure an Aktivkohle zu beschreiben. Die BET-Isotherme findet dagegen z. B. bei der Bestimmung von Porengröße und spezifischer Oberflächen mittels Gasadsorption eine Verwendung [181]. Außerdem ist es auch möglich, Adsorptionsprozesse an biologischen Grenzflächen zu beschreiben, da die Langmuir-Isotherme formal äquivalent zur Michaelis-Menton-Kinetik ist [182, 183]. Dies gilt aber nur, sofern es keine kooperativen Effekte beim Adsorptionsprozeß gibt [182], wie teilweise z. B. die chromatografische Beobachtung von Rezeptor-Ligand-Interaktionen [184]. Auch die Bindung zwischen Aptamer und CRP lässt sich mit Hilfe einer Adsorptionsisothermen beschreiben. In **Abb. 4.34b** ist zu sehen, dass $\Delta\lambda_B$ mit steigender CRP-Konzentration im Bereich von $c_{\text{CRP}} = 8,7 \cdot 10^{-16} \text{ M}$ bis $c_{\text{CRP}} = 8,7 \cdot 10^{-11} \text{ M}$ immer größere Werte an nimmt, während $\Delta\text{Intensität}$ im selben Konzentrationsbereich mit spiegelverkehrtem Verhalten abnimmt. Das Ansteigen von $\Delta\lambda_B$ und das Abnehmen von $\Delta\text{Intensität}$ deuten auf eine kontinuierliche Adsorption von Proteinmolekülen an der biofunktionalisierten Faseroberfläche hin. Mathematisch kann man dieses Verhalten unter der Annahme, dass $\Delta\lambda_B$ proportional zu q ist, mit der sogenannten „Sips-Gleichung“ beschreiben [185, 186]:

$$\Delta\lambda_B = \Delta\lambda_{B,\text{max}} \left[\frac{(K_{\text{LF}} c_{\text{CRP}})^{\text{cop}}}{1 + (K_{\text{LF}} c_{\text{CRP}})^{\text{cop}}} \right]. \quad (4.9)$$

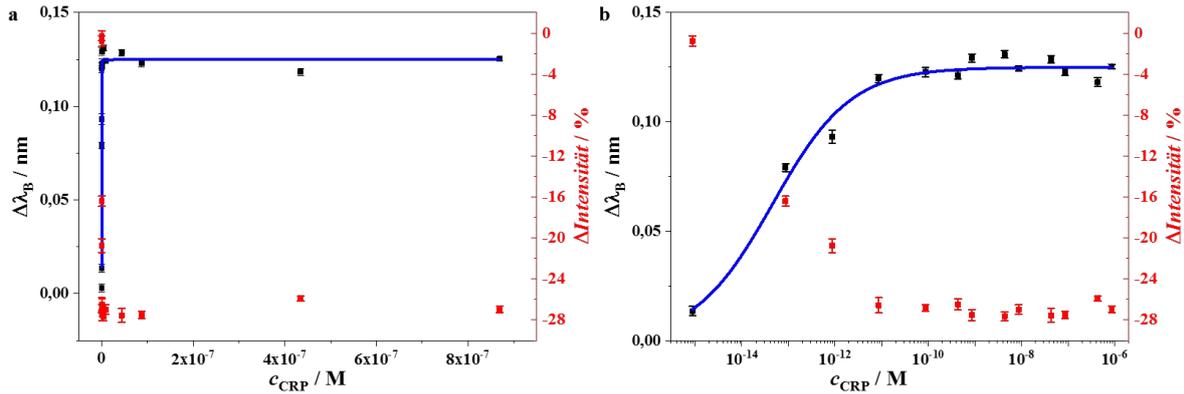


Abbildung 4.34: Es ist eine Messreihe von $\Delta\lambda_B$ (schwarze Quadrate) und von $\Delta\text{Intensität}$ (rote Quadrate) als Funktion der CRP-Konzentrationen dargestellt. Die Daten von $\Delta\lambda_B$ gegen c_{CRP} sind zum einen in (a) einer linearen und zum anderen in (b) einer halblogarithmischen Auftragung gezeigt, um das asymptotische Verhalten von $\Delta\lambda_B$ innerhalb des CRP-Konzentrationsbereiches zu verdeutlichen. In den Spektren sind die Mittelwerte mit entsprechenden SE von jeweils zehn Einzelspektren der Messreihe gezeigt. Des Weiteren ist die mit **Gl. 4.9** angepasste nicht lineare Regression (blau) mit einer Güte von $R^2 = 0,9935$ gezeigt.

Die „Sips-Gleichung“ ist in der Literatur auch als *Langmuir-Freundlich-Isotherme* bekannt. Mit dieser Adsorptionsisotherme lässt sich sowohl das homogene Binden von CRP an äquivalenten Bindungsstellen als auch das heterogene Binden von CRP im Falle von Kooperativität beschreiben [187, 188]. Letztendlich wird außerdem nur eine einzige Lage von bindenden Molekülen angenommen, da die Aptamergröße ($M \approx 15$ kDa) relativ klein im Vergleich zum pentamerisch geformten CRP-Molekül ($M = 115$ kDa) ist. Die Langmuir-Freundlich-Isotherme kombiniert sowohl das Verhalten von Langmuir als auch das von Freundlich. $\Delta\lambda_{B,\text{max}}$ ist hier die maximale Bragg-Wellenlängenverschiebung, die bei der Belegung aller möglichen Bindungsstellen (q_{max}) erreicht werden würde. K_{LF} ist die Gleichgewichtskonstante, c_{CRP} ist die molare CRP-Konzentration ($1 \text{ mg/L} = 8,7 \cdot 10^{-9} \text{ M}$) und der Exponent cop ist der empirische Langmuir-Freundlich-Parameter, welcher auf eine Kooperativität hinweist [187]. Für Werte von $\text{cop} < 1$ spricht man von negativer Kooperativität und bei $\text{cop} > 1$ spricht man von positiver Kooperativität. Im Falle eines homogenen Systems, $\text{cop} = 1$, ergibt sich aus **Gl. 4.9** die Langmuir-Isotherme. Für sehr kleine CRP-Konzentrationen oder einer sehr kleinen Gleichgewichtskonstanten ($c_{\text{CRP}} \rightarrow 0$ oder $K \rightarrow 0$) resultiert aus **Gl. 4.9** die Freundlich-Isotherme. Das Anpassen der Messkurve mit der nicht linearen Regression (**Gl. 4.9**) zeigte das erwartete Verhalten, welches in einer asymptotischen Annäherung an einer maximalen Änderung von $\Delta\lambda_{B,\text{max}} = (125,0 \pm 2,7) \text{ pm}$ und einer Bindungskonstanten von $K_{\text{LF}} = (2,2 \pm 0,7) \cdot 10^{13} \text{ M}^{-1}$ mit einer Güte der nicht linearen Regression von $R^2 = 0,9935$ endete (**Abb. 4.34a**). Der Parameter (cop), der auf die Heterogenität der Reaktion hinweist, wurde berechnet mit $\text{cop} = 0,52 \pm 0,05$.

Mit der Bestimmung dieser Parameter war es möglich, weitere charakteristische Kenngrößen von FOB zu ermitteln [96, 189–191]. Als erstes konnte die theoretische Oberflächenbeladungskonzentration σ_{\max} berechnet werden. Sie gibt die CRP-Konzentration an, die bei vollständiger Besetzung aller zur Verfügung stehenden Bindungsstellen erreicht werden würde. Wie oben bereits erwähnt, wird nur eine Monolage an bindenden CRP an der funktionalisierten Faseroberfläche angenommen und als mittlerer Durchmesser des pentamerischen CRP-Moleküls wird ein Wert von $d = 11,13$ nm verwendet [86]:

$$\sigma_{\max} = \frac{M}{N_A} \frac{1}{d^2}, \quad (4.10)$$

mit der molaren Masse vom CRP von $M = 115.000$ g/mol und $N_A = 6,02 \cdot 10^{23}$ mol⁻¹ als die Avogadro-Konstante. Die molare Masse des CRP-Moleküls entsprechen den Herstellerangaben. So wird die Oberflächenbeladungskonzentration bei einer CRP-Sättigung von $\sigma_{\max} = 1,542$ ng/mm² erreicht. Dieser Wert ist für alle folgenden Berechnungen bei CRP-spezifischen FOB identisch. Die Sensitivität des CRP-spezifischen, NP-basierten eFBG-Biosensors S_{BS} , bei der Verwendung des CRP-40-17-SH-3'-Aptamers als Erkennungseinheit ergibt sich aus:

$$S_{BS} = \frac{\Delta\lambda_{B,\max}}{\sigma_{\max}}. \quad (4.11)$$

Daraus ergab sich eine Sensitivität von $S_{BS} = 0,0811$ nm/(ng/mm²). Die theoretische Detektionsgrenze des NP-basierten Biosensors DL_{BS} wurde berechnet mit:

$$DL_{BS} = \frac{\Delta\lambda_{\text{fit}}}{S_{BS}}. \quad (4.12)$$

Mit der bereits in **Kap. 3.3.4** angenommen Genauigkeit der Gauß-Anpassung von $\Delta\lambda_B$ aus dem Reflexionsspektrum von $\Delta\lambda_{\text{fit}} = 5$ pm ergab sich eine theoretische Detektionsgrenze von $DL_{BS} = 0,0617$ ng/mm². Aus diesen Grund ist die Detektionsgrenze des eFBG Biosensors von vornherein bestimmt von der Auflösung des Spektrometers oder eher mit der Anpassungsgenauigkeit des in **Kap. 3.3.4** erwähnten zusätzlichen Analysenprogramms. Geschriebene FBG mit höherer Reflektivität würden ein besseres SNR ergeben, das dann wiederum zu einer Herabsetzung der Detektionsgrenze führen würde. Des Weiteren konnte durch Umstellen der Langmuir-Freundlich-Isothermen (**Gl. 4.9**) die CRP-Konzentration ermittelt werden, welche zu einem $\Delta\lambda_B$ führen würde, das gleich der Anpassungsgenauigkeit des zusätzlichen Analysenprogramms ist:

$$c_{\text{CRP,lim}} = \frac{1}{K_{\text{LF}}} \left[\frac{\Delta\lambda_{\text{fit}}}{\Delta\lambda_{B,\max} - \Delta\lambda_{\text{fit}}} \right]^{\frac{1}{\text{cop}}}, \quad (4.13)$$

mit $\Delta\lambda_B = \Delta\lambda_{\text{fit}}$. Die kleinste bestimmbare CRP-Konzentration für diesen Biosensoraufbau wurde berechnet auf einen Wert von $c_{\text{CRP,lim}} = 9,8 \cdot 10^{-17}$ M. Das entsprach einer Massenkonzentration von $\gamma_{\text{CRP}} = 11,3$ pg/L. Bei dieser Messung stellte sich aber die Frage, ob bei kleineren Konzentrationen an CRP ($c_{\text{CRP}} < 8,7 \cdot 10^{-16}$ M) noch ein weiteres $\Delta\lambda_B$ und $\Delta\text{Intensität}$ hätten gemessen werden können. Wie in **Abb. 4.34b** zu erkennen ist, fehlte der nach Freundlich verlaufende Bereich bei sehr kleinen Konzentrationen. Dieser würde S_{BS} , DL_{BS} und $c_{\text{CRP,lim}}$ positiv beeinflussen. $\Delta\lambda_B$ bei kleineren Konzentration würde $\Delta\lambda_{\text{B,max}}$ erhöhen und damit S_{BS} ansteigen lassen, was im Vergleich mit anderen FOB eine bessere Eignung zur Proteinmessung hervorrufen würde. Des Weiteren könnten mit der Erhöhung von $\Delta\lambda_{\text{B,max}}$ noch geringere Mengen an CRP detektiert werden.

Man muss diese Werte aber mit Vorsicht und relativ betrachten, da zum Erhalt nur eine Messreihe ausgewertet werden konnte. Es war im Endeffekt unklar, ob diese große $\Delta\lambda_B$ -Werte „echt“ waren oder ob nur kleine $\Delta\lambda_B$ -Werte von CRP hervorgerufen wurde. Im weiteren Verlauf konnten mit diesem Biosensoraufbau keine Messreihen ($N = 27$) mehr erfolgreich abgeschlossen werden, so dass man sie in irgendeiner Form hätte anpassen können. Viele Messungen wiesen zwar noch den gewünschten Effekt zwischen $\Delta\lambda_B$ und $\Delta\text{Intensität}$ auf (**Abb. 4.35a**), aber es wurde keine kontinuierliche Änderung von $\Delta\lambda_B$ zu positiveren Werte hin beobachtet. Des Weiteren sind teilweise Messreihen entstanden, in deren Verlauf nur kleine $\Delta\lambda_B$ - und kleine $\Delta\text{Intensität}$ -Werte über den gesamten CRP-Konzentrationsbereich beobachtet worden sind (**Abb. 4.35b**). In diesen Fällen war es unklar, ob die Änderungen konzentrationsabhängig sind oder sie eventuell andere Ursachen hatten (vgl. **Kap. 3.3.9**). Eine Ursache für das Fehlen eines konzentrationsabhängigen $\Delta\lambda_B$ könnte außerdem die Immobilisierung mit den $\text{SiO}_2\text{:Au-NP}$ darstellen,

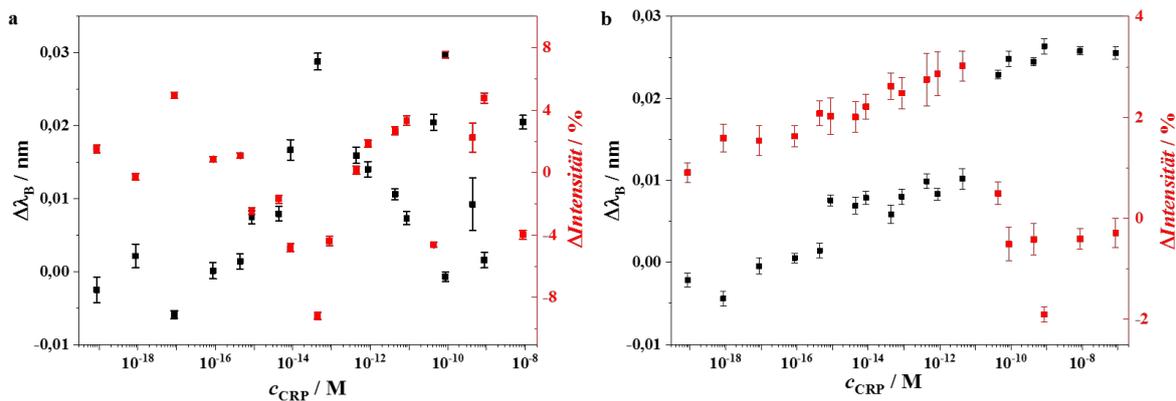


Abbildung 4.35: Es sind als Beispiele die Ergebnisse zwei weiterer Messungen (a,b) von $\Delta\lambda_B$ (schwarze Quadrate) und $\Delta\text{Intensität}$ (rote Quadrate) als Funktion der CRP-Konzentrationen in einer halblogarithmischen Auftragung dargestellt. In den Spektren sind die Mittelwerte mit entsprechenden SE von jeweils zehn Einzelspektren einer Messreihe gezeigt.

worauf deren Beladung auf der Faseroberfläche mit Hilfe von SEM-Aufnahmen überprüft worden ist. Wie in **Abb. 4.36** erkennbar ist, ist der Bedeckungsgrad der Faser mit den Nanopartikeln, die als kleine helle Kugeln erkennbar sind, ungleichmäßig. Die Bedeckung unterschied sich sowohl von Faser zu Faser (vgl. **Abb. 4.36a** mit **Abb. 4.36d**), als auch lokal auf ein und derselben Faser (**Abb. 4.36a**). Auf den Aufnahmen sind außerdem noch kristalline Strukturen und Proteinüberreste erkennbar. Die Proteinrückstände sind als fadenartige Strukturen wie z. B. in **Abb. 4.36b** sichtbar. Bei den kristallinen Strukturen handelt es sich um Salzzurückständen von den verwendeten Puffern. Ferner

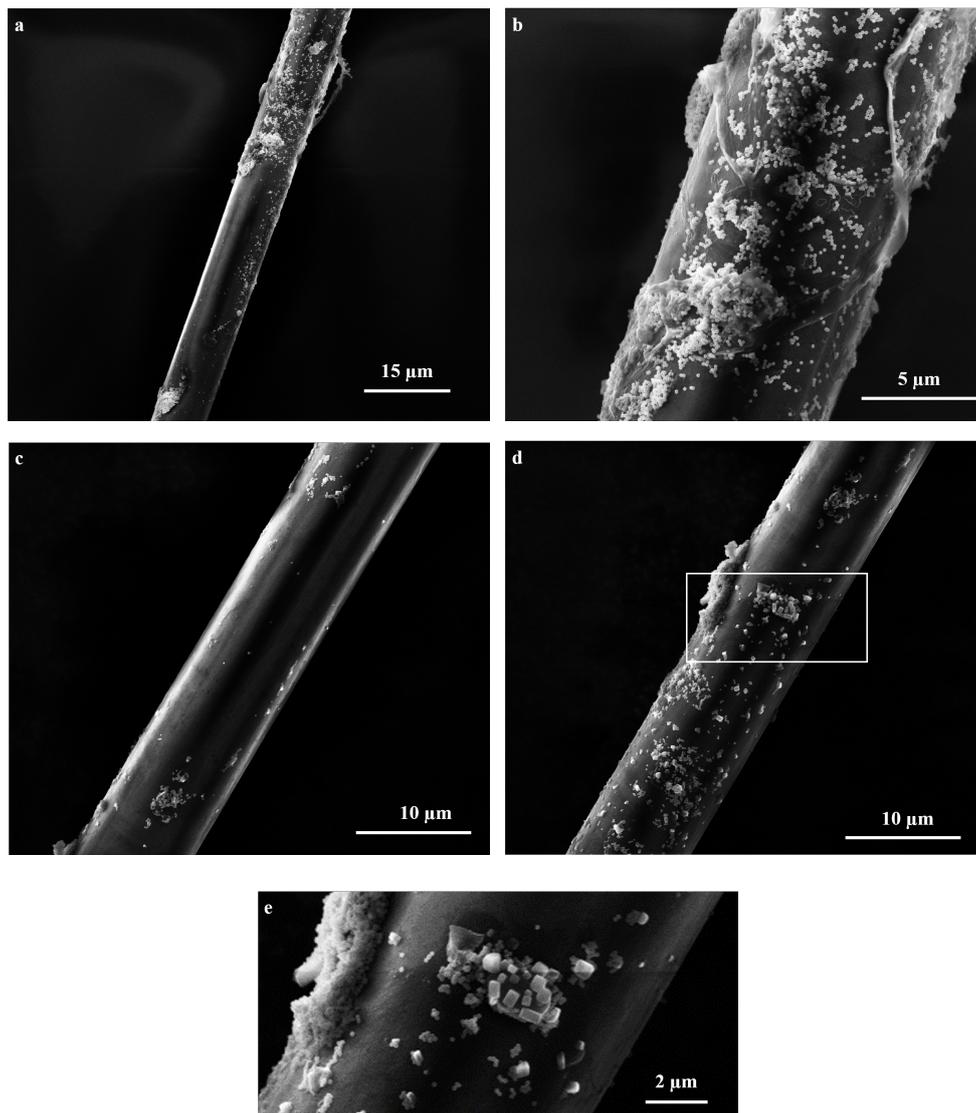


Abbildung 4.36: Die SEM-Aufnahmen a - d zeigen die Verteilung der $\text{SiO}_2\text{:Au-NP}$ auf den mit MPTES funktionalisierten Fasern. Bei den hellen rechteckigen und runden Strukturen in der Vergrößerung (e) von d handelt es sich um kristalline Pufferrückstände bzw. um die $\text{SiO}_2\text{:Au-NP}$, während es sich bei den fadenartigen Strukturen in b um Proteinrückstände handelt.

sind in **Abb. 4.36b** und **d** klumpenartige Ansammlungen von NP auf der Faseroberfläche vorhanden. Das alles lässt den Schluss aufkommen, dass die kovalente Bindung der NP auf der Faseroberfläche uneinheitlich war. Eine Klumpenbildung, die bereits vor der Immobilisierung auf der Faser einsetzte, konnte eigentlich ausgeschlossen werden. Vor der Beladung der Faser wurden die NP in ihrer Stammlösung zunächst im Ultraschallbad bei ca. 35°C behandelt und anschließend noch zehn Minuten zentrifugiert (vgl. **Kap. 3.3.7**). Wie in der Beispielmessung (**Abb. 4.33b**) gezeigt, kann allein mit der Beobachtung von $\Delta\lambda_B$ keine Aussage über den einheitlichen Belegungsgrad der SiO₂:Au-NP getroffen werden. Es waren zwar sehr viele NP auf der Faser immobilisiert (**Abb. 4.36**), aber deren Verteilung war nicht uniform, was im Mittel über das gesamte FBG nicht desto trotz eine n_U -Änderung hervorgerufen hat. Trotzdem konnte es dadurch passieren, dass relativ wenig NP in Bezug auf die möglich Anzahl an NP im sensitiven eFBG-Bereich herum kovalent gebunden waren. Dies hätte zur Folge, dass der verstärkende Effekt nur im geringen Maße oder gar nicht auftreten würde. Durch den wenig oder gar fehlenden Effekt in Kombination mit den ca. 155 nm großen NP würde die Anlagerung der Aptamere mit ihren 49 nt und die Detektion der CRP-Molekülen in einen Bereich des evaneszenten Feldes der Faser geraten, in der nur viel größere Mengen an Adsorpt zu messbaren n_U -Änderungen führen würden. Das könnte das fehlende kontinuierliche $\Delta\lambda_B$ erklären.

4.6 GOPTS-basierter Biosensor

4.6.1 Biofunktionalisierung

Der in diesem Abschnitt präsentierte Biosensor **Abb. 4.37** basiert auf die Arbeiten aus der Masterarbeit von M. Wehrhold [192]. Hier wurde die geätzte Faser mit (3-Glycidylpropyl)trimethoxysilan (GOPTS) funktionalisiert und anschließend direkt mit der Erkennungseinheit kovalent verknüpft. Der Vorteil bei der Verwendung von GOPTS ist, dass es keiner „Verküpferereinheiten“ mehr bedarf. Die terminale Epoxidgruppe kann je nach Bedingung mit terminalen Thiol-, Amino- und Hydroxylgruppen reagieren [92]. Nachteile dieser Verbindung sind, dass es aufgrund der Ringspannung der Epoxidgruppe sehr reaktiv ist, sodass es bereits in Anwesenheit von Licht reagieren kann [193]. Im Gegensatz zur Vorgängerarbeit wurde nicht mit einem Aptamer gearbeitet, dass aus 80 nt bestand und mit einer terminalen Aminogruppe am 3'-Ende versehen worden ist

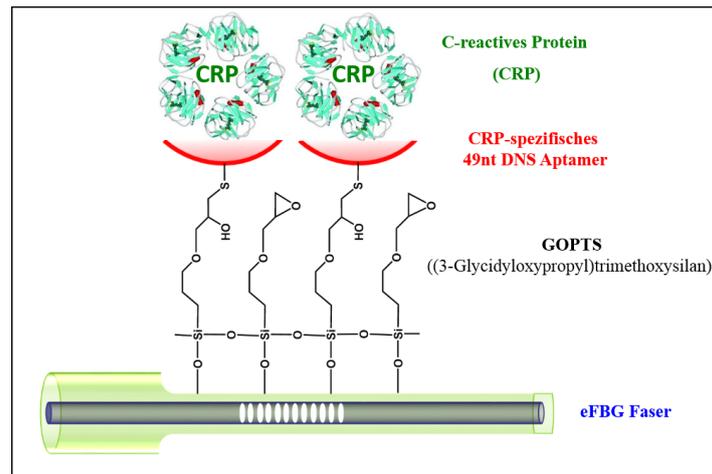


Abbildung 4.37: Die Abbildung zeigt eine schematische Darstellung des GOPTS-basierten Biosensors. Der Bereich um das für die Messung vorgesehene FBG wird mit HF geätzt (blauer Bereich). Die Oberfläche wird dann mit dem Silan (3-Glycidyloxypropyl)trimethoxysilan (GOPTS) funktionalisiert (schwarzer Bereich). Als Erkennungseinheit fungiert ein CRP-spezifisches Aptamer, hier ein 49 nt großes DNS-Aptamer (roter Bereich). Das Aptamer reagiert dann mit dem Analyten, hier CRP (grüner Bereich). CRP-Struktur nach [83].

[88]. Für den hier präsentierten Aufbau wurde ein 49 nt großes Aptamer verwendet, das eine terminale Thiolgruppe besaß und bereits für den NP-basierten Sensor verwendet worden ist. Dieses Aptamer besitzt aufgrund der Thiolgruppe im Vergleich zur Aminogruppe den Vorteil, dass es bereits im neutral bis schwach basischen pH -Bereich ($pH = 7,5 - 8,5$ gegenüber $pH = 9 - 10$) einen nukleophilen Angriff auf die Epoxidgruppe vollführen kann. Diese Reaktivität wurde dann im weiteren Verlauf auch für die Deaktivierung verwendet. Als Verbindung für die Deaktivierung der nicht reagierten Epoxidgruppen wurde das L-Cystein benutzt. Es hatte den Vorteil eines kleinen Moleküls ($M = 121,2 \text{ g/mol}$), welches ebenfalls mit einer Thiolgruppe bei $pH \approx 8$ eine Ringöffnung vollziehen konnte. Im Endeffekt sollten dann alle reaktiven Gruppen reagiert haben, sodass eine weitere Blockierung beispielsweise mit BSA (Rinderserumalbumin) nicht mehr nötig wäre. Bei BSA würde aufgrund der Größe die Gefahr bestehen, dass die kleineren Aptamere ihre Reaktivität mit dem Analyten aufgrund sterischer Hinderung verlieren könnten.

Um zu überprüfen, inwiefern sich dieser Aufbau für die Detektion von CRP eignete, wurde ein weiteres Kontrollexperiment durchgeführt (**Abb. 4.38**). Bei diesem Experiment wurde die Funktionalisierung an einer SiO_2 -Oberfläche an Deckgläschen mittels eines Fluoreszenzsandwichnachweises getestet. Die Fluoreszenzsignale wurden durch Bindung eines zweiten CRP-spezifischen Aptamers erreicht, welches mit dem Cyanin 5-Farbstoff (Cy5) verbunden war. Die vorhandenen Fluoreszenzsignale wurden nicht über die relative Fluoreszenzintensität bestimmt, sondern als „Partikel“. Wie in **Kap. 3.3.8.3** beschrie-

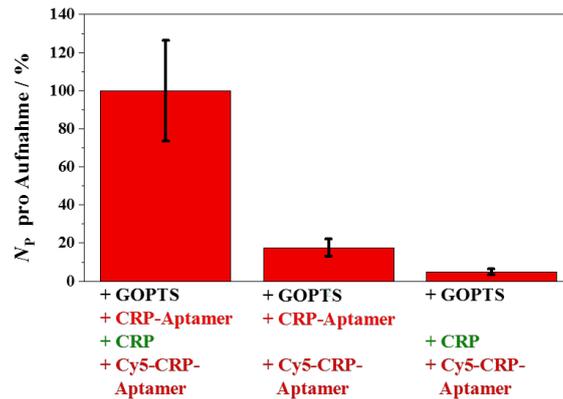


Abbildung 4.38: Das Säulendiagramm zeigt das Kontrollexperiment zur spezifischen Bindung des Analyten CRP bei einer definierten Biofunktionalisierung auf einer Glasoberfläche. Die fluoreszenzmikroskopische Detektion der Anzahl von fluoreszierenden Signalen (N_P) erfolgte mit Hilfe eines zweiten CRP-spezifischen Aptamers, der mit einem Cy5-Farbstoff gekoppelt worden ist. Die Funktionalisierung der Glasoberfläche erfolgte analog zur Funktionalisierung der geätzten Faseroberfläche. Bei Probe B entstand ein Bioassay, der aus GOPTS, dem CRP-Aptamer, CRP und dem Cy5 gekoppelten Aptamer bestand. Bei Probe A wurde die CRP-Immobilisierung weggelassen, während bei Probe C die Immobilisierung des ersten Aptamers fehlte. Die Abbildung zeigt eine prozentuale Darstellung von N_P in Relation zur Probe B. Es sind dabei die Mittelwerte mit dazugehörigen SE aus $N = 16$ Bildern berechnet worden.

ben, wurden die Signale über eine lokal begrenzte Intensitätsänderung als „Partikel“ vom Auswerteprogramm detektiert. Für den Vergleich wurden nun die Mittelwerte der detektierten Partikel (N_P) von jeder Probe im prozentualen Vergleich zur Probe B dargestellt. Anhand von **Abb. 4.38** erkennt man, dass bei Vorhandensein von GOPTS, dem CRP-spezifischen Aptamer und CRP die meisten Fluoreszenzsignale mit $N_P = (100 \pm 26)\%$ detektiert worden sind. Bei der Probe A, d. h. in Abwesenheit von CRP, aber in Gegenwart beider Aptamere wurde lediglich eine geringe Partikelanzahl von $N_P = (18 \pm 4)\%$ ermittelt. Diese dürfte aufgrund unspezifischer Bindung zwischen den beiden Aptamern bzw. zwischen dem farbstoffgekoppelten Aptamer und der übrigen funktionalisierten Glasoberfläche zustande gekommen sein. In der Probe C, ohne das unmarkierte Aptamer, welches normalerweise an das GOPTS gebunden wird, wurden nur $N_P = (5 \pm 1)\%$ Fluoreszenzsignale beobachtet. Aus diesen Ergebnissen lassen sich folgende Vermutungen ableiten, dass zum einen der Aufbau des Biosensors in Bezug auf die experimentellen Parameter realisierbar ist und zum anderen, dass CRP lediglich in sehr geringen Mengen unspezifisch an die funktionalisierte Oberfläche bindet.

Die Adsorption von GOPTS (**Abb. 4.39a**) an die Faseroberfläche und die Anlagerung der Aptamere an die funktionalisierten Fasern (**Abb. 4.39b**) zeigten ein ähnliches Verhalten wie die Anlagerung von MP TES (**Abb. 4.33a**) bzw. die Anlagerung der Aptamere an $\text{SiO}_2\text{:Au-NP}$ (**Abb. 4.33c**). Da hier über eine längere Zeitspanne die Reaktionsbedin-

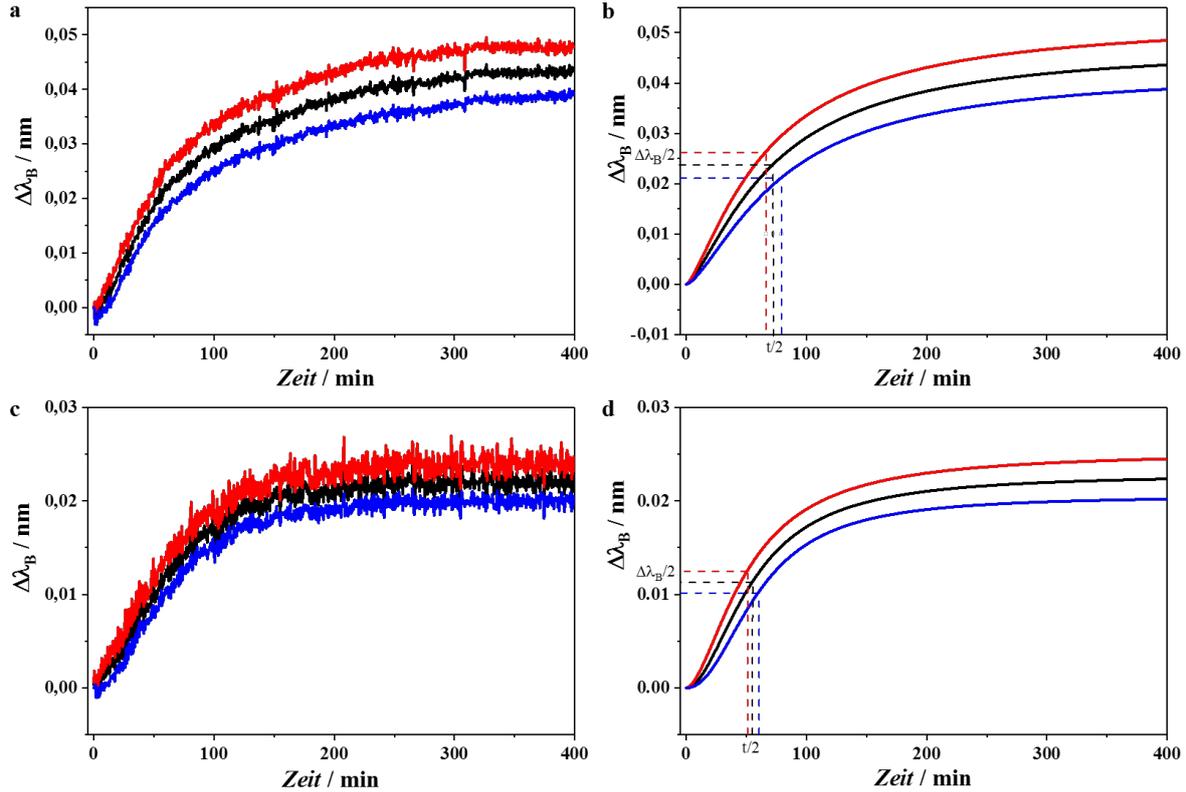


Abbildung 4.39: Es sind $\Delta\lambda_B$ über die Zeit während (a) der Immobilisierung in einer 2,5%igen GOPTS-Lösung und (c) der Immobilisierung in einer Aptamer-Lösung ($c = 1 \mu\text{M}$) dargestellt. Des Weiteren zeigen (b,d) die jeweiligen nach **Gl. 4.14** angepassten Funktionen von a bzw. c. Zur besseren Übersicht stellen die Abbildungen sowohl die Mittelwerte (schwarz), als auch die Mittelwerte plus SE (rot) und die Mittelwerte minus SE (blau) aus (a) $N = 32$ und aus (c) $N = 20$ gewichteten Einzelmessungen dar. Die Gewichtung der Zeitkurven erfolgte auf eine äquivalente Art, wie es in **Kap. 3.3.9.2** beschrieben ist.

gungen konstant blieben, konnte neben einer thermodynamischen Betrachtung in Bezug auf die Anlagerung an die Faser auch eine kinetische Beschreibung in Bezug auf die Reaktionsgeschwindigkeit erfolgen. Für die folgenden Betrachtungen wird zunächst **Gl. 4.9** von einer konzentrationsabhängigen Gleichung in eine zeitabhängige transformiert:

$$\Delta\lambda_B = \Delta\lambda_{B,\max} \left[\frac{(K_{LF}t)^{\text{cop}}}{1 + (K_{LF}t)^{\text{cop}}} \right]. \quad (4.14)$$

Die Bestimmung der Zeit ($t/2$), in der die Hälfte der Reaktion abgelaufen ist, erfolgte aus **Gl. 4.14** durch das Umformen nach t , dies entsprach einer transformierten Form von **Gl. 4.13**:

$$t = \frac{1}{K_{LF}} \left[\frac{\Delta\lambda_B}{\Delta\lambda_{B,\max} - \Delta\lambda_B} \right]^{\frac{1}{\text{cop}}}. \quad (4.15)$$

Zum Zeitpunkt $t/2$ galt $\Delta\lambda_B = \frac{\Delta\lambda_{B,\max}}{2}$. Daraus ergab sich die nachfolgende Beziehung für $t/2$:

$$t/2 = \frac{1}{K_{LF}} \cdot 1^{\frac{1}{\text{cop}}}. \quad (4.16)$$

Beide Reaktionen wiesen eine kontinuierliche Änderung von $\Delta\lambda_B$ über die Zeit auf. Bei der Anlagerung von GOPTS und den Aptameren erfolgten die Änderungen nach einer kurzen Zeit von einigen wenigen Minuten. Während die Reaktion beim GOPTS im Mittel nach etwa 360 Minuten beendet zu sein schien, was in einem gemittelten konstanten Wert von $\Delta\lambda_{B,\max} \approx 48$ pm resultierte. Für die Gesamtheit aller Messungen ergab sich dabei eine Spanne, die aus der Verrechnung mit SE resultierte, von $\Delta\lambda_{B,\max} \approx 43 - 53$ pm. Die Ergebnisse der nicht linearen Anpassungen sind in **Tab. 4.4** für alle drei Kurven dargestellt und anhand dieser Daten konnte man sagen, dass nach rund $t \approx 66 - 79$ Minuten die

Tabelle 4.4: Die Tabelle zeigt die Ergebnisse der nicht linearen Regression nach **Gl. 4.14** aus **Abb. 4.39b** der $\Delta\lambda_B$ - t -Kurven, die während der Funktionalisierung der geätzten Fasern mit GOPTS aufgenommen worden sind (**Abb. 4.39a**).

Parameter	Mittelwert	Mittelwert minus SE	Mittelwert plus SE
$\Delta\lambda_{B,\max}$ in pm	$47,6 \pm 0,1$	$42,5 \pm 0,2$	$52,7 \pm 0,2$
K_{LF} in min^{-1}	$0,0139 \pm 0,0001$	$0,0126 \pm 0,0001$	$0,0151 \pm 0,0001$
cop	$1,40 \pm 0,01$	$1,45 \pm 0,01$	$1,35 \pm 0,01$
$t/2$ in min	71,94	79,37	66,23

Hälfte der Reaktion abgeschlossen worden war und bis zur Sättigung weitere 290 Minuten benötigt wurden. Bei den Silanen geht man davon aus, dass zuerst intramolekulare Kondensationsreaktionen und intermolekulare Polymerisationen zwischen einzelnen Silanmolekülen vollzogen werden, bevor es zur intermolekularen Kondensationsreaktionen an der Faseroberfläche kommt [92]. Dies würde erklären, warum die Reaktion mit steigender Zeit immer langsamer wird. Des Weiteren wiesen die Langmuir-Freundlich-Parameter mit $\text{cop} = 1,35 - 1,45$ in **Tab. 4.4** auf eine positive Kooperativität hin. So könnten diese Werte darauf hindeuten, dass die Reaktion hin zum Faser-GOPTS-Komplex begünstigt war. Mit der Zeit würde die Lösung in Bezug auf freie GOPTS-Moleküle verarmen, was zu einer Verlangsamung der Reaktionsgeschwindigkeit führen würde. Die Messkurven der Aptameranlagerung zeigten im Vergleich zu denen der GOPTS-Reaktion deutliche Unterschiede auf (**Abb. 4.39a** und **c**). Zum einen zeigten sich mit einem $\Delta\lambda_{B,\max}$ von $\Delta\lambda_{B,\max} \approx 21 - 25$ pm nur etwa eine halb so große Verschiebung. Man könnte das erklären, indem man davon ausgeht, dass die GOPTS-Moleküle kompakt an der Faseroberfläche gebunden sind und so n_U stärker beeinflussen, obwohl die Aptamere eine größere Molmasse besitzen. Die

Aptamere dürften dagegen nicht in dieser Kompaktheit an die Faser gebunden sein, außerdem müssten die Aptamere in einer gestreckten Form vorliegen. Im Endeffekt müsste der Einfluss auf n_U global betrachtet dadurch geringer ausfallen, da sie auch weiter entfernt von der Oberfläche vorhanden sind. Mit größerer Distanz vom Kern nimmt die Intensität des evaneszenten Feldes ab (**Kap. 4.4.2**) und damit der Einfluss auf n_{eff} bzw. auf λ_B . Des Weiteren wird aus **Abb. 4.39** und aus **Tab. 4.5** deutlich, dass die Reaktion der Aptamere mit den Epoxidgruppen der GOPTS-Moleküle schneller ablief als diese mit der Faseroberfläche. Konstante $\Delta\lambda_{B,\text{max}}$ -Werte wurden schon nach etwa 120 Minuten erreicht,

Tabelle 4.5: Die Tabelle zeigt die Ergebnisse der nicht linearen Regression nach **Gl. 4.14** aus **Abb. 4.39d** der $\Delta\lambda_B$ - t -Kurven, die während der Anlagerung der CRP-spezifischen Aptamere an die GOPTS-Moleküle aufgenommen worden sind (**Abb. 4.39c**).

Parameter	Mittelwert	Mittelwert minus SE	Mittelwert plus SE
$\Delta\lambda_{B,\text{max}}$ in pm	$22,9 \pm 0,1$	$20,5 \pm 0,0$	$25,2 \pm 0,1$
K_{LF} in min^{-1}	$0,0180 \pm 0,0001$	$0,0166 \pm 0,0001$	$0,0195 \pm 0,0002$
cop	$1,90 \pm 0,03$	$2,14 \pm 0,02$	$1,70 \pm 0,03$
$t/2$ in min	54,49	60,35	51,20

wobei die Reaktion bereits nach $t/2 = 51 - 60$ Minuten zur Hälfte abgeschlossen schien. Des Weiteren sind die Langmuir-Freundlich-Parameter mit $\text{cop} = 1,70 - 2,14$ deutlich höher als die entsprechenden der GOPTS-Reaktion. Danach müsste die Aptameranlagerung noch mehr begünstigt sein, als im Vergleich dazu die Reaktion von GOPTS mit der Faseroberfläche. Eventuell könnte das auf eine katalytisch beeinflusste Reaktion hindeuten, die zum einen die Ringöffnung fördert und zum anderen die Thiolgruppen deprotoniert bzw. dafür sorgt, dass einige wenige Thiolgruppen in deprotonierter Form vorliegen und dann eine Art autokatalytische Reaktion vollzogen wird.

Aber man zu allen Thesen sagen, dass jedwede detaillierte Aussage rein spekulativ ist, weil im Rahmen dieser Arbeit in diese Richtung keine weiteren Untersuchungen durchgeführt worden sind.

4.6.2 Sensorcharakterisierung und -validierung

Wie bereits beim NP-basierten Biosensor (**Kap. 4.5.2**) konnte auch bei der Verwendung des GOPTS-basierten Aptamersensors das Verhalten von $\Delta\lambda_B$ gegen c_{CRP} mit der Hilfe der Langmuir-Freundlich-Isotherme (**Gl. 4.9**) beschrieben werden. In **Abb. 4.40b** ist zu

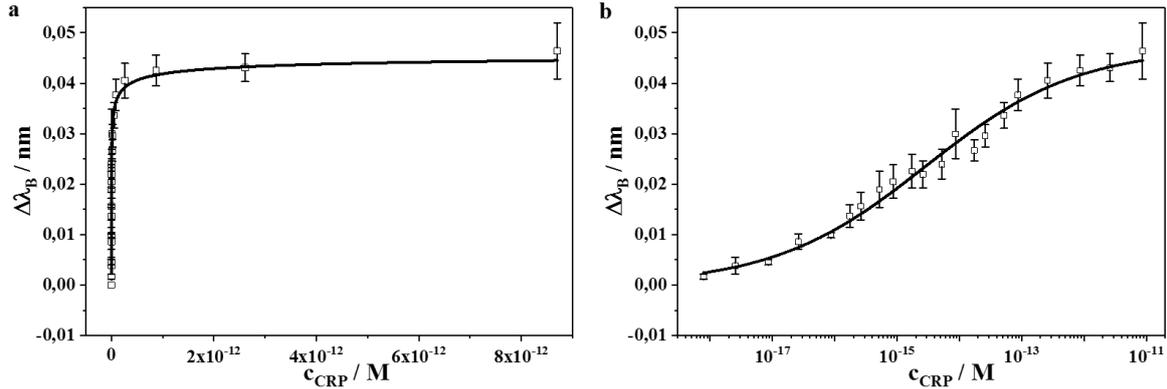


Abbildung 4.40: Es ist $\Delta\lambda_B$ der biofunktionalisierten eFBG Faser als Funktion der CRP-Konzentrationen dargestellt. Die Daten wurden mit der Langmuir-Freundlich-Isotherme (Gl. 4.9) (Linien) unter Verwendung einer statistischen Gewichtung von SE angepasst, wobei deren Anpassungsgenauigkeit bei $R^2 = 0,9879$ lag. Die Daten von $\Delta\lambda_B$ gegen c_{CRP} sind zum einen in (a) einer linearen und zum anderen in (b) einer halblogarithmischen Auftragung gezeigt, um das asymptotische Verhalten von $\Delta\lambda_B$ innerhalb des CRP-Konzentrationsbereiches zu verdeutlichen. In den Spektren sind die gewichteten Mittelwerte mit entsprechenden SE von $N = 5$ Messreihen dargestellt. Die Gewichtung der Messreihen erfolgte auf die Art, wie es in Kap. 3.3.9.2 beschrieben ist.

erkennen, dass sich auch hier ein sigmoidaler Verlauf von $\Delta\lambda_B$ bei einer logarithmischen Auftragung von c_{CRP} ergab. Des Weiteren zeigte sich dagegen in **Abb. 4.40a** wiederum analog zum NP-basierten Biosensor eine asymptotischen Annäherung an $\Delta\lambda_{B,max}$ bei steigender Konzentration. Das Anpassen der Messkurve mit der Isothermen ergab ein $\Delta\lambda_{B,max}$ von $\Delta\lambda_{B,max} = (47,10 \pm 2,3)$ pm. Des Weiteren wurde eine Gleichgewichtskonstante von $K_{LF} = (3,5 \pm 1,3) \cdot 10^{14} \text{ M}^{-1}$ mit einer Güte der nicht linearen Regression von $R^2 = 0,9879$ ermittelt. Der „Heterogenitätsparameter“ wurde mit $\text{cop} = 0,36 \pm 0,02$ wieder gegeben. Aus **Gl. 4.11** bis **Gl. 4.13** ergaben sich für diesen Sensor wieder charakteristische Sensorgrößen. Das theoretischen Detektionslimit dieses CRP-spezifischen Sensors war $DL_{BS} = 0,1637 \text{ ng/mm}^2$ mit einer Sensitivität von $S_{BS} = 0,0305 \text{ nm}/(\text{ng/mm}^2)$. Und das mit dem experimentellen Aufbau unter Verwendung des GOPTS-basierten Sensor-designs möglich zu detektierende Konzentrationslimit wurde mit $c_{CRP,lim} = 7,1 \cdot 10^{-18} \text{ M}$ bestimmt, was einer Massenkonzentration von $\gamma_{CRP,lim} = 0,82 \text{ pg/L}$ entsprach. Im Vergleich zum NP-basierten Sensor ergaben sich Unterschiede, die man auf die verschiedenen Oberflächenbeschaffenheiten zurückführen könnte. So zeigte der NP-Sensor ein deutlich größeres $\Delta\lambda_{B,max}$ mit $\Delta\lambda_{B,max} = 125 \text{ pm}$ im Vergleich zu $\Delta\lambda_{B,max} = 47 \text{ pm}$ vom GOPTS-Sensor im Konzentrationsbereich von $c_{CRP} \approx 10^{-16} \text{ M}$ bis $c_{CRP} = 10^{-11} \text{ M}$, was auf das Vergrößern des evaneszenten Feldes zurück zu führen sein könnte. Des Weiteren scheint auch die NP-Oberfläche eventuell dafür zu sorgen, dass die störenden Einflüsse bei den ein-

zelen Besetzungsstellen abnimmt, da der Langmuir-Freundlich-Exponent mit $\text{cop} = 0,51$ im Gegensatz zu $\text{cop} = 0,36$ näher am ideellen Wert von $\text{cop} = 1$ war. So könnte eventuell mit Berücksichtigung der mikroskopischen Aufnahmen (**Abb. 4.36**) der Bedeckungsgrad der Aptamere auf der Goldoberfläche geringer sein als auf der GOPTS-immobilisierten Faseroberfläche. Trotzdem zeigten S_{BS} und DL_{BS} , dass der NP-Sensor im Vergleich zum GOPTS-basierten Sensor sensitiver bei der Bestimmung von CRP war, wobei beim NP-basierten Sensor noch die Intensitätsabnahme als zweite Messgröße verwendet werden konnte. Der Nachteil war aber, dass die Herstellung noch nicht so realisiert werden konnte, dass reproduzierbare Ergebnisse entstehen konnten. Beim GOPTS-basierten Sensor handelte es sich im Vergleich dazu um eine „einfachere Herstellung“, sodass hier eine Validierung des Sensors in verschiedenen Systemen erfolgen konnte. Eine grafische Darstellung von $\Delta\lambda_{\text{B}}$ gegen c_{CRP} der einzelnen Validierungssysteme ist jeweils in einer halblogarithmischen Auftragung in **Abb. 4.41** im Vergleich zu den anderen Systemen dargestellt. Aus **Abb. 4.41b** ist zu erkennen, dass beim System II, in dem an die Faser gekoppelte CRP-spezifische Aptamere als Erkennungseinheiten fehlten, keine signifikanten Änderungen von $\Delta\lambda_{\text{B}}$ bei kontinuierlicher CRP-Zufuhr beobachtet wurden. Das Verhalten indiziert, dass es zu keiner relevanten unspezifischen CRP-Bindung an die biofunktionalisierten Faseroberfläche kam. Für die weitere Evaluation der spezifischen CRP-Bindung an den verwendeten eFBG-Sensor wurden in den Systemen III und IV störende Komponenten, die auch Bestandteile des Blutserums sind, zum Puffersystem hinzugegeben. Aus diesen Grund wurden einerseits zwei Substanzen, hier Harnstoff und L-Ascorbinsäure, in 20-fachen Überschuss im Vergleich zur normalen Blutkonzentration dem Puffer hinzugegeben [194, 195]. Die finale Konzentration im Puffer lag letztlich bei jeweils $\gamma = 1,8 \text{ g/L}$. Andererseits wurde eine Realprobe simuliert. Hierfür wurde ein CRP-abgereicherte humane Plasma verwendet, bei dem ein CRP-Mangel im Vergleich zum normalen Serum herrscht ($w_{\text{CRP}} < 3\%$). Dieses Serum wurde so verdünnt, dass die maximal zu erwartete CRP-Konzentration im Bereich von $c_{\text{CRP}} \approx 6,9 \cdot 10^{-21} \text{ M}$ lag. Für die Messungen wurden dann CRP-Konzentrationen in den jeweiligen Puffern hergestellt und anschließend detektiert. Auch hier ist bei den grafischen Darstellungen wieder eine sigmoidale Änderung von $\Delta\lambda_{\text{B}}$ zu beobachten (**Abb. 4.41c** und **d**), die erneut mit der Langmuir-Freundlich-Isotherme angepasst werden konnten. Jedoch in Gegenwart dieser störenden Faktoren erniedrigte sich die maximale Änderung auf $\Delta\lambda_{\text{B,max}} = (28,93 \pm 1,09) \text{ pm}$ bzw. auf $\Delta\lambda_{\text{B,max}} = (24,62 \pm 1,77) \text{ pm}$. Das entsprach einer Reduzierung der maximalen Verschiebung um 38% bzw. 48%. Im Gegensatz dazu stiegen die Gleichgewichtskonstanten mit den entsprechenden „Heterogenitätsparameter“ auf Werte von $K_{\text{LF}} = (8,9 \pm 2,2) \cdot 10^{14} \text{ M}^{-1}$ mit $\text{cop} = 0,49 \pm 0,03$ und $K_{\text{LF}} = (7,7 \pm 2,8) \cdot 10^{14} \text{ M}^{-1}$ mit $\text{cop} = 0,82 \pm 0,10$ an. Obwohl

für eine Erklärung des Parameteranstieges weitere Untersuchungen nötig wären, könnte die Änderung des „Heterogenitätsparameters“ hin zum Wert von $\text{cop} = 1$ bedeuten, dass das System immer mehr ein ideales Verhalten zeigt. Ein ideales Verhalten würde bedeuten, dass die Interaktion zwischen einzelnen CRP-Proteinen keinen Einfluss mehr auf den Belegungsgrad des zu untersuchenden Systems hätte. Folglich würde aus der Reaktion, welche mit der Langmuir-Freundlich-Isotherme beschrieben wurde, eine, die dann mit der Langmuir-Isothermen gedeutet werden könnte. Des Weiteren hatten diese Änderungen auch einen Einfluss auf die faserspezifischen Sensorparameter DL_{BS} und S_{BS} . Die Sensitivität beim System III sank leicht auf $S_{\text{BS}} = 0,0188 \text{ nm}/(\text{ng}/\text{mm}^2)$, wäh-

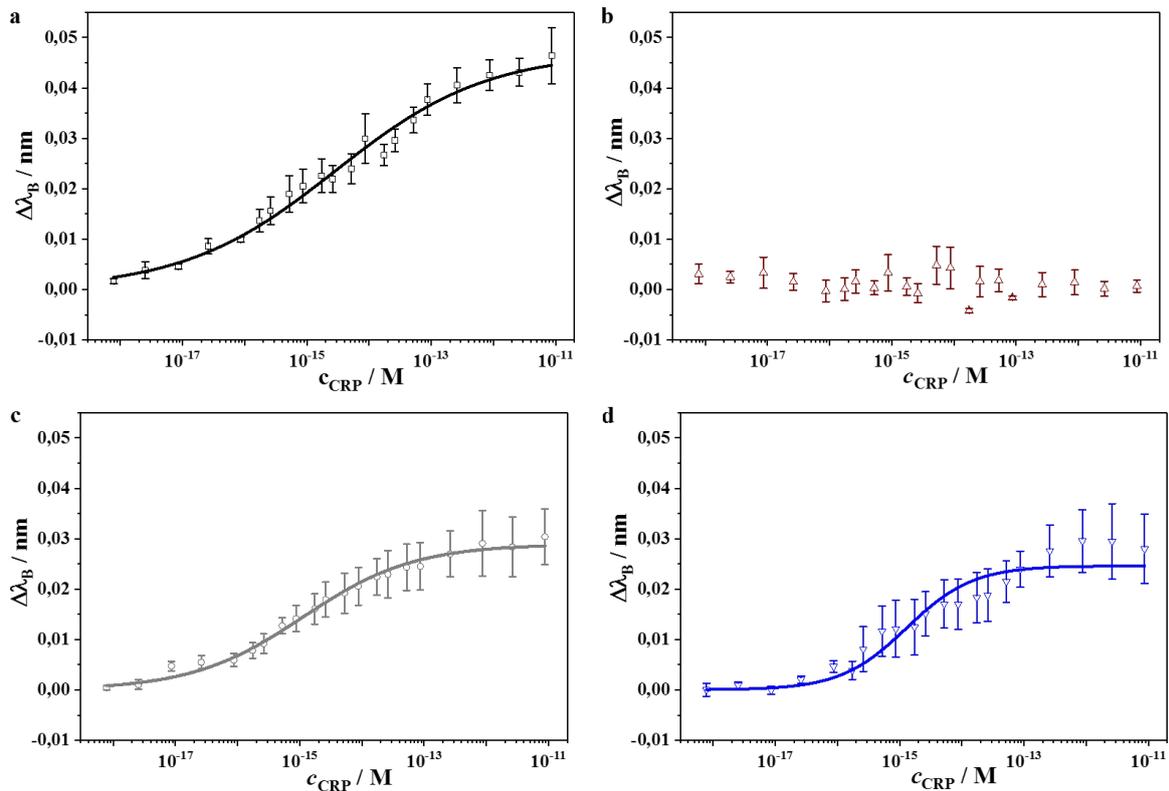


Abbildung 4.41: Es ist $\Delta\lambda_{\text{B}}$ der biofunktionalisierten eFBG-Faser als Funktion der CRP-Konzentrationen in (a) System I ohne Pufferzusätze (schwarz), in (b) System II Faser ohne Kopplung des CRP-spezifischen Aptamers und ohne Pufferzusätze (braun), in (c) System III mit je 1,8 mg/mL Zusatz von L-Ascorbinsäure und Harnstoff im Puffer (grau) und in (d) System IV mit CRP-abgereichertem humanen Plasma im Puffer (blau) gezeigt. Die Daten wurden mit der Langmuir-Freundlich-Isotherme (**Gl. 4.9**) (Linien) und einer statistischen Gewichtung von SE angepasst, wobei deren Güte bei (a) $R^2 = 0,9879$, (c) $R^2 = 0,9888$ und (d) $R^2 = 0,9508$ lagen. Die Daten von $\Delta\lambda_{\text{B}}$ gegen c_{CRP} sind jeweils in einer halblogarithmischen Auftragung gezeigt, um das asymptotische Verhalten von $\Delta\lambda_{\text{B}}$ innerhalb des CRP-Konzentrationsbereiches zu verdeutlichen. In den Spektren sind die gewichteten Mittelwerte mit entsprechenden SE von (a) $N = 5$, (b) $N = 3$, (c) $N = 8$ und (d) $N = 3$ Messreihen dargestellt. Die Gewichtung der Messreihen erfolgte auf die Art, wie es in **Kap. 3.3.9.2** beschrieben ist.

rend sich das Detektionslimit fast auf einen Wert von $DL_{BS} = 0,2665 \text{ ng/mm}^2$ verdoppelte. Beim System IV wurden diese Tendenzen weiter mit Werten von $DL_{BS} = 0,31318 \text{ ng/mm}^2$ und von $S_{BS} = 0,0160 \text{ nm/(ng/mm}^2)$ im Vergleich zum idealen Messung (System I) fortgeführt. Einen größeren Einfluss hatten die Störfaktoren aber auf das maximal zu detektierende Konzentrationslimit. Hier stieg das Limit um ungefähr das Sechsfache auf $c_{CRP,lim} = 4,5 \cdot 10^{-17} \text{ M}$ für das System III bzw. um ca. das 35 fache auf einen Wert von $c_{CRP,lim} = 2,4 \cdot 10^{-16} \text{ M}$ für das System III an. Alle Ergebnisse der nach **Gl. 4.9** angepassten Messkurven der Systeme I, III und IV aus **Abb. 4.41a, c und d** sind in **Tab. 4.6** wiedergegeben. Dennoch könnte man bei der Betrachtung der Ergebnisse aller Systeme sagen, dass eine Bestimmung von kleinen Mengen an CRP im menschlichen Serum ($c_{CRP} < 10 \text{ mg/L}$) sehr gut möglich wäre. Wenn man lediglich das System IV mit dem verdünnten Serum betrachtet, wurde zwar nur ein $\Delta\lambda_{B,max}$ von $\Delta\lambda_{B,max} \approx 25 \text{ pm}$ über zwei Größenordnungen ($c_{CRP} \approx 10^{-16} \text{ M}$ bis $c_{CRP} \approx 10^{-14} \text{ M}$) beobachtet, dennoch wäre eine medizinische Anwendung denkbar. CRP ist ein Biomarker für Entzündungen [196] und tritt als Akut-Phasen-Protein im Blut in Erscheinung. Bei Entzündungen steigt die Konzentration schnell um ca. drei Größenordnungen von ca. 5 mg/L auf ca. 200 mg/L an [81, 86, 197]. So könnten sogar stark verdünnte Blutproben ausreichen, um diese Größenordnung zu detektieren und damit auf bis dato beim Patienten unentdeckte lebensbedrohliche Entzündungsreaktionen wie beispielsweise eine Sepsis [198] oder eine Frühform des Lungenkrebses [199] hinweisen.

Tabelle 4.6: Auflistung der Ergebnisse der Methodvalidierung des auf GOPTS-basierten eFBG-Biosensors im Vergleich zwischen den einzelnen Systemen aus der nicht linearen Anpassung der jeweiligen Messkurven in **Abb. 4.41**.

Sensorparameter	System I ³	System III ⁴	System IV ⁵
$\Delta\lambda_{B,max}$ in pm	$47,10 \pm 2,26$	$28,93 \pm 1,09$	$24,62 \pm 1,77$
K_{LF} in M^{-1}	$(3,5 \pm 1,3) \cdot 10^{14}$	$(8,9 \pm 2,2) \cdot 10^{14}$	$(7,7 \pm 2,8) \cdot 10^{14}$
cop	$0,36 \pm 0,02$	$0,49 \pm 0,03$	$0,82 \pm 0,10$
S_{BS} in $\text{nm/(ng/mm}^2)$	0,0305	0,0188	0,0160
DL_{BS} in ng/mm^2	0,1637	0,2665	0,3132
$c_{CRP,lim}$ in M	$7,1 \cdot 10^{-18}$	$4,5 \cdot 10^{-17}$	$2,4 \cdot 10^{-16}$
$\gamma_{CRP,lim}$ in pg/L	0,82	5,17	27,57
R^2	0,9879	0,9888	0,9508

³ ohne Pufferzusatz ⁴ Puffer inkl. Harnstoff und L-Ascorbinsäure als Störsubstanzen

⁵ Puffer inkl. CRP-abgereicherte humanes Plasma

Wie bereits in **Kap. 2.3.2** erwähnt ist, ist CRP nur ein unspezifischer Biomarker und ist deshalb nur in Kombination mit der Detektion anderer Biomarker hilfreich, um bestimmte krankheitsbedingte Anomalien zu entdecken. In den beiden genannten Fällen ist eine genaue Diagnose nur mit CRP nicht möglich. Zwar kann der Konzentrationsanstieg von CRP ein Anzeichen für z. B. Lungenkrebs sein, aber ein genauer Zusammenhang zwischen CRP und dem Krebs ist bisher noch unbekannt. Trotzdem konnte eine Beziehung hergestellt werden mit Patienten, die eine erhöhte CRP-Konzentration und eine schlechte Prognose besaßen [199]. Eine genaue Diagnose von Sepsis anhand einiger weniger Biomarker ist schwierig. Bisher war es schwierig ein experimentelles Modell zu entwickeln, das alle Aspekte einer menschlichen Sepsis wiedergibt, da sich beispielsweise die zeitlichen Konzentrationsanstiege der einzelnen Biomarker voneinander unterscheiden. Des Weiteren weisen diese Biomarker auch oft auf andere Krankheiten hin [198]. So wird in klinischen Untersuchungen oft die Konzentration vom Procalcitonin (PCT) herangezogen, um eine Sepsis zu diagnostizieren, wobei auch hier die Ursache für den Anstieg andere Gründe haben könnte. Im Endeffekt sind weder PCT noch CRP zu hundertprozentig geeignet, um infektiöse Krankheiten anzuzeigen [200]. Das PCT eignet sich aber im Vergleich zum CRP besser, um eine bakterielle von einer viralen Infektion zu unterscheiden [201]. Für den Sensor würde das bedeuten, dass man mehrere Analyten bzw. Biomarker gleichzeitig mit einer Probe messen müsste, um eindeutig auf eine bestimmte Krankheit hinzuweisen. Dies kann entweder über verschieden konzentrierte Proben oder simultan in einer Probe erfolgen. Für z. B. eine gleichzeitige Bestimmung von CRP und PCT wären verschieden konzentrierte Proben notwendig, da für PCT mit $PCT > 0,55 \mu\text{g/L}$ bereits auf eine Sepsis geschlossen werden kann, während sich der CRP-Anstieg im Bereich von einigen hundert mg/L befindet [81, 82, 201].

CRP und PCT sind nicht die einzigen Plasmaproteine, die als Biomarker verwendet werden. Knapp jeder vierte Biomarker wird in der Onkologie benutzt [202]. **Abb. 4.42** zeigt eine Übersicht von Plasmaproteinen in Abhängigkeit ihrer Konzentration und solchen (gelbe Punkte in **Abb. 4.42**), die bereits als Biomarker für klinische Untersuchungen in der Onkologie Anwendung finden. Mit dem hier präsentierten GOPTS-basierten Biosensor war es möglich CRP bis in den pg/L-Bereich (siehe **Tab. 4.6**) zu detektieren. Daraus könnte man schließen, dass es rein theoretisch möglich wäre, mit einem eFBG-basierten Sensor unter Verwendung von Protein-spezifischen Aptameren alle bereits klinisch verwendeten Biomarker als Analyten aus dem Plasma heraus zu detektieren. So das sich daraus eine schnelle Alternative zu den klassischen Blutanalysen ergeben würde. Es wären aber auch hier verschieden konzentrierte Proben nötig, da sich die Konzentrationen über elf Größenordnungen erstrecken.

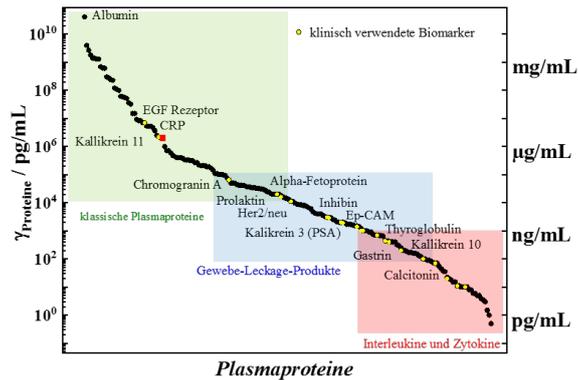


Abbildung 4.42: Die Abbildung zeigt den Konzentrationsbereich von Plasmaproteinen, die von Anderson und Anderson beschrieben worden sind [1]. Die Proteine können dabei in drei Gruppen unterteilt werden (grün - klassische Plasmaproteine; blau - Gewebe-Leckage-Produkte und rot - Interleukine und Zytokine). Die gelben Punkte zeigen nach Polanski und Anderson [203] Proteine, die bereits für klinische Untersuchungen als Biomarker in der Onkologie verwendet werden. Als Referenz ist zusätzlich CRP gezeigt (roter Punkt), verändert nach [204].

Die Fehlerbalken in **Abb. 4.41** dürften nicht nur auf die Gewichtung (**Kap. 3.3.9**) beruhen, sondern eventuell auch auf vorhandene Unterschiede in den einzelnen Konzentrationen innerhalb einer Messreihe bzw. zwischen mehreren Messreihen, da teilweise die $\Delta\lambda_B$ -Verschiebungen der einzelnen Fasern, die für die Ermittlung eines Mittelwertes für ein System verwendet worden sind, trotz Gewichtung deutlich voneinander abwichen. **Abb. 4.43a** zeigt die gewichteten Messkurven aus dem System, bei dem das CRP-abgereicherte humane Plasma verwendetet worden ist, mit ihren jeweiligen nicht linearen Anpassungen. Es hat sich vor allem in diesem System gezeigt, dass es zwischen den Fasern teilweise große Unterschiede gab. Man erkennt in **Abb. 4.43a**, dass die Gleichgewichtskonstanten um zwei Größenordnungen von $K_{LF} = (6,3 \pm 2,7) \cdot 10^{13} \text{ M}^{-1}$ bis $K_{LF} = (2,1 \pm 0,7) \cdot 10^{15} \text{ M}^{-1}$ variierten, während die $\Delta\lambda_{B,\text{max}}$ -Werte im Bereich zwischen $\Delta\lambda_{B,\text{max}} \approx 18 \text{ pm}$ bis $\Delta\lambda_{B,\text{max}} \approx 36 \text{ pm}$ schwankten. Mittelt man diese drei Regressionen wie in **Abb. 4.43b** gezeigt, ergab sich ein gemittelter Wert, der ab einer bestimmten Konzentration einen relativ konstanten SE der Mittelwertsberechnung darstellte. Dieser wies jedoch auch teilweise größere Unterschiede zu den Werten aus **Tab. 4.6** auf. Beispielsweise ergab sich aus **Abb. 4.43b** ein Parameter von $\text{cop} = 0,59$, während er in **Abb. 4.41d** mit $\text{cop} = 0,82$ berechnet worden ist. Das zeigte zum einen, dass man bei diesen Parameter in den hier gezeigten Messungen keinen direkten Aufschluss über die Heterogenität der Reaktion treffen konnte, als auch dass die Auswertung stark von den verwendeten Fasern abhing. Im Verlaufe der Messungen wurden aber Fasern in den einzelnen Systemen verwendet, die sowohl höhere S_{eFBG} -Werte mit $S_{\text{eFBG}} \approx 7 - 8 \text{ nm/RIU}$ als auch niedrigere S_{eFBG} -Werte mit $S_{\text{eFBG}} \approx 3 - 4 \text{ nm/RIU}$ aufwiesen. Ergaben sich nach der Gewichtung ein

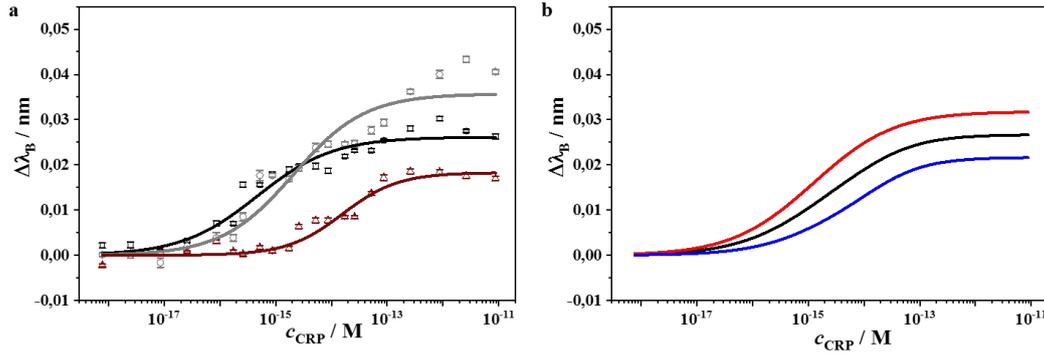


Abbildung 4.43: Es sind $\Delta\lambda_B$ der biofunktionalisierten eFBG-Fasern als Funktion der CRP-Konzentration in Anwesenheit eines CRP-abgereicherten humanen Plasmas im Puffer dargestellt. (a) zeigt drei Messreihen von drei verschiedenen Fasern, d. h. eine Messreihe pro Faser, mit der dazugehörigen nicht linearen Regression nach **Gl. 4.9**. Die Güte lagen bei $R^2 = 0,9585$ (schwarz), $R^2 = 0,9541$ (grau) und bei $R^2 = 0,8981$ (braun). Im Spektrum sind die gewichteten Mittelwerte mit entsprechenden SE von jeweils zehn Einzelspektren der jeweiligen Messreihe gezeigt. Die Gewichtung erfolgte auf eine äquivalente Weise wie es in **Kap. 3.3.9.2** beschrieben ist. (b) Die Abbildung stellt zur besseren Übersicht den Mittelwert (schwarz), den Mittelwert plus SE (rot) und den Mittelwert minus SE (blau) aus den in a gezeigten Regressionen dar.

$\Delta\lambda_B$ von $\Delta\lambda_B \approx 10$ pm bei der höchsten Konzentration, wurden diese Fasern im Nachhinein nicht für weitere Berechnung mit herangezogen. Die Variationen innerhalb eines Systems könnten auch aus der experimentellen Abweichung beim Herstellen der Verdünnungsreihen entstanden sein, da ein sehr kleiner Konzentrationsbereich verwendet worden ist. Das bedeutet, dass kleine Abweichungen der hergestellten Konzentrationen starke Verschiebungen auf der x-Achse zur Folge hätten. Es hätte in diesem Fall einer Kontrolle der einzelnen Konzentration bedurft. Es ist möglich mit geringen Probenverbrauch die CRP-Konzentration bzw. im Allgemeinen eine Protein-Konzentration spektroskopisch zu bestimmen, aber der verwendete Konzentrationsbereich war dafür zu gering. Aber diese experimentelle Abweichung hätte sich dann auch auf die Proben mit kleineren Konzentration ausgewirkt.

Für eine medizinische Anwendung müsste eine Möglichkeit gefunden werden, das System zu regenerieren, sodass man zuerst das faseroptische System kalibriert, um anschließend qualitative Aussagen zu $\Delta\lambda_B = f(c_{CRP})$ treffen zu können. Für die Regeneration des GOPTS-basierten Biosensor wurden zwei Verfahren getestet. Zum einen wurde der Biosensor nach erfolgter CRP-Messreihe bei v_{Fluss} von $v_{Fluss} = 500$ $\mu\text{L}/\text{min}$ zehn Minuten mit zweifach destilliertem Wasser gewaschen und anschließend über Nacht in zweifach destilliertem Wasser gelagert, verändert nach [195]. Vor der zweiten Messreihe mit derselben Faser wurden die Aptamere erneut aktiviert (siehe **Kap. 3.3.7**). Zum anderen wurde die entsprechende Faser 15 Minuten nach erfolgter Messung bei v_{Fluss} von $v_{Fluss} = 500$ $\mu\text{L}/\text{min}$

mit einem MES-Puffer, der einen pH -Wert von $pH = 5,0$ besaß, gewaschen. Direkt im Anschluss an diesen Waschschrift wurde die Faser zwei Minuten mit dem für diese Messreihe verwendeten Puffer gewaschen und es erfolgte dann sofort eine erneute Messreihe, verändert nach [205]. Bei dem MES-Puffer handelte es sich um eine Variante des Glycerin-Aptamerpuffers (**Tab. 3.4**), wobei lediglich das Tris-THAM mit MES ausgetauscht worden ist. Des Weiteren wurde der pH -Wert nicht auf $pH = 7,4$ sondern auf $pH = 5,0$ eingestellt. In **Abb. 4.44** sind die CRP-Messreihen vor und nach dem Waschen mit zweifach destillierten Wasser gezeigt. Man erkennt, dass es nicht gelang nach dem Waschen eine zweite Messreihe mit einem sigmoidalen Verlauf einer $\Delta\lambda_B$ -Änderung zu generieren, da es u. a. zu polarisationsabhängigen Verschiebungen kam, welche durch die gleichzeitige $\Delta\lambda_B$ - und $\Delta Intensity$ -Änderung erkennbar waren. Aber auch eine wie in **Kap. 3.3.9.1** beschriebene Korrektur hätte nicht zum erhofften Ergebnis geführt, da man auch erkennt, dass es im Konzentrationsbereich von $c_{CRP} \approx 10^{-16}$ M bis $c_{CRP} \approx 10^{-12}$ M zu keiner signifikanten $\Delta\lambda_B$ -Änderung kam. Eine Beispielmessung für die zweite Regenerationsprozedur ist nicht gezeigt, da es auch hier zu keiner erhofften sigmoidalen $\Delta\lambda_B$ -Änderung kam. Aus der Literatur weiß man aber, das Aptamere regeneriert werden können [78, 195, 205]. Aber die Handhabung mit Aptameren ist im Moment immer noch schwierig. Das Übernehmen von aus der Literatur bekannten experimentellen Abläufen ist nicht immer möglich, da, wie es in **Kap. 2.3.1.2** erwähnt worden ist, es keinen standardisierte Herstellungsprozess gibt. D. h., Aptamere werden zwar mit dem SELEX-Verfahren hergestellt, aber zwischen

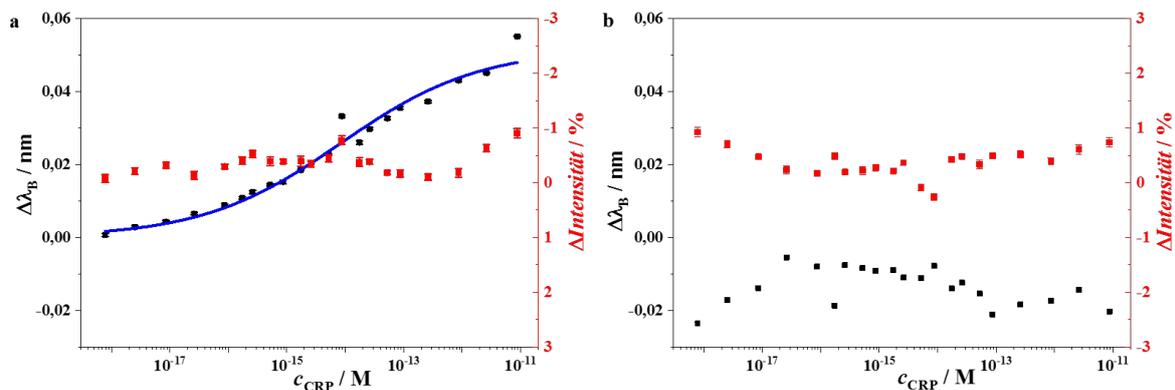


Abbildung 4.44: Die Abbildungen zeigen jeweils eine CRP-Messreihe ein und derselben Faser mit (a) vor und (b) nach einer Regeneration. Für die Regeneration wurde die Faser zehn Minuten mit zweifach destillierten Wasser gewaschen und über Nacht in zweifach destillierten Wasser gelagert. Für die zweite Messreihe wurden die Aptamere erneut vorher aktiviert. Die schwarzen und roten Punkte stellen die Entwicklung von $\Delta\lambda_B$ bzw. von $\Delta Intensity$ in Abhängigkeit der CRP-Konzentration dar, während die blaue Kurve in a der nicht linearen Anpassung nach **Kap. 4.9** entspricht. In den Spektren sind die gewichteten Mittelwerte mit entsprechenden SE von $N = 10$ Einzelspektren dargestellt.

den Verfahren der einzelnen Hersteller gibt es Unterschiede. Des Weiteren kann sich die Nukleotidsequenz von Aptamer zu Aptamer in den einzelnen Publikationen unterscheiden, sodass sie sich verschieden verhalten können. Außerdem ist auch der Mechanismus der Bindung zwischen Aptamer und CRP nicht eindeutig geklärt. Es gibt Aptamere, die nur an das CRP-Monomer und nicht an die pentamerische Form [206] zu binden scheinen während andere an das CRP-Pentamer zu binden scheinen [207].

4.6.3 Biosensorvergleich

In diesen Abschnitt soll die Leistung des GOPTS-basierten eFBG-Biosensors mit Biosensoren aus der Literatur verglichen werden. Dafür wurden zum einen FOB (**Tab. 4.7**) mit verschiedenen detektierten Analyten und zum anderen CRP-spezifische optische Biosensoren (**Tab. 4.8**) erfasst. In **Tab. 4.7** erkennt man, dass alle gelisteten FOB ein Detektionslimit im pg/mm^2 -Bereich haben und damit sind sie alle in der Lage, Spurenanalytik zu vollführen. Es zeigte sich aber, dass der in dieser Arbeit präsentierte FOB um ein bis zwei Größenordnungen mehr Analytsubstanz pro Fläche brauchte, um ein detektierbares Signal zu erhalten. Selbst die erfolgreiche Einfachmessung des NP-basierten Biosensors brauchte mit $62 \text{ pg}/\text{mm}^2$ teilweise die drei bis fünffache Menge pro Fläche an Analyten. Des Weiteren zeigte es sich, dass der eFBG-Sensor ($164 \text{ pg}/\text{mm}^2$) im Vergleich mit den anderen OFG-basierten Sensoren (LPG und tFBG) mit einem höheren Detektionslimit ($5\text{-}19 \text{ pg}/\text{mm}^2$ bzw. $12\text{-}13 \text{ pg}/\text{mm}^2$) abschnitt. Die Unterschiede dürften auf verschiedene Faktoren zurückzuführen sein. Die Verwendung eines spezifischen Analyten führte zu einem definierten σ_{max} . Aus diesem Grund kann sich beispielsweise eine Oberflächenkonzentration um das ca. Sechsfache unterscheiden ($\sigma_{\text{max,CRP}} = 1,542 \text{ ng}/\text{mm}^2$ und $\sigma_{\text{max,Streptavidin}} = 6,4 \text{ ng}/\text{mm}^2$ [189]). Des Weiteren können wie in den hier gezeigten Sensorkonstruktionen Verstärkungseffekte einen großen Einfluss auf die Sensorparameter haben. Infolge einer Verwendung mit bzw. ohne verstärkenden Effekt wurde als Ergebnis bei den präsentierten Sensoren zum einen ein $\Delta\lambda_{\text{B,max}}$ von $\Delta\lambda_{\text{B,max}} = (125,0 \pm 2,7) \text{ pm}$ (NP-Sensor) bzw. von $\Delta\lambda_{\text{B,max}} = (47,10 \pm 2,26) \text{ pm}$ (GOPTS-Sensor) gemessen. Außerdem können noch Fasergitter spezifische Eigenschaften, wie beispielsweise die S_{LPG} -Änderung am Umkehrpunkt eines Doppelsignals bei LPG [189, 208] einen Einfluss auf $\Delta\lambda_{\text{max}}$ des Resonanzsignals haben. Als vierten Faktor wäre noch das verwendete Messsystem zu nennen. So wurden z. B. Systeme verwendet, indem Δn -Werte von $\Delta n = 10^{-5}$ RIU [191] bzw. $\Delta n = 10^{-6}$ RIU [209] erzielt worden sind, während in einem der hier gezeigten Messsysteme (GOPTS-basierter Sensor) Δn -Werte im Bereich von $\Delta n \approx 10^{-4}$ RIU erreicht

worden sind. Im Gegensatz dazu zeigte sich beim Blick auf c_{lim} , dass beim GOPTS-basierten Biosensor ein kleineres c_{lim} erreicht worden ist. Im Vergleich zu den zwei anderen eFBG-basierten Sensoren aus **Tab. 4.7** zeigten sich Grenzwerte im selben Bereich bzw. ein Wert, der um bis zu drei Größenordnungen niedriger war [210, 211]. Anhand dieser unteren detektierbaren Konzentrationen kann man nicht direkt sagen, ob die FBG-Herstellungsmethode mit Hilfe der Phasenmaske oder mit der ULI-Technik einen entscheidenden Einfluss auf S_{eFBG} hatten, da mit beiden Methoden ein c_{lim} von $c_{\text{lim}} \approx 1 \text{ nM}$ erreicht worden ist (**Tab. 4.7**). Die relativ geringen Unterschiede könnten auf verschiedenen lang geätzte Fasern herrühren. So wurde beispielsweise bei S. Sridevi et al. [211] bis auf einen Faserradius von ($r \approx 10 \mu\text{m}$) geätzt, der ungefähr dem des Kerns entsprach ($r \approx a$). Ein längeres Ätzen ($r < a$) würde S_{eFBG} weiter steigern, wodurch sich das c_{lim} weiter senken würde. Ansonsten ist es teilweise schwer nur anhand der detektierbaren

Tabelle 4.7: Eine ausgewählte Liste faserbasierter optischer Biosensoren (FOB), zusammen mit den jeweiligen charakteristischen Eigenschaften, die in der Literatur zu finden sind.

Name des Biosensors ⁶	detektierter Analyt	Detektionslimit DL_{BS} in pg/mm^2	Konzentrationslimit c_{lim} ⁷	Ref.
FOB basierend auf eFBG mit Immobilisierung CRP-spezifischer Aptamere	CRP	164 - 313	0,82 $\mu\text{g}/\text{L}$	diese Arbeit
FOB basierend auf eFBG mit APBA-RGO Beschichtung	D-Glukose Hämoglobin HbA _{1c}		1 nM (180 ng/L) 86 nM (1,5 mg/L)	[211]
FOB basierend auf LPG mit Biotin beschichtete NP	Streptavidin	19	195 $\mu\text{g}/\text{L}$	[189]
FOB basierend auf eFBG mit SW-NT Beschichtung und Dendrimerpolymeren	Concanavalin A		1 nM (110 $\mu\text{g}/\text{L}$)	[210]
FOB basierend auf LPG mit Immobilisierung von IgG	IgG-Antikörper	5		[209]
FOB basierend auf tFBG mit Immobilisierung von BSA	BSA-Antikörper	12-13	86-525 $\mu\text{g}/\text{L}$	[191]

⁶ APBA-RGO Aminophenylborsche Säure, funktionalisiert mit reduzierten Graphenoxid; IgG Immunglobulin G; SWNT einwandige Karbonnanoröhren. ⁷ Daten in Klammern wurden berechnet aus den veröffentlichten molaren Konzentrationen unter Verwendung bekannter Molmassen.

Konzentrationsgrenzwerte die Sensoren untereinander zu vergleichen, weil es oftmals abhängt, welcher Konzentrationsbereich verwendet wurde [191, 210]. Anhand von **Tab. 4.8** kann man erahnen, dass es eine Vielzahl verschiedener optischer Untersuchungsarten zum Nachweis von CRP gibt. Neben den optischen können auch andere analytische Methoden wie z. B. elektrochemische, angewendet werden, um CRP nachzuweisen [212]. Hier zeigte sich, dass die unteren Nachweisgrenzen von Methode zu Methode voneinander abweichen konnten. Deshalb kann hier nur eine allgemeine Aussage getroffen werden. Der in dieser Arbeit entwickelte Biosensor zeigte eine Nachweisgrenze im unteren Bereich der gezeigten Sensoren (pg/L Bereich). Aber es wurden in den früheren Veröffentlichungen teilweise fertige Proben aus frei erhältlichen „ELISA-Kits“ verwendet, so dass sie „nur“ ein Konzentrationslimit im $\mu\text{g/L}$ Bereich zeigten [194]. ELISA ist ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren (*enzyme linked immunosorbent assay*) und enthält definierte Konzentration im $\mu\text{g/l}$ -Bereich, so dass sie fotometrisch auswertbar sind. Die Arbeit von S. Sridevi et al. zeigte die größte Übereinstimmung, was den Aufbau des Biosensors betraf

Tabelle 4.8: Eine ausgewählte Liste CRP-spezifische optischen Biosensoren, zusammen mit den jeweiligen charakteristischen Eigenschaften, die in der Literatur zu finden sind, aus [212].

Name des Biosensors ⁸	detektierter Analyt	Detektionslimit DL_{BS} in pg/mm^2	Konzentrationslimit c_{lim} ⁹	Ref.
FOB basierend auf eFBG mit Immobilisierung CRP-spezifischer Aptamere	CRP	164 - 313	0,82 pg/L	diese Arbeit
FOB basierend auf LMR mit Immobilisierung CRP-spezifischer Aptamere	CRP		62,5 $\mu\text{g}/\text{L}$	[195]
FOB basierend auf eFBG mit Immobilisierung CRP-spezifischer Antikörper	CRP		10 $\mu\text{g}/\text{L}$	[194]
SPRi-Aptasensor mit Immobilisierung CRP-spezifischer Aptamere	CRP		5 pg/L	[213]
Mikrofluidisches Chemolumineszentes Assay mit Immobilisierung CRP-spezifischer Aptamere und Antikörper	CRP		12,5 $\mu\text{g}/\text{L}$	[214]
TIRFM-Assay basierend auf das molekulare Schalten der Fluoreszenz bei der FAI-PEA Interaktion	CRP		800 aM (92 pg/L)	[215]

⁸ LMR Lossy Mode Resonances; FAI Fluoreseinamin Isomer; PEA o-Phosphorylethanolamin als CRP Ligand; SPRi Oberflächenplasmonresonanzbildung; TIRFM innere Totalreflexions-Fluoreszenzmikroskopie.

⁹ Daten in Klammern wurden berechnet aus den veröffentlichten molaren Konzentrationen unter Verwendung bekannter Molmassen.

[194]. Sie verwendeten ebenfalls eFBG-Fasern als sensorische Komponente, wobei deren FBG anders als die in dieser Arbeit präsentierten mit der Phasenmaske hergestellt worden sind. Der größte Unterschied bestand aber in der molekularen Erkennungseinheit. Während in der hier präsentierten Arbeit mit Aptameren gearbeitet worden ist, wurden bei ihnen AK verwendet. Obwohl die Größenordnung der $\Delta\lambda_B$ -Änderung in beiden Arbeiten annähernd gleich war ($\Delta\lambda_{B,\max} \approx 30-40$ pm), bestand trotzdem ein sehr großer Unterschied. In der präsentierten Arbeit wurde diese Änderung in einem Konzentrationsbereich von $\gamma_{\text{CRP}} = 0,8$ pg/L - $1,2$ µg/L (System I) erreicht, während es bei S. Sridevi et al. für den Bereich von $\gamma_{\text{CRP}} = 3$ µg/L - 100 mg/L gemessen worden ist, wobei sie eine zusätzliche sensitivitätssteigernde Oberflächenmodifikation verwendeten. Damit steigerte sich $\Delta\lambda_{B,\max}$ von $\Delta\lambda_{B,\max} \approx 6$ pm auf $\Delta\lambda_{B,\max} \approx 30$ pm. Daraus könnte man ableiten, dass eFBG-basierte Sensoren mit Aptameren als molekulare Erkennungseinheiten einen dynamischen Bereich erreichen, der deutlich unterhalb der von AK-basierten eFBG-Sensoren ist. Der Grund dafür könnte die Größe der jeweiligen Erkennungseinheit sein. So hatten die verwendeten Aptamere eine Molmasse von $M \approx 15$ kDa, während CRP-spezifische AK eine Molmasse von etwa $M \approx 150$ kDa besitzen. Dadurch sinkt der Platzbedarf der funktionellen Schicht der Faser in ihrem evaneszenten Feld. Als Folge würde sich daraus ergeben, dass kleinere Änderungen von n_U detektiert werden könnten und deshalb dürfte sich dies positiv auf S_{eFBG} ausgeübt haben. Durch die deutlich größeren AK dürften sich die CRP-Moleküle in einem Bereich um die Faser angelagert haben, indem die Intensität der evaneszenten Welle deutlich geringer ist, als wenn sich die CRP-Moleküle an Aptameren angelagert hätten. Des Weiteren könnten AKs im Vergleich zum Aptameren eine gewisse Bindungshemmung aufweisen. Proteine weisen an mehreren Stellen terminale funktionale Gruppen auf, wobei sie meist nur eine selektive Bindungsstelle für das Antigen (Paratop), hier das CRP-Protein, besitzen. Aus diesen Grund könnte es passieren, dass die Bindung zum CRP nach der Immobilisierung an einer Oberfläche sterisch durch andere AK oder durch die Bindung an die Oberfläche gehindert wird. Das in dieser Arbeit erreichte Konzentrationslimit war im Bereich eines Biosensors, der ebenfalls Aptamere als Erkennungseinheiten verwendet hatte [214]. Daraus könnte man ableiten, dass eFBG-Sensoren vergleichbare Werte liefern können wie SPR, welche im Falle einer Verwendung von Biacore[®] als Standardmethode für die Analyse von Proteininteraktionen gilt.

Trotz der teilweise deutlich schlechteren S_{eFBG} zu anderen optischen Sensoren (vgl. **Tab. 4.3**), vor allem zu anderen OFG-Techniken, konnte ein eFBG-basierter Biosensor entwickelt werden, dessen Sensorparameter sich nur geringfügig von anderen FOB bzw. optischen Biosensoren unterschied. So konnte beispielsweise ein DL_{BS} erreicht werden, das sich nur um eine Größenordnung von LPG- bzw. tFBG-basierten Sensoren unterschied,

obwohl die S_{eFBG} zu n_{U} im Verhältnis zu LPG-Sensoren teilweise drei Größenordnungen geringer war. Dies lässt auf eine sensitivitätssteigernde Wirkung bei der Verwendung von Aptameren im Vergleich zu AK schließen. Auch vor anderen optischen CRP-Biosensoren brauchte sich der in dieser Arbeit entwickelte eFBG-Biosensor nicht zu verstecken, obwohl hier ein genauer Vergleich nicht möglich war, da oftmals in anderen Konzentrationsbereichen gemessen worden ist. Dennoch könnte man sagen, dass der präsentierte eFBG-Sensor eine mögliche Alternative zur SPR-Methode darstellen könnte.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Das Ziel dieser Dissertation war die Entwicklung und Charakterisierung optischer Biosensorplattformen basierend auf photonischen Kristallen und Faser-Bragg-Gitter. Zu Beginn wurde ein Konzept entwickelt, das auf photonischen Kristalle (PC) basierte. Dieses Konzept musste aber vorzeitig abgebrochen werden, da es in Bezug auf die Handhabung sehr zeitintensiv und nur unter hohem technischen Aufwand reproduzierbar war. Nichtsdestotrotz besitzt dieses Sensorprinzip ein hohes analytisches Potential [110, 216, 217], bedarf aber zur Verwirklichung weiterer intensiver Untersuchungen. PC-basierte Biosensoren bieten eine hervorragende Möglichkeit für eine Mehrkomponentenanalyse, da sie meist in Kombination mit planaren Wellenleiterstrukturen auf Biochips vorliegen. So könnten mehrere PC pro Wellenleiter oder mehrere Wellenleiter mit je einem PC auf dem Chip vorliegen. Werden nun die Erkennungseinheiten lokal auf einem PC aufgetragen, z. B. mittels der FluidFM-Technik [218], ist eine Detektion verschiedener Analyten zur selben Zeit leicht möglich.

Parallel dazu wurden Arbeiten mit der Faser-Bragg-Gitter-Technik (FBG) aufgenommen. Faserbasierte optische Sensorik in Kombination mit der Verwendung von Fasergittern wie beispielsweise FBG, LPG oder tFBG ist gut geeignet für Sensoren, die markierungsfrei hohe S_{SB} -Werte und niedrige Detektionsgrenzen besitzen sollen. Der Vorteil der FBG-Technik vor allem gegenüber der LPG-Technik ist die Möglichkeit der Messung von Reflexionsspektren. Dadurch ist eine Fernmessung möglich und es erlaubt die Verwendung von sehr kleinen Volumina im μL -Bereich. Dies ist möglich, da bei Aufnahmen von Reflexionsspektren sowohl die Lichtquelle als auch der Detektor auf derselben Faserseite positioniert werden, wodurch am anderen Ende der Faser die Analytik stattfinden kann. In der Literatur sind vor allem FBG als biochemische Sensoren bekannt, welche mit der Phasenmaskenmethode und mit Licht im UV-Bereich geschrieben worden sind. In diesem Projekt wurden erstmals FBG als Biosensoren eingesetzt, die zum einen mit der Punkt-für-Punkt-Methode (ULI) und mit Licht im NIR-Bereich geschrieben worden sind und zum anderen in Kombination mit spezifischen Aptameren wirken.

Die ULI-Technik verursacht nur lokale n -Änderungen im Kern, während sich bei der Phasenmaskenmethode die Änderung durch den gesamten Kern ziehen, wodurch auch komplexere Strukturen in optische Fasern geschrieben werden können. Es wurde beim Schreiben festgestellt, dass der vorhandene Aufbau (Laser und Faserschreibstand) noch Optimierungspotential besitzt, um dauerhaft reproduzierbare Eigenschaften der einzelnen FBG zu erreichen. So gab es teilweise Energieschwankungen des Lasers von Tag zu Tag

und des Weiteren passierte es, dass es durch den „vereinfachten“ Aufbau des Schreibstandes im Laufe einer „Schreibsession“ zu Leistungsunterschieden kam. Im Endeffekt konnte deshalb sowohl $\lambda_{B,soll}$ nur mit einer kleinen Abweichung vom Soll-Wert als auch die gewollte Reflektivität nur bei unterschiedlichen Gitterlängen geschrieben werden. Der Nachteil bei der Verwendung von FBG ist die Tatsache, dass der Faserradius minimiert werden muss, sodass das evaneszente Feld der Kernmode sensitiv zu n_U ist. Als Methode zur Steigerung der Sensitivität wurde das Ätzen mit HF verwendet, da es im Vergleich zu anderen Methoden eine kostengünstige und relativ schnelle Methode zur Entfernung des Fasermantels ist. Im Laufe des Projektes wurde eine Ätzprozedur entwickelt, die es im Allgemeinen erlaubt, die Faser zum einen schnell zu ätzen ($t \approx 90$ Minuten) und zum anderen den Prozess zu gewissen Zeitpunkten mit dem Ziel, den Vorgang mit gewünschten Parametern, wie beispielsweise S_{eFBG} zu n_U , zu beenden. Am Ende konnte ein Sensor mit der FBG-Technik erfolgreich hergestellt werden. Dabei wurde ein Modellaufbau zur Funktionalisierung der Fasern und zur Messung verschiedener Analytkonzentrationen realisiert. Während der Herstellung konnte jeder Schritt simultan zur Reaktion überwacht werden, z. B. um Reaktionen rechtzeitig stoppen zu können. Für die Entwicklung des Biosensoraufbaus wurden aus der Literatur bekannte Strukturen genutzt. Als Erkennungseinheiten wurden Aptamere, die aus einer einzelsträngige DNS aufgebaut sind, verwendet. Sie werden im Gegensatz zu Antikörpern synthetisch hergestellt und sind in einem breiten pH -Bereich stabil. Die Realisierung des Sensors wurde mit dem bekannten Biomarker CRP als Modellsystem erreicht. Die messbaren CRP-Konzentrationen lagen hierbei im Bereich von $c_{CRP} \approx 10^{-17} \text{ M} - 10^{-11} \text{ M}$. In weiteren Versuchen konnte dieser Aufbau auch mittels Kontrollexperimenten einschließlich einer künstlichen Realprobe validiert werden, sodass für dieses System ein Detektionslimit im Bereich von $DL_{BS} \approx 0,16 \text{ ng/mm}^2 - 0,31 \text{ ng/mm}^2$ ermittelt worden ist. Das ermittelte Detektionslimit war dabei nur um eine Größenordnung höher als von anderen FOB aus der Literatur (u. a. [191]) und das, obwohl S_{eFBG} der unbehandelten eFBG-Faser zu n_U mit teilweise bis zu drei Größenordnungen kleiner war als veröffentlichte S -Werte andere OFG-Techniken wie z. B. von LPG [166] oder von tFBG [168]. Auch im Vergleich zu eFBG-Biosensoren, die mit AK als molekulare Erkennungseinheiten arbeiten, ist ein dynamischer Bereich ($\gamma_{CRP} = 0,8 \text{ pg/L} - 1,2 \text{ } \mu\text{g/L}$) bei ähnlicher $\Delta\lambda_B$ -Änderung ermittelt worden, der unterhalb der veröffentlichten Werte von z. B. S. Sridevi et al. mit $\gamma_{CRP} = 3 \text{ } \mu\text{g/L} - 100 \text{ mg/L}$ lag [194]. Weitere Vorteile dieses Biosensors waren zum Einen, dass Matrixeffekte in der Regel keine Rolle spielten, da der Sensor eine refraktometrische Messmethode aufwies und zum anderen, dass Realproben sechs- bis neunfach verdünnt werden müssten, um in den sensitiven Bereich zu gelangen, was gut für die Messdurchführung wäre.

Des Weiteren wurde in einem ersten Experiment versucht, den Biosensor auf einen anderen Analyten, hier die Endotoxine, anzuwenden, dessen Erkennung bei sehr geringen Konzentrationen von immenser Bedeutung wäre. Endotoxine sind Lipopolysaccharide, die bei der Zelllyse von bestimmten Bakterien freigesetzt werden. Eine genauere Beschreibung von Endotoxine ist in **Kap. A.4.3** zu finden. Für den Nachweis der Endotoxine mit dem GOPTS-basierten Sensor brauchte man lediglich das Endotoxin-spezifische Aptamer auszutauschen, welches ebenfalls eine terminale Thiolgruppe besaß. Die Durchführung entsprach dann dem des CRP-spezifischen GOPTS-Biosensors, wobei bei Endotoxinnachweisen annähernd Reinraumbedingungen herrschen mussten, da Endotoxine sich in einem bestimmten Maß praktisch überall um einen herum befinden. Auch ein Nachweis von CRP in verschiedenen konzentrierten humanen Plasma konnte bisher noch nicht erfolgreich realisiert werden. Trotz der erfolgreichen Realisierung eines FBG-Biosensors sind im jetzigen Entwicklungsstadium noch Probleme vorhanden, die einer Optimierung bedürfen. Darunter fällt u. a. die Frage der Regenerierbarkeit der einzelnen Fasern für mindestens eine zweite Messreihe, da der Herstellungsprozess des Sensors von 3-4 Tagen langwierig war. Erste Versuche bei $pH = 5$ und unter einem langen Waschschrift mit zweifach destillierten Wasser lieferten bisher noch keine aussagekräftigen Erkenntnisse.

Am Ende stellt sich noch die Frage einer Anwendung zur Mehrkomponentenanalyse. Generell kann man sagen, dass die FBG-Technik geeignet ist, um unterschiedliche Analyten parallel zu vermessen. Es wäre möglich mehrere Fasern, die mit verschiedenen Erkennungseinheiten funktionalisiert worden sind, mit einander über Strahlungsleiter zu verbinden, sodass sie dann nebeneinander gemessen werden könnten. Alternativ könnten theoretisch auch mehrere FBG einer Faser verschieden funktionalisiert werden, sodass eine Mehrkomponentenanalyse möglich wäre. Aber dann würde sich die Frage stellen, wie man die einzelnen FBG einzeln funktionalisiert, ohne dass die anderen funktionalisierten FBG ihre Biofunktionalität verlieren. In der Literatur sind bereits einige Beispiele bekannt, in denen FBG zur Mehrkomponentenanalyse verwendet worden sind, wobei es sich in diesen Fällen um Kombinationen aus physikalischen und chemischen Parametern handelt [219, 220] und nicht um reine Mehrkomponentenbiosensoren. So wurden einerseits Dehnungs-, Temperatur- und n_U -Änderungen in einer Zweimodenfaser mit Hilfe von FBG, die mit f_s -gepulsten Laserstrahlen im NIR-Bereich geschrieben worden sind, untersucht [219], als auch Temperatur-, Feuchtigkeits- und Salzgehaltsänderungen in ultraschwachen FBG [220]. Des Weiteren könnte man Fasern, die mit FBG-beschrieben worden sind, in mikrofluidische Strukturen integrieren, womit sich die Möglichkeit einer Biosensorplattform zur Mehrkomponentenanalyse anbieten würde.

Literatur

- [1] N. L. Anderson und N. G. Anderson, „The Human Plasma Proteome: History, Character, and Diagnostic Prospects“, *Molecular & Cellular Proteomics*, Bd. 1, Nr. 11, S. 845–867, 2002.
- [2] L. Wu und X. Qu, „Cancer biomarker detection: Recent achievements and challenges“, *Chem. Soc. Rev.*, Bd. 44, Nr. 10, S. 2963–2997, 2015.
- [3] K. Blennow, N. Mattsson, M. Schöll et al. „Amyloid biomarkers in Alzheimer’s disease“, *Trends Pharmacol. Sci.*, Bd. 36, Nr. 5, S. 297–309, 2015.
- [4] S. L. Topalian, J. M. Taube, R. A. Anders et al. „Mechanism-driven biomarkers to guide immune checkpoint blockade in cancer therapy“, *Nat. Rev. Cancer*, Bd. 16, Nr. 5, S. 275–287, 2016.
- [5] U. Bora, A. Sett und D. Singh, „Nucleic Acid Based Biosensors for Clinical Applications“, *Biosensor J.*, Bd. 02, Nr. 01, S. 1–8, 2013.
- [6] J. Wu, C. Wang, X. Li et al. „Identification, characterization and application of a G-quadruplex structured DNA aptamer against cancer biomarker protein anterior gradient homolog 2“, *PloS ONE*, Bd. 7, Nr. 9, e46393, 2012.
- [7] B. Metaferia, J. S. Wei, Y. K. Song et al. „Development of peptide nucleic acid probes for detection of the *HER2* oncogene“, *PloS ONE*, Bd. 8, Nr. 4, e58870, 2013.
- [8] P. Damborsky, J. Svitel und J. Katrlík, „Optical biosensors“, *Essays Biochem.*, Bd. 60, Nr. 1, S. 91–100, 2016.
- [9] T. Vo-Dinh und B. Cullum, „Biosensors and biochips: Advances in biological and medical diagnostics“, *Fresenius J. Anal. Chem.*, Bd. 366, Nr. 6-7, S. 540–551, 2000.
- [10] B. Bohunický und S. A. Mousa, „Biosensors: The new wave in cancer diagnosis“, *Nanotechnol. Sci. Appl.*, Bd. 4, Nr. 1, S. 1–10, 2011.
- [11] X. Fan, I. M. White, S. I. Shopova et al. „Sensitive optical biosensors for unlabeled targets: A review“, *Anal. Chim. Acta*, Bd. 620, Nr. 1-2, S. 8–26, 2008.
- [12] Y. Shao, S. Xu, X. Zheng et al. „Optical Fiber LSPR Biosensor Prepared by Gold Nanoparticle Assembly on Polyelectrolyte Multilayer“, *Sensors*, Bd. 10, Nr. 4, S. 3585–3596, 2010.
- [13] A. Bardea, A. Dagan, I. Ben-Dov et al. „Amplified microgravimetric quartz-crystal-microbalance analyses of oligonucleotide complexes: a route to a Tay-Sachs biosensor device“, *Chem. Commun.*, Bd. 0, S. 839–840, 1998.
- [14] F. Lisdat und D. Schäfer, „The use of electrochemical impedance spectroscopy for biosensing“, *Anal. Bioanal. Chem.*, Bd. 391, Nr. 5, S. 1555–1567, 2008.
- [15] B. Liedberg, C. Nylander und I. Lunström, „Surface plasmon resonance for gas detection and biosensing“, *Sens. Actuators*, Bd. 4, S. 299–304, 1983.

- [16] C. McDonagh, C. S. Burke und B. D. MacCraith, „Optical Chemical Sensors“, *Chem. Rev.*, Bd. 353, Nr. 0, S. 400–422, 2008.
- [17] W. Demtröder, *Experimentalphysik 2: Elektrizität und Optik*, 6., überarb. u. akt. Aufl. 2013, Ser. Springer-Lehrbuch. Berlin und Heidelberg: Springer-Verlag, 2013.
- [18] G. P. Agrawal, *Nonlinear Fiber Optics*, 5. Auflage. London: Academic Press, 2013.
- [19] F. Mitschke, Hrsg., *Fiber Optics: Physics and Technology*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010.
- [20] G. P. Agrawal, *Fiber-Optic Communication Systems*, 3. Auflage, Ser. Wiley series in microwave and optical engineering. New York: JOHN WILEY & SONS, Inc, 2002.
- [21] G. Keiser, *Optical Fiber Communications*, 4. Aufl. New Delhi: McGRAW-HILL, INC, 2008.
- [22] Corning Inc., Hrsg., *Corning SMF-28e+ Photonic Optical Fiber: Produktinformation 2010*.
- [23] Corning Inc., Hrsg., *Corning ClearCurve Multimode Optical Fiber: Produktinformation 2014*.
- [24] Corning Inc., Hrsg., *Corning InfiniCor Optical Fiber: Produktinformation 2015*.
- [25] F. Baldini, M. Brenci, F. Chiavaioli et al. „Optical fibre gratings as tools for chemical and biochemical sensing“, *Anal. Bioanal. Chem.*, Bd. 402, Nr. 1, S. 109–116, 2012.
- [26] A. Othonos, „Fiber Bragg gratings“, *Rev. Sci. Instrum.*, Bd. 68, Nr. 12, S. 4309–4341, 1997.
- [27] K. O. Hill, Y. Fujii, D. C. Johnson et al. „Photosensitivity in optical fiber waveguides: Application to reflection filter fabrication“, *Appl. Phys. Lett.*, Bd. 32, Nr. 10, S. 647–649, 1978.
- [28] D. Savastru, S. Miclos, M. Tautan et al. „Numerical Simulation Methods Applied at Fiber Grating Sensors Design“, in *Modeling and Simulation in Engineering Sciences*, N. S. Akbar und O. A. Beg, Hrsg., InTech, 2016, S. 91–114.
- [29] A. Martinez, M. Dubov, I. Y. Khrushchev et al. „Direct femtosecond inscription of Fiber Bragg Gratings“, *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.*, Bd. 850, S. MM2.3.1–MM2.3.6, 2005.
- [30] C. Voigtländer, D. Richter, J. Thomas et al. „Inscription of high contrast volume Bragg gratings in fused silica with femtosecond laser pulses“, *Appl. Phys. A*, Bd. 102, Nr. 1, S. 35–38, 2011.
- [31] M. L. Aslund, N. Nemanja, N. Groothoff et al. „Optical loss mechanisms in femtosecond laser-written point-by-point fibre Bragg gratings“, *Opt. Express*, Bd. 16, Nr. 18, S. 14 248–14 254, 2008.
- [32] A. I. Kalachev, D. N. Nikogosyan und G. Brambilla, „Long-Period Fiber Grating Fabrication by High-Intensity Femtosecond Pulses at 211 nm“, *J. Lightw. Technol.*, Bd. 23, Nr. 8, S. 2568–2578, 2005.

-
- [33] F. Chiavaioli, F. Baldini, S. Tombelli et al. „Biosensing with optical fiber gratings“, *Nanophotonics*, Bd. 6, Nr. 4, S. 663–679, 2017.
- [34] J. Albert, S. Lepinay, C. Caucheteur et al. „High resolution grating-assisted surface plasmon resonance fiber optic aptasensor“, *Methods*, Bd. 63, Nr. 3, S. 239–254, 2013.
- [35] X. Dong, H. Zhang, B. Liu et al. „Tilted fiber Bragg Gratings: Principle and Sensing Applications“, *Photonic Sens.*, Bd. 1, Nr. 1, S. 6–30, 2011.
- [36] J. Albert, L.-Y. Shao und C. Caucheteur, „Tilted fiber Bragg grating sensors“, *Laser Photonics Rev.*, Bd. 7, Nr. 1, S. 83–108, 2013.
- [37] J. Qi, „A comparison study of the sensing characteristics of FBG and TFBG“, *Sensor Rev.*, Bd. 33, Nr. 1, S. 68–79, 2013.
- [38] T. Eftimov, „Sensor applications of fiber bragg and long period gratings“, *NATO Science for Peace and Security Series B: Physics and Biophysics*, S. 1–23, 2008.
- [39] V. Bhatia, „Applications of long-period gratings to single and multi-parameter sensing“, *Opt. Express*, Bd. 4, Nr. 11, S. 457–466, 1999.
- [40] S. W. James und R. P. Tatam, „Optical fibre long-period grating sensors: Characteristics and application“, *Meas. Sci. Technol.*, Bd. 14, Nr. 5, R49–R61, 2003.
- [41] H. Dobb, K. Kalli und D. J. Webb, „Temperature insensitive long-period grating sensors in photonic crystal fiber“, *Proc. of SPIE*, Bd. 5579, S. 14, 2004.
- [42] X. Chen, „Optical Fibre Gratings for Chemical and Bio - Sensing“, in *Current Developments in Optical Fiber Technology*, S. W. Harun, Hrsg., Bd. Kapitel 8, InTech, 2013, S. 205–236.
- [43] C. A. J. Gouveia, J. M. Baptista und P. A. Jorge, „Refractometric Optical Fiber Platforms for Label Free Sensing“, in *Current Developments in Optical Fiber Technology*, S. W. Harun, Hrsg., Bd. Kapitel 13, InTech, 2013, S. 345–374.
- [44] R. Kashyap, *Fiber Bragg Gratings*. London: Academic Press, 1999.
- [45] I. Bennion, J. A. R. Williams, L. Zhang et al. „Uv-written in-fibre Bragg gratings“, *Opt. Quantum. Electron.*, Bd. 28, S. 93–135, 1996.
- [46] S. J. Mihailov, D. Grobncic und C. W. Smelser, „Efficient grating writing through fibre coating with femtosecond IR radiation and phase mask“, *Electron. Lett.*, Bd. 43, Nr. 8, S. 442, 2007.
- [47] J.-M. Park, W. Leung, K. Constant et al. „Laser Interference Lithography for Fabricating Nanowires and Nanoribbons“, in *Nanowires - Implementations and Applications*, A. Hashim, Hrsg., Bd. Kapitel 21, InTech, 2011, S. 471–485.
- [48] J. M. P. Coelho, M. Nespereira, C. Silva et al. „Advances in Optical Fiber Laser Micromachining for Sensors Development“, in *Current Developments in Optical Fiber Technology*, S. W. Harun, Hrsg., Bd. Kapitel 14, InTech, 2013, S. 375–401.
- [49] K. O. Hill und G. Meltz, „Fiber Bragg Grating Technology Fundamentals and Overview“, *J. Lightw. Technol.*, Bd. 15, Nr. 8, S. 1263–1276, 1997.

- [50] M. Konstantaki, G. Tamiolakis, A. Argyris et al. „Effects of Ge concentration, boron co-doping, and hydrogenation on fiber Bragg grating characteristics“, *Microwave and Optical Technology Letters*, Bd. 44, Nr. 2, S. 148–152, 2005.
- [51] B. Malo, J. Albert, F. Bilodeau et al. „Photosensitivity in phosphorus-doped silica glass and optical waveguides“, *Appl. Phys. Lett.*, Bd. 65, Nr. 4, S. 394–396, 1994.
- [52] R. R. Gattass und E. Mazur, „Femtosecond laser micromachining in transparent materials“, *Nat. Photonics*, Bd. 2, Nr. 4, S. 219–225, 2008.
- [53] R. Osellame, G. Cerullo und R. Ramponi, Hrsg., *Femtosecond Laser Micromachining: Photonic and Microfluidic Devices in Transparent Materials*. Springer Berlin Heidelberg, 2012.
- [54] A. Martínez, M. Dubov, I. Khrushchev et al. „Femtosecond inscription of superimposed, non-overlapping fibre Bragg gratings“, *Opt. Express*, Bd. 2, 2004.
- [55] A. Martínez, M. Dubov, I. Khrushchev et al. „Point by point FBG Inscription by a focused NIR femtosecond laser“, *Trends Opt. Photonics Ser.*, Bd. 96 A, S. 393–394, 2004.
- [56] A. Martínez, M. Dubov, I. Khrushchev et al. „Direct writing of fibre Bragg gratings by femtosecond laser“, *Electron. Lett.*, Bd. 40, Nr. 19, S. 1170, 2004.
- [57] S. Yang, Di Hu und A. Wang, „Point-by-point fabrication and characterisation of sapphire fiber Bragg gratings“, *Opt. Lett.*, Bd. 42, Nr. 20, S. 4219–4222, 2017.
- [58] D. M. Rayner, A. Naumov und P. B. Corkum, „Ultrashort pulse non-linear optical absorption in transparent media“, *Opt. Express*, Bd. 13, Nr. 9, S. 3208–3217, 2005.
- [59] J. Thomas, C. Voigtländer, R. G. Becker et al. „Femtosecond pulse written fiber gratings: A new avenue to integrated fiber technology“, *Laser Photonics Rev.*, Bd. 6, Nr. 6, S. 709–723, 2012.
- [60] J. D. Joannopoulos, S. G. Johnson, J. N. Winn et al. *Photonic Crystals: Molding the Flow of Light*, 2. Auflage. Princeton und Oxford: Princeton University Press, 2008.
- [61] J. S. Foresi, P. R. Villeneuve, J. Ferrera et al. „Photonic-bandgap microcavities in optical waveguides“, *Nature*, Bd. 390, Nr. 6656, S. 143–145, 1997.
- [62] K.-H. Chu, R. Enright und E. N. Wang, „Structured surfaces for enhanced pool boiling heat transfer“, *Appl. Phys. Lett.*, Bd. 100, Nr. 24, S. 241603, 2012.
- [63] Y. A. Vlasov, X. Z. Bo, J. C. Sturm et al. „On-chip natural assembly of silicon photonic bandgap crystals“, *Nature*, Bd. 414, Nr. 6861, S. 289–293, 2001.
- [64] S. Chakravarty, Y. Zou, W.-C. Lai et al. „Slow light engineering for high Q high sensitivity photonic crystal microcavity biosensors in silicon“, *Biosens. Bioelectron.*, Bd. 38, Nr. 1, S. 170–176, 2012.
- [65] A. D. Ellington und J. W. Szostak, „In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands“, *Nature*, Bd. 346, S. 818–822, 1990.

- [66] C. Tuerk und L. Gold, „Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment: RNA Ligands to Bacteriophage T4 DNA Polymerase“, *Science*, Bd. 249, Nr. 4968, S. 505–510, 1990.
- [67] A. B. Iliuk, L. Hu und W. A. Tao, „Aptamer in bioanalytical applications“, *Anal. Chem.*, Bd. 83, Nr. 12, S. 4440–4452, 2011.
- [68] K.-M. Song, S. Lee und C. Ban, „Aptamers and Their Biological Applications“, *Sensors*, Bd. 12, Nr. 1, S. 612–631, 2012.
- [69] M. Menger, A. Yarman, J. Erdosy et al. „MIPs and aptamers for recognition of proteins in biomimetic sensing“, *Biosensors*, Bd. 35, Nr. 6, S. 1–19, 2016.
- [70] J. Koolman und K.-H. Röhm, *Taschenatlas der Biochemie*. Georg Thieme Verlag Stuttgart New York, 1994.
- [71] J. Koolman und K.-H. Röhm, *Taschenatlas Biochemie des Menschen*, 4. Auflage. Georg Thieme Verlag Stuttgart New York, 2009.
- [72] S. Chen, L. Liu, J. Zhou et al. „Controlling Antibody Orientation on Charged Self-Assembled Monolayers“, *Langmuir*, Bd. 19, Nr. 7, S. 2859–2864, 2003.
- [73] M. E. Wiseman und C. W. Frank, „Antibody Adsorption and Orientation on Hydrophobic Surfaces“, *Langmuir*, Bd. 28, Nr. 3, S. 1765–1774, 2012.
- [74] G. Köhler und C. Milstein, „Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity“, *Nature*, Bd. 256, Nr. 5517, S. 495–497, 1975.
- [75] K. Heilmann, K. Messerschmidt und P. Holzlöhner, „Monoklonale Antikörper — Herstellung und Verwendung“, *BIOspektrum*, Bd. 18, Nr. 2, S. 167–169, 2012.
- [76] S. Song, L. Wang, J. Li et al. „Aptamer-based biosensors“, *Trends Anal. Chem.*, Bd. 27, Nr. 2, S. 108–117, 2008.
- [77] R. Stoltenburg, C. Reinemann und B. Strehlitz, „SELEX-A (r)evolutionary method to generate high-affinity nucleic acid ligands“, *Biomol. Eng.*, Bd. 24, Nr. 4, S. 381–403, 2007.
- [78] J.-G. Walter und F. Stahl, „Aptamere in der Biosensorik“, *Chem. Ing. Tech.*, Bd. 80, Nr. 6, S. 771–781, 2008.
- [79] S. Liu, J. Ren, Q. Xia et al. „Preliminary case-control study to evaluate diagnostic values of C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate in differentiating active Crohn’s disease from intestinal lymphoma, intestinal tuberculosis and Behcet’s syndrome“, *Am. J. Med. Sci.*, Bd. 346, Nr. 6, S. 467–472, 2013.
- [80] W. S. Tillett und T. Francis JR., „SEROLOGICAL REACTIONS IN PNEUMONIA WITH A NON-PROTEIN SOMATIC FRACTION OF PNEUMOCOCCUS“, *J. Exp. Med.*, Bd. 52, Nr. 4, S. 561–571, 1930.
- [81] C. Gabay und I. Kushner, „Acute-Phase Proteins and Other Systemic Responses to Inflammation“, *N. Engl. J. Med.*, Bd. 340, Nr. 6, S. 448–454, 1999.
- [82] D. Thompson, M. B. Pepys und S. P. Wood, „The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine“, *Structure*, Bd. 7, Nr. 2, S. 169–177, 1999.

- [83] S. Black, I. Kushner und D. Samols, „C-reactive Protein“, *J. Biol. Chem.*, Bd. 279, Nr. 47, S. 48 487–48 490, 2004.
- [84] J. E. Volanakis, „Human C-reactive protein: Expression, structure, and function“, *Mol. Immunol.*, Bd. 38, Nr. 2, S. 189–197, 2001.
- [85] B. Clyne und J. S. Olshaker, „THE C-REACTIVE PROTEIN“, *J. Emerg. Med.*, Bd. 17, Nr. 0736-4679 (Print), S. 1019–1025, 1999.
- [86] S. Lin, C. K. Lee, Y. M. Wang et al. „Measurement of dimensions of pentagonal doughnut-shaped C-reactive protein using an atomic force microscope and a dual polarisation interferometric biosensor“, *Biosens. Bioelectron.*, Bd. 22, Nr. 2, S. 323–327, 2006.
- [87] S. Surinova, R. Schiess, R. Hu et al. „On the Development of Plasma Protein Biomarkers“, *J. Proteome Res.*, Bd. 10, Nr. 1, S. 5–16, 2011.
- [88] X. Yang, Y. Wang, K. Wang et al. „DNA aptamer-based surface plasmon resonance sensing of human C-reactive protein“, *RSC Adv.*, Bd. 4, Nr. 58, S. 30 934, 2014.
- [89] D. R. Lide, Hrsg., *CRC Handbook of Chemistry and Physics: Internet Version*. Boca Raton, Florida: CRC Press LLC, 2005.
- [90] H. Yuan, W. M. Mullett und J. Pawliszyn, „Biological sample analysis with immunoaffinity solid-phase microextraction“, *Analyst*, Bd. 126, Nr. 8, S. 1456–1461, 2001.
- [91] I. Ivošević, „IMMOBILISIERUNG UND QUANTIFIZIERUNG VON WEIZENKEIMLEKTIN AN SILANISIERTEN GLASOBERFLÄCHEN“, Diplomarbeit, Universität Wien, Wien, 2009.
- [92] G. T. Hermanson, Hrsg., *BIOCONJUGATE TECHNIQUES*, 3. Auflage. London: Academic Press, 2013.
- [93] J. Burgmeier, A. Feizpour, W. Schade et al. „Plasmonic nanoshell functionalized etched fiber Bragg grating for highly sensitive refractive index measurements“, *Opt. Lett.*, Bd. 40, S. 546–549, 2015.
- [94] C. Heck, J. Prinz, A. Dathe et al. „Gold Nanolenses Self-Assembled by DNA Origami“, *ACS Photonics*, Bd. 4, Nr. 5, S. 1123–1130, 2017.
- [95] X. Zhang, T. Gouriye, K. Göeken et al. „Toward Fast and Quantitative Modification of Large Gold Nanoparticles by Thiolated DNA: Scaling of Nanoscale Forces, Kinetics, and the Need for Thiol Reduction“, *J. Phys. Chem. C*, Bd. 117, Nr. 30, S. 15 677–15 684, 2013.
- [96] L. H. Chen, C. C. Chan, K. Ni et al. „Label-free fiber-optic interferometric immunosensors based on waist-enlarged fusion taper“, *Sens. Actuators, B*, Bd. 178, S. 176–184, 2013.
- [97] A. Wochner, M. Menger, D. Orgel et al. „A DNA aptamer with high affinity and specificity for therapeutic anthracyclines“, *Anal. Biochem.*, Bd. 373, Nr. 1, S. 34–42, 2008.

-
- [98] (). HITRAN Datenbank, letzter Besuch: September 2015, Adresse: www.cfa.harvard.edu/hitran/.
- [99] J. Burgmeier, W. Schippers, N. Emde et al. „Femtosecond laser-inscribed fiber Bragg gratings for strain monitoring in power cables of offshore wind turbines“, *Appl. Opt.*, Bd. 50, Nr. 13, S. 1868–1872, 2011.
- [100] C. Liao, Q. Wang, L. Xu et al. „D-shaped fiber grating refractive index sensor induced by an ultrashort pulse laser“, *Appl. Opt.*, Bd. 55, Nr. 7, S. 1525, 2016.
- [101] J. Kumar, R. Mahakud, O. Prakash et al. „HF-based clad etching of fibre Bragg grating and its utilization in concentration sensing of laser dye in dye-ethanol solution“, *Pramana - J. Phys.*, Bd. 82, Nr. 2, S. 265–269, 2014.
- [102] (). ImageJ-Version 1.49p, entwickelt von Wayne Rasband am National Institute of Health, USA, Adresse: www.imagej.nih.gov/ij/.
- [103] L. Ke, W. K. Lim, N. S. Yee et al. „Immunosensor Characterization Using Impedance Spectroscopy“, *J. Biosens. Bioelectron.*, Bd. 04, Nr. 04, S. 1 000 138, 2013.
- [104] R. Henriques, M. Lelek, E. F. Fornasiero et al. „QuickPALM: 3D real-time photoactivation nanoscopy image processing in ImageJ“, *Nat. Methods*, Bd. 7, Nr. 5, S. 339–340, 2010.
- [105] S. Schulze, „Untersuchungen zur hochauflösenden Fluoreszenzmikroskopie (dSTORM) bei Verwendung einer neuartigen sCMOS-Kamera“, Masterarbeit, Universität Potsdam, Potsdam, 2013.
- [106] N. Jovanovic, J. Thomas, R. J. Williams et al. „Polarization-dependent effects in point-by-point fiber Bragg gratings enable simple, linearly polarized fiber lasers“, *Opt. Express*, Bd. 17, Nr. 8, S. 6082–6095, 2009.
- [107] X. Hu, D. Saez-Rodriguez, C. Marques et al. „Polarization effects in polymer FBGs: study and use for transverse force sensing“, *Opt. Express*, Bd. 23, Nr. 4, S. 4581–4590, 2015.
- [108] S. Mandal und D. Erickson, „Nanoscale optofluidic sensor arrays“, *Opt. Express*, Bd. 16, Nr. 3, S. 1623–1631, 2008.
- [109] S. Mandal, J. M. Goddard und D. Erickson, „A multiplexed optofluidic biomolecular sensor for low mass detection“, *Lab. Chip*, Bd. 9, Nr. 20, S. 2924–2932, 2009.
- [110] D. Dorfner, T. Zabel, T. Hürlimann et al. „Photonic crystal nanostructures for optical biosensing applications“, *Biosens. Bioelectron.*, Bd. 24, Nr. 12, S. 3688–3692, 2009.
- [111] J. García-Rupérez, V. Toccacafondo, M. J. Bañuls et al. „Label-free antibody detection using band edge fringes in SOI planar photonic crystal waveguides in the slow-light regime“, *Opt. Express*, Bd. 18, Nr. 23, S. 24 276–24 286, 2010.
- [112] (). entwickelt am MIT, Adresse: www.ab-initio.mit.edu/wiki/index.php/Meep.
- [113] V. R. Almeida, R. R. Panepucci und M. Lipson, „Nanotaper for compact mode conversion“, *Opt. Lett.*, Bd. 28, Nr. 15, S. 1302–1304, 2003.

- [114] Y. Liu und H. W. M. Salemink, „Photonic crystal-based all-optical on-chip sensor“, *Opt. Express*, Bd. 20, Nr. 18, S. 19912, 2012.
- [115] S. Pal, E. Guillermain, R. Sriram et al. „Silicon photonic crystal nanocavity-coupled waveguides for error-corrected optical biosensing“, *Biosens. Bioelectron.*, Bd. 26, Nr. 10, S. 4024–4031, 2011.
- [116] M. G. Scullion, A. Di Falco und T. F. Krauss, „Slotted photonic crystal cavities with integrated microfluidics for biosensing applications“, *Biosens. Bioelectron.*, Bd. 27, Nr. 1, S. 101–105, 2011.
- [117] M. R. Lee und P. M. Fauchet, „Two-dimensional silicon photonic crystal based biosensing platform for protein detection“, *Opt. Express*, Bd. 15, Nr. 8, S. 4530, 2007.
- [118] J. GARCÍA CASTELLÓ, „A Novel Approach to Label-Free Biosensors Based on Photonic Bandgap Structures“, Dissertation, Universitat Politècnica de València, Valencia, 2014.
- [119] C. Koutsides, K. Kalli, D. J. Webb et al. „Characterizing femtosecond laser inscribed Bragg grating spectra“, *Opt. Express*, Bd. 19, Nr. 1, S. 342–352, 2011.
- [120] K. Chah, V. Voisin, D. Kinet et al. „Surface plasmon resonance in eccentric femtosecond-laser-induced fiber Bragg gratings“, *Opt. Lett.*, Bd. 39, Nr. 24, S. 6887–6890, 2014.
- [121] T. H. T. Chan, L. Yu, H. Y. Tam et al. „Fiber Bragg grating sensors for structural health monitoring of Tsing Ma bridge: Background and experimental observation“, *Eng. Struct.*, Bd. 28, Nr. 5, S. 648–659, 2006.
- [122] K. Schroeder, W. Ecke, J. Apitz et al. „A fibre Bragg grating sensor system monitors operational load in a wind turbine rotor blade“, *Meas. Sci. Technol.*, Bd. 17, Nr. 5, S. 1167–1172, 2006.
- [123] B. N. Shivananju, S. Yamdagni, R. Fazuldeen et al. „CO₂ sensing at room temperature using carbon nanotubes coated core fiber Bragg grating“, *Rev. Sci. Instrum.*, Bd. 84, Nr. 6, S. 065002, 2013.
- [124] M. Reuß, „Charakterisierung der temperaturabhängigen Langzeitstabilität von Faser-Bragg-Gittern“, Bachelorarbeit, Universität Potsdam, Potsdam, 2016.
- [125] Y. Pfeifer, „Aufbau und Charakterisierung eines optischen Dehnungssensors im hohen Temperaturbereich“, Bachelorarbeit, Universität Potsdam, Potsdam, 2017.
- [126] G. D. Marshall, R. J. Williams, N. Jovanovic et al. „Point-by-point written fiber-Bragg gratings and their application in complex grating designs“, *Opt. Express*, Bd. 18, Nr. 19, S. 19844–19859, 2010.
- [127] V. Mishra, N. Singh, U. Tiwari et al. „Fiber grating sensors in medicine: Current and emerging applications“, *Sens. Actuators, A*, Bd. 167, Nr. 2, S. 279–290, 2011.
- [128] A. F. da Silva, R. Pedro, J. Paulo et al. „Photonic Sensors Based on Flexible Materials with FBGs for Use on Biomedical Applications“, in *Current Trends in Short- and Long-period Fiber Gratings*, C. Cuadrado-Laborde, Hrsg., InTech, 2013.

- [129] P. Roriz, L. Carvalho, O. Frazao et al. „From conventional sensors to fibre optic sensors for strain and force measurements in biomechanics applications: A review“, *J. Biomech.*, Bd. 47, Nr. 6, S. 1251–1261, 2014.
- [130] K. Miura, J. Qiu, H. Inouye et al. „Photowritten optical waveguides in various glasses with ultrashort pulse laser“, *Appl. Phys. Lett.*, Bd. 71, Nr. 23, S. 3329–3331, 1997.
- [131] K. Hirao und K. Miura, „Writing waveguides and gratings in silica and related materials by a femtosecond laser“, *J. Non-Cryst. Solids*, Bd. 239, Nr. 1-3, S. 91–95, 1998.
- [132] G. Della Valle, R. Osellame und P. Laporta, „Micromachining of photonic devices by femtosecond laser pulses“, *J. Opt. A: Pure Appl. Opt.*, Bd. 11, Nr. 1, S. 013001, 2009.
- [133] G. D. Marshall, M. Ams und M. J. Withford, „Point by point femtosecond laser inscription of fibre and waveguide bragg gratings for photonic device fabrication“, *PICALO 2006 - Conf. Proc.*, S. 360–362, 2006.
- [134] Y. Liao, J. Song, E. Li et al. „Rapid prototyping of three-dimensional microfluidic mixers in glass by femtosecond laser direct writing“, *Lab. Chip*, Bd. 12, Nr. 4, S. 746–749, 2012.
- [135] K. Sugioka und Y. Cheng, „Fabrication of 3D microfluidic structures inside glass by femtosecond laser micromachining“, *Appl. Phys. A*, Bd. 114, Nr. 1, S. 215–221, 2014.
- [136] J. H. Klein-Wiele, J. Bekesi und P. Simon, „Sub-micron patterning of solid materials with ultraviolet femtosecond pulses“, *Appl. Phys. A*, Bd. 79, S. 775–778, 2004.
- [137] K. Itoh, W. Watanabe, S. Nolte et al. „Ultrafast Processes for Bulk Modification of Transparent Materials“, *MRS Bull.*, Bd. 31, Nr. 08, S. 620–625, 2006.
- [138] K. Goya, M. Shiraishi, Y. Fuchiwaki et al. „Femtosecond Laser-Induced Surface Modification and its Application“, in *Applications of Laser Ablation - Thin Film Deposition, Nanomaterial Synthesis and Surface Modification*, D. Yang, Hrsg., Bd. Kapitel 14, InTech, 2016, S. 313–334.
- [139] C.-H. Chen, T.-C. Chao, W.-Y. Li et al. „Novel D-type Fiber Optic Localized Plasmon Resonance Sensor Realized by Femtosecond Laser Engraving“, *J. Laser Micro / Nanoeng.*, Bd. 5, Nr. 1, S. 1–5, 2010.
- [140] T. M. Libish, M. C. Bobby, C. L. Linslal et al. „Etched and DNA coated Fiber Bragg Grating based biosensor for protein concentration measurement“, *Optoelectron. Adv. Mater. Rapid Commun.*, Bd. 9, S. 1401–1405, 2015.
- [141] M. M. Werneck, R. C.S. B. Allil, B. A. Ribeiro et al. „A Guide to Fiber Bragg Grating Sensors“, in *Current Trends in Short- and Long-period Fiber Gratings*, C. Cuadrado-Laborde, Hrsg., Bd. Kapitel 1, InTech, 2013, S. 1–24.

- [142] A. N. Chryssis, S. S. Saini, S. M. Lee et al. „Detecting Hybridization of DNA by Highly Sensitive Evanescent Field Etched Core Fiber Bragg Grating Sensors“, *IEEE J. Sel. Topics Quantum Electron.*, Bd. 11, Nr. 4, S. 864–872, 2005.
- [143] J. Thomas, N. Jovanovic, R. G. Becker et al. „Cladding mode coupling in highly localized fiber Bragg gratings: modal properties and transmission spectra“, *Opt. Express*, Bd. 19, Nr. 1, S. 325–341, 2011.
- [144] A. Iadicicco, A. Cusano, S. Campopiano et al. „Thinned fiber Bragg gratings as refractive index sensors“, *IEEE Sensors J.*, Bd. 5, Nr. 6, S. 1288–1295, 2005.
- [145] Z. Wang, J. R. Heflin, R. H. Stolen et al. „Highly sensitive optical response of optical fiber long period gratings to nanometer-thick ionic self-assembled multilayers“, *Appl. Phys. Lett.*, Bd. 86, Nr. 22, S. 223 104, 2005.
- [146] M. D. Marazuela und M. C. Moreno-Bondi, „Fiber-optic biosensors - an overview“, *Anal. Bioanal. Chem.*, Bd. 372, Nr. 5-6, S. 664–682, 2002.
- [147] I. H. Malitson, „Interspecimen Comparison of the Refractive Index of Fused Silica“, *J. Opt. Soc. Am.*, Bd. 55, Nr. 10, S. 1205–1209, 1965.
- [148] W. von Sellmeier, „Zur Erklärung der abnormen Farbenfolge im Spectrum einiger Substanzen“, *Ann. Phys. Chem.*, Bd. 219, Nr. 6, S. 272–282, 1871.
- [149] D. A. Pereira, O. Frazão und J. L. Santos, „Fiber Bragg grating sensing system for simultaneous measurement of salinity and temperature“, *Opt. Eng.*, S. 299–304, 2003.
- [150] A. Asseh, S. Sandgren, H. Ahlfeldt et al. „Fiber Optical Bragg Grating Refractometer“, *Fiber Integrated Optics*, Bd. 17, Nr. 1, S. 51–62, 1998.
- [151] F. K. Coradin, G. R. C. Possetti, R. C. Kamikawachi et al. „Etched Fiber Bragg Gratings Sensors for Water-Ethanol Mixtures: A Comparative Study“, *J. Microw. Optoelectron. Electromagn. Appl.*, Bd. 9, Nr. 2, S. 131–143, 2010.
- [152] H. K. Bal, Z. Brodzeli, N. M. Dragomir et al. „Uniformly thinned optical fibers produced via HF etching with spectral and microscopic verification“, *Appl. Opt.*, Bd. 51, Nr. 13, S. 2282–2287, 2012.
- [153] J. Dai, M. Yang, X. Yu et al. „Greatly etched fiber Bragg grating hydrogen sensor with Pd/Ni composite film as sensing material“, *Sens. Actuators, B*, Bd. 174, S. 253–257, 2012.
- [154] G. A.C. M. Spierings, „Wet chemical etching of silicate glasses in hydrofluoric acid based solutions“, *J. Mater. Sci.*, Bd. 28, Nr. 23, S. 6261–6273, 1993.
- [155] Y. Yuan, L. Wang, L. Ding et al. „Theory, experiment, and application of optical fiber etching“, *Appl. Opt.*, Bd. 51, Nr. 24, S. 5845–5849, 2012.
- [156] K. T. Kim, I. S. Kim, C. H. Lee et al. „A Temperature-Insensitive Cladding-Etched Fiber Bragg Grating Using a Liquid Mixture with a Negative Thermo-Optic Coefficient“, *Sensors*, Bd. 12, Nr. 6, S. 7886–7892, 2012.
- [157] N. An, B. Zhuang, M. Li et al. „Combined Theoretical and Experimental Study of Refractive Indices of Water-Acetonitrile-Salt Systems“, *J. Phys. Chem. B*, Bd. 119, Nr. 33, S. 10 701–10 709, 2015.

- [158] (). letzter Besuch: 06.03.2018, Brigham Young University, Provo (UT), USA, Adresse: www.cleanroom.byu.edu/KOH.
- [159] T. L. Gilton und D. A. Korn, „Patent: OXIDE ETCH AND METHOD OF ETCHING“, Pat. 6,063,712, 2000.
- [160] K. Schroeder, W. Ecke, Mueller Ecke et al. „A fibre Bragg grating refractometer“, *Meas. Sci. Technol.*, Bd. 12, S. 757–764, 2001.
- [161] S. C. Warren-Smith und T. M. Monro, „Exposed core microstructured optical fiber Bragg gratings: Refractive index sensing“, *Opt. Express*, Bd. 22, Nr. 2, S. 1480–1489, 2014.
- [162] J. Flannery, G. Bappi, V. Bhaskara et al. „Implementing Bragg mirrors in a hollow-core photonic-crystal fiber“, *Opt. Mater. Express*, Bd. 7, Nr. 4, S. 1198, 2017.
- [163] M. L. V. Tse, K. M. Chung, L. Dong et al. „Observation of symmetrical reflection sidebands in a silica suspended-core fiber Bragg grating“, *Opt. Express*, Bd. 18, Nr. 16, S. 17373–17381, 2010.
- [164] A. Mazhorova, A. Markov, A. Ng et al. „Label-free bacteria detection using evanescent mode of a suspended core terahertz fiber“, in *Conference on Lasers and Electro-Optics 2012*, Washington, D.C.: OSA, 2012, CTu3B.6.
- [165] C.-H. Chen, T.-C. Tsao, J.-L. Tang et al. „A Multi-D-Shaped Optical Fiber for Refractive Index Sensing“, *Sensors*, Bd. 10, Nr. 5, S. 4794–4804, 2010.
- [166] X. Chen, L. Chen, M. D. Hughes et al. „EDC-Mediated Oligonucleotide Immobilization on a Long Period Grating Optical Biosensor“, *J. Biosens. Bioelectron.*, Bd. 06, Nr. 02, S. 1000173, 2015.
- [167] T. M. Libish, „Design and Development of fiber Grating Based chemical and Biosensors“, Dissertation, University of Science & Technology Cochin, Cochin, Indien, 2015.
- [168] J. M. Renoirt, M. Debliquy, J. Albert et al. „Surface Plasmon Resonances in Oriented Silver Nanowire Coatings on Optical Fibers“, *J. Phys. Chem. C*, Bd. 118, Nr. 20, S. 11035–11042, 2014.
- [169] C. Caucheteur, T. Guo und J. Albert, „Review of plasmonic fiber optic biochemical sensors: Improving the limit of detection“, *Anal. Bioanal. Chem.*, Bd. 407, Nr. 14, S. 3883–3897, 2015.
- [170] C. Ribaut, M. Loyez, J.-C. Larrieu et al. „Cancer biomarker sensing using packaged plasmonic optical fiber gratings: Towards in vivo diagnosis“, *Biosens. Bioelectron.*, Bd. 92, S. 449–456, 2017.
- [171] S. J. Oldenburg, J. B. Jackson, S. L. Westcott et al. „Infrared extinction properties of gold nanoshells“, *Appl. Phys. Lett.*, Bd. 75, Nr. 19, S. 2897–2899, 1999.
- [172] P. Tuersun und X. Han, „Optical absorption analysis and optimization of gold nanoshells“, *Appl. Opt.*, Bd. 52, Nr. 6, S. 1325–1329, 2013.
- [173] D. Y. Wang, Y. Wang, M. Han et al. „Fully Distributed Fiber-Optic Biological Sensing“, *IEEE Photon. Technol. Lett.*, Bd. 22, Nr. 21, S. 1553–1555, 2010.

- [174] M.-j. Yin, C. Wu, L.-Y. Shao et al. „Label-free, disposable fiber-optic biosensors for DNA hybridization detection“, *Analyst*, Bd. 138, Nr. 7, S. 1988–1994, 2013.
- [175] W. Bechmann und I. Bald, *Einstieg in die Physikalische Chemie für Nebenfächler*, 5. Auflage. Springer Berlin Heidelberg, 2006.
- [176] D. G. Kinniburgh, „General Purpose Adsorption Isotherms“, *Environ. Sci. Technol.*, Bd. 20, Nr. 9, S. 895–904, 1986.
- [177] G. J. Lauth und J. Kowalczyk, *Einführung in die Physik und Chemie der Grenzflächen und Kolloide*. Springer Berlin Heidelberg, 2015.
- [178] H. A. Chase, „PREDICTION OF THE PERFORMANCE OF PREPARATIVE AFFINITY CHROMATOGRAPHY“, *J. Chromatogr.*, Bd. 297, S. 179–202, 1984.
- [179] E. S. Forzani, X. Li, P. Zhang et al. „Tuning the chemical selectivity of SWNT-FETs for detection of heavy-metal ions“, *Small*, Bd. 2, Nr. 11, S. 1283–1291, 2006.
- [180] W. Wang, C. Chen, M. Qian et al. „Aptamer biosensor for protein detection using gold nanoparticles“, *Anal. Biochem.*, Bd. 373, Nr. 2, S. 213–219, 2008.
- [181] S. Krüger, „Seidenbasierte anorganische Funktionsmaterialien“, Dissertation, Universität Potsdam, Potsdam, 2017.
- [182] G. Adam, P. Läger und G. Stark, *Physikalische Chemie und Biophysik*, Fünfte, überarbeitete Auflage, Ser. Springer-Lehrbuch. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2009.
- [183] G. Wedler und H.-J. Freund, *Lehrbuch der Physikalischen Chemie*, 6. Auflage. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2012.
- [184] M. Bergström, S. Liu, K. L. Kiick et al. „Cholera Toxin Inhibitors Studied with High-Performance Liquid Affinity Chromatography: A Robust Method to Evaluate Receptor-Ligand Interactions“, *Chem. Biol. Drug Des.*, Bd. 73, Nr. 1, S. 132–141, 2009.
- [185] R. Sips, „On the Structure of a Catalyst Surface“, *J. Chem. Phys.*, Bd. 16, Nr. 5, S. 490–495, 1948.
- [186] R. Sips, „On the Structure of a Catalyst Surface. II“, *J. Chem. Phys.*, Bd. 18, Nr. 8, S. 1024–1026, 1950.
- [187] L. Sala, F. S. Figueira, G. P. Cerveira et al. „KINETICS AND ADSORPTION ISOTHERM OF C-PHYCOCYANIN FROM *Spirulina platensis* ON ION-EXCHANGE RESINS“, *Braz. J. Chem. Eng.*, Bd. 31, Nr. 4, S. 1013–1022, 2014.
- [188] S. Sharma und G. P. Agarwal, „Interactions of Proteins with Immobilized Metal Ions: A Comparative Analysis Using Various Isotherm Models“, *Anal. Biochem.*, Bd. 288, Nr. 2, S. 126–140, 2001.
- [189] L. Marques, F. U. Hernandez, S. W. James et al. „Highly sensitive optical fibre long period grating biosensor anchored with silica core gold shell nanoparticles“, *Biosens. Bioelectron.*, Bd. 75, S. 222–231, 2016.
- [190] C. A. Barrios, M. J. Banuls, V. Gonzalez-Pedro et al. „Label-free optical biosensing with slot-waveguides“, *Opt. Lett.*, Bd. 33, Nr. 7, S. 708–710, 2008.

- [191] S. Maguis, G. Laffont, P. Ferdinand et al. „Biofunctionalized tilted Fiber Bragg Gratings for label-free immunosensing“, *Opt. Express*, Bd. 16, Nr. 23, S. 19 049–19 062, 2008.
- [192] M. Wehrhold, „Entwicklung von faseroptischen Bragg-Gitter-Sensoren für biochemische Anwendungen“, Masterarbeit, Universität Potsdam, Potsdam, 2016.
- [193] M.-J. Bañuls, R. Puchades und Á. Maquieira, „Chemical surface modifications for the development of silicon-based label-free integrated optical (IO) biosensors: A review“, *Anal. Chim. Acta*, Bd. 777, S. 1–16, 2013.
- [194] S. Sridevi, K. S. Vasu, S. Asokan et al. „Sensitive detection of C-reactive protein using optical fiber Bragg gratings“, *Biosens. Bioelectron.*, Bd. 65, S. 251–256, 2015.
- [195] P. Zubiarte, C. R. Zamarreño, P. Sánchez et al. „High sensitive and selective C-reactive protein detection by means of lossy mode resonance based optical fiber devices“, *Biosens. Bioelectron.*, Bd. 93, S. 176–181, 2017.
- [196] P. Póvoa, L. Coelho, E. Almeida et al. „C-reactive protein as a marker of infection in critically ill patients“, *Clin. Microbiol. Infect. (Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious)*, Bd. 11, Nr. 2, S. 101–108, 2005.
- [197] X. Schmitt und J.-L. Vincent, „The Time Course of Blood C-reactive Protein Concentrations in Relation to the Response to Initial Antimicrobial Therapy in Patients with Sepsis“, *Infection*, Bd. 36, Nr. 3, S. 213–219, 2008.
- [198] C. Pierrakos und J.-L. Vincent, „Sepsis biomarkers: a review“, *Critical Care*, Bd. 14, Nr. R15, 2010.
- [199] H. Aref und S. Refaat, „CRP evaluation in non-small cell lung cancer“, *Egypt. J. Chest Dis. Tuberc.*, Bd. 63, Nr. 3, S. 717–722, 2014.
- [200] L. Simon, F. Gauvin, D. K. Amre et al. „Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: A systematic review and meta-analysis“, *Clin. Infect. Dis.*, Bd. 39, Nr. 2, S. 206–217, 2004.
- [201] W. Nargis, M. Ibrahim und B. U. Ahamed, „Procalcitonin versus C-reactive protein: Usefulness as biomarker of sepsis in ICU patient“, *Int. J. Crit. Illn. Inj. Sci.*, Bd. 4, Nr. 3, S. 195–199, 2014.
- [202] (). Stand August 2014, Adresse: www.biomarker-trends.com/tag/cancer-biomarker/.
- [203] M. Polanski und N. L. Anderson, „A List of Candidate Cancer Biomarkers for Targeted Proteomics“, *Biomarker Insights*, Bd. 1, Nr. 301, S. 1–48, 2007.
- [204] R. Schiess, B. Wollscheid und R. Aebersold, „Targeted proteomic strategy for clinical biomarker discovery“, *Molecular Oncology*, Bd. 3, Nr. 1, S. 33–44, 2009.
- [205] S. Jahns, M. Bräu, B.-O. Meyer et al. „Handheld imaging photonic crystal biosensor for multiplexed, label-free protein detection“, *Biomed. Opt. Express*, Bd. 6, Nr. 10, S. 3724–3736, 2015.

- [206] M. S. Wang, J. C. Black, M. K. Knowles et al. „C-reactive protein (CRP) aptamer binds to monomeric but not pentameric form of CRP“, *Anal. Bioanal. Chem.*, Bd. 401, Nr. 4, S. 1309–1318, 2011.
- [207] A. Bini, S. Centi, S. Tombelli et al. „Development of an optical RNA-based aptasensor for C-reactive protein“, *Anal. Bioanal. Chem.*, Bd. 390, Nr. 4, S. 1077–1086, 2008.
- [208] C. S. Cheung, S. M. Topliss, S. W. James et al. „Response of fiber-optic long-period gratings operating near the phase-matching turning point to the deposition of nanostructured coatings“, *J. Opt. Soc. Am. B.*, Bd. 25, Nr. 6, S. 897, 2008.
- [209] P. Pilla, A. Sandomenico, V. Malachovská et al. „A protein-based biointerfacing route toward label-free immunoassays with long period gratings in transition mode“, *Biosens. Bioelectron.*, Bd. 31, Nr. 1, S. 486–491, 2012.
- [210] S. Sridevi, K. S. Vasu, N. Jayaraman et al. „Optical bio-sensing devices based on etched fiber Bragg gratings coated with carbon nanotubes and graphene oxide along with a specific dendrimer“, *Sens. Actuators, B*, Bd. 195, S. 150–155, 2014.
- [211] S. Sridevi, K. S. Vasu, S. Sampath et al. „Optical detection of glucose and glycated hemoglobin using etched fiber Bragg gratings coated with functionalized reduced graphene oxide“, *J. Biophotonics*, Bd. 9, Nr. 7, S. 760–769, 2016.
- [212] S. K. Vashist, A. G. Venkatesh, M. E. Schneider et al. „Bioanalytical advances in assays for C-reactive protein“, *Biotechnol. Adv.*, Bd. 34, Nr. 3, S. 272–290, 2016.
- [213] S. A. Vance und M. G. Sandros, „Zeptomole Detection of C-Reactive Protein in Serum by a Nanoparticle Amplified Surface Plasmon Resonance Imaging Aptasensor“, *Sci. Rep.*, Bd. 4, S. 1–7, 2014.
- [214] W.-B. Lee, Y.-H. Chen, H.-I. Lin et al. „An integrated microfluidic system for fast, automatic detection of C-reactive protein“, *Sens. Actuators, B*, Bd. 157, Nr. 2, S. 710–721, 2011.
- [215] M. S. Islam, H. Yu, H. G. Lee et al. „Molecular switching fluorescence based high sensitive detection of label-free C-reactive protein on biochip“, *Biosens. Bioelectron.*, Bd. 26, Nr. 3, S. 1028–1035, 2010.
- [216] S. M. Shamah und B. T. Cunningham, „Label-free cell-based assays using photonic crystal optical biosensors“, *Analyst*, Bd. 136, Nr. 136, S. 1090–1102, 2011.
- [217] S. Chakravarty, W.-C. Lai, Y. Zou et al. „Multiplexed specific label-free detection of NCI-H358 lung cancer cell line lysates with silicon based photonic crystal microcavity biosensors“, *Biosens. Bioelectron.*, Bd. 43, Nr. 1, S. 50–55, 2013.
- [218] P. Roder und C. Hille, „A Multifunctional Frontloading Approach for Repeated Recycling of a Pressure-Controlled AFM Micropipette“, *PLoS ONE*, Bd. 10, Nr. 12, e0144157, 2015.
- [219] Y. Jiang, C. Liu, W. Zhang et al. „Multi-Parameter Sensing Using a Fiber Bragg Grating Inscribed in Dual-Mode Fiber“, *IEEE Photon. Technol. Lett.*, Bd. 29, Nr. 19, S. 1607–1610, 2017.

-
- [220] W. Bai, M. Yang, C. Hu et al. „Ultra-Weak Fiber Bragg Grating Sensing Network Coated with Sensitive Material for Multi-Parameter Measurements“, *Sensors*, Bd. 17, Nr. 7, 2017.
- [221] B. E. A. Saleh und M. C. Teich, Hrsg., *FUNDAMENTALS OF PHOTONICS*. New York: JOHN WILEY & SONS, Inc, 1991.
- [222] A. L. Cauchy, *Memoire sur la dispersion de la lumiere*. J. G. Calve, 1836.
- [223] E. Hecht, *OPTIK*, 6. Auflage. Oldenburg: De Gruyter, 2014.
- [224] F. Graham-Smith und T. A. King, *Optics and Photonics: An Introduction*. Chichester: JOHN WILEY & SONS, Inc, 2000.
- [225] C. Alexander und E. T. Rietschel, „Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity“, *J. Endotoxin Res.*, Bd. 7, Nr. 3, S. 167–202, 2001.
- [226] R. J. Ulevitch und P. S. Tobias, „RECEPTOR-DEPENDENT MECHANISMS OF CELL STIMULATION BY BACTERIAL ENDOTOXIN“, *Annu. Rev. Immunol.*, Bd. 13, Nr. 1, S. 437–457, 1995.
- [227] C. A. Dinarello, „Infection, fever, and exogenous and endogenous pyrogens: Some concepts have changed“, *J. Endotoxin Res.*, Bd. 10, Nr. 4, S. 201–222, 2004.
- [228] M. Coureuil, O. Join-Lambert, H. Lécuyer et al. „Pathogenesis of meningococemia“, *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, Bd. 3, Nr. 6, 2013.
- [229] G. Goscinski, M. Lipcsey, M. Eriksson et al. „Endotoxin neutralization and anti-inflammatory effects of tobramycin and ceftazidime in porcine endotoxin shock“, *Critical Care*, Bd. 8, Nr. 1, R35–41, 2004.
- [230] O. Haji-Ghassemi, S. Müller-Loennies, T. Rodriguez et al. „Structural Basis for Antibody Recognition of Lipid A: INSIGHTS TO POLYSPECIFICITY TOWARD SINGLE-STRANDED DNA“, *J. Biol. Chem.*, Bd. 290, Nr. 32, S. 19 629–19 640, 2015.
- [231] W. Su, S.-E. Kim, M. Cho et al. „Selective detection of endotoxin using an impedance aptasensor with electrochemically deposited gold nanoparticles“, *Innate Immunity*, Bd. 19, Nr. 4, S. 388–397, 2013.

Anhang A: Optoelektronische Grundlagen

Die Abschnitte „Brechungsindex“ und „Wellen an Grenzflächen zwischen zwei Medien“ folgen dem Aufbau aus dem Lehrbuch „Experimentalphysik 2“ von W. Demtröder [17]. Der Abschnitt „Lichtführung in optischen Fasern“ folgt dagegen den Büchern „*Fiber Optics*“ [19] und „*FUNDAMENTAL OF PHOTONICS*“ [221]. Die Nomenklatur der vektoriellen Größen ist eine Kombination aus den Schreibweisen dieser drei Bücher. Die physikalische Betrachtung der Bragg-Gleichung beginnt bei der Theorie der gekoppelten Moden. Anschließend wird das Phänomen der räumlich periodischen n -Änderung beschrieben und abschließend die Phasen Anpassung für den Fall der gegenläufigen Moden. Diese zuletzt genannten Betrachtungen folgen dem Aufbau aus dem Buch „FIBER BRAGG GRATINGS“ von R. Kashyap [44], wobei auf eine kontinuierliche Nomenklatur geachtet wurde bzw. so modifiziert worden ist, dass in dieser Arbeit eine kontinuierliche Nomenklatur vorlag. Sollten einzelne Fakten in den jeweiligen Abschnitten aus anderen Werken entnommen sein, sind gesonderte Literaturverweise angegeben.

A.1 Brechungsindex

Eine ebene elektromagnetische Welle, $\vec{E}_e(\vec{r}, t) = E_0(z)e^{j(\omega t - kz)} = E_0(z)e^{j\omega(t - z/c)}$ mit $k = \frac{\omega}{c}$, wandert in z -Richtung durch ein Medium mit der Schichtdicke Δz . Innerhalb des Mediums ist die Wellenlänge der Welle λ um $\lambda = \frac{\lambda_0}{n}$ kleiner als die Wellenlänge der Welle außerhalb des Mediums, wobei sich die Frequenz ω beim Durchtritt durch das Medium nicht verändert ($\Delta\omega = 0$) (**Energieerhaltung**). Beim Durchlaufen der Welle durch das Medium werden die Atomelektronen angeregt zu schwingen (induzierte Dipole). Diese Dipole erzeugen wiederum elektromagnetische Wellen $\vec{E}_k(\vec{r}, t)$, mit $\omega = \omega_k$. Die Phase der erzwungenen Schwingung ist im Vergleich zur Phase der Erregerwelle verzögert. Die Primärwelle und die Sekundärwelle überlagern sich zu einem Gesamtwellenfeld $\vec{E}(\vec{r}, t)$:

$$\vec{E}(\vec{r}, t) = \vec{E}_e(\vec{r}, t) + \sum_k \vec{E}_k(\vec{r}, t). \quad (\text{A.1})$$

Aufgrund der Phasenverzögerung der Sekundärwelle verzögert sich die Gesamtwelle gegenüber der Primärwelle, somit ist die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Gesamtwelle im

Medium kleiner als im Vakuum. Die Welle braucht im Vakuum für die Strecke Δz die Zeit $t = \Delta z/c_0$. Im Medium braucht sie dagegen die zusätzliche Zeit $\Delta t = (n-1) \cdot \Delta z/c_0$, da sie sich mit der Geschwindigkeit $c = c_0/n$ ausbreitet. Die Gesamtwelle wird nach dem Passieren des Mediums beschrieben durch:

$$\vec{E}(\vec{r}, t) = E_0(z) e^{j\omega[t - (n-1)\Delta z/c_0 - z/c_0]} = E_0(z) e^{j\omega(t-z/c_0)} e^{-j\omega(n-1)\Delta z/c_0}. \quad (\text{A.2})$$

Die Primärwelle wird durch den ersten Term in **Gl. A.2** angegeben. Der zweite Term, $e^{-j\Delta\varphi}$ mit $\Delta\varphi = \omega(n-1)\Delta z/c_0 = 2\pi(n-1)\frac{\Delta z}{\lambda}$ bestimmt den Einfluss des Mediums auf die Gesamtwelle. Bei sehr kleinen Phasenverschiebungen $\Delta\varphi$, dies ist vor allem bei Gasen der Fall, kann man die Näherung $e^{-j\varphi} \approx 1 - j\varphi$ benutzen, wodurch aus **Gl. A.2** die **Gl. A.1** in der Form:

$$\begin{aligned} \vec{E}(\vec{r}, t) &= \underbrace{E_0(z) e^{j\omega(t-z/c_0)} - j\omega(n-1) \frac{\Delta z}{c_0} E_0(z) e^{j\omega(t-z/c_0)}}_{\vec{E}_e(\vec{r}, t) + \sum_k \vec{E}_k(\vec{r}, t)} \\ &= \vec{E}_e(\vec{r}, t) + \sum_k \vec{E}_k(\vec{r}, t) \\ &= \vec{E}_e(\vec{r}, t) + \vec{E}_{\text{Medium}}(\vec{r}, t) \end{aligned} \quad (\text{A.3})$$

wird. Allgemein betrachtet bedeutet das, dass der Einfluss auf die Primärwelle durch die Sekundärwelle mit Hilfe von n und der Schichtdicke Δz des Medium beschrieben werden kann. n ist außerdem eine komplexe Größe mit:

$$n = n_r - j\kappa. \quad (\text{A.4})$$

Durch das Einsetzen von **Gl. A.4** in **Gl. A.2** kann man die physikalische Bedeutung von n für eine transmittierende Welle mit $k_0 = \omega/c_0$ durch das Medium mit der Schichtdicke Δz verdeutlichen:

$$\begin{aligned} \vec{E}(\vec{r}, t) &= E_0(z) \cdot e^{-\omega\Delta z/c_0} \cdot e^{-j\omega(n_r-1)\Delta z/c_0} \cdot e^{j(\omega t - k_0 z)} \\ &= A \cdot B \cdot E_0 \cdot e^{j(\omega t - k_0 z)} \end{aligned} \quad (\text{A.5})$$

Die Abnahme der Amplitude beim Durchlaufen der Welle durch das Medium wird dabei durch den Faktor $A = e^{-\omega\Delta z/c_0}$ angegeben. Die Wegstrecke $\Delta z = c_0/(\omega\kappa)$ ist die Distanz, in der die Amplitude auf $1/e \approx 1/3$ der Primärwelle abgesunken ist (**Absorption**):

$$I = I_0 \cdot e^{-\alpha\Delta z}, \quad (\text{A.6})$$

mit $\alpha = 2k_0\kappa$ als Absorptionskoeffizient. Dieser ist proportional zum Imaginärteil κ vom komplexen n , mit der Wellenzahl $k_0 = 2\pi/\lambda_0$ der Welle im Vakuum. Bei einem transparenten Medium ist der Absorptionskoeffizient sehr klein, damit ist auch der Imaginärteil κ sehr klein. Deshalb kann man in diesem Fall schreiben, dass:

$$n \approx n_r \quad (\text{A.7})$$

Die Phasenverzögerung der Welle beim Durchlaufen der Welle durch das Medium wird durch den Faktor $B = e^{-j\omega(n_r-1)\Delta z/c_0}$ (**Gl. A.5**) angegeben. Die weitere Phasenverschiebung gegenüber dem Durchtritt der Strecke Δz im Vakuum ist:

$$\begin{aligned} \Delta\phi &= \omega(n_r - 1)\Delta z/c_0 \\ &= 2\pi(n_r - 1)\Delta z/c_0. \end{aligned} \quad (\text{A.8})$$

Im Endeffekt bedeutet das, dass eine Phasenänderung über einen Weg von $\Delta z = \lambda_0$ im Medium $\Delta\phi = n_r \cdot 2\pi$ ist und im Vakuum ist $\Delta\phi$ dagegen 2π . Es folgt daraus, dass die Wellenlänge im Medium, mit komplexen n , kleiner als die Wellenlänge λ_0 im Vakuum ist (**Dispersion**):

$$\lambda = \frac{\lambda_0}{n_r}. \quad (\text{A.9})$$

Eine parametrische Beschreibung von n für isotrope, transparente Medien in Abhängigkeit der Wellenlänge erfolgte 1836 von A. L. Cauchy [222]:

$$n(\lambda) = B_0 + \sum_{j=1}^i \frac{B_j}{\lambda^{2j}} \quad (\text{A.10})$$

In Anlehnung an das Modell von Cauchy ermittelte W. von Sellmeier 1871 eine empirische Beschreibung von n für transparente Medien in Abhängigkeit der Wellenlänge. Dieser Ansatz erzielt dabei genauere Werte im Infrarotbereich [148]:

$$n^2(\lambda) = 1 + \sum_{j=1}^i \frac{B_j\lambda^2}{\lambda^2 - C_j} \quad (\text{A.11})$$

A.2 Wellen an Grenzflächen zwischen zwei Medien

Es wird das Phänomen elektromagnetische Wellen an der Grenzfläche zwischen zwei Medien mit unterschiedlichen Brechungsindizes ($n_1 \neq n_2$) betrachtet (**Abb. A.1**).

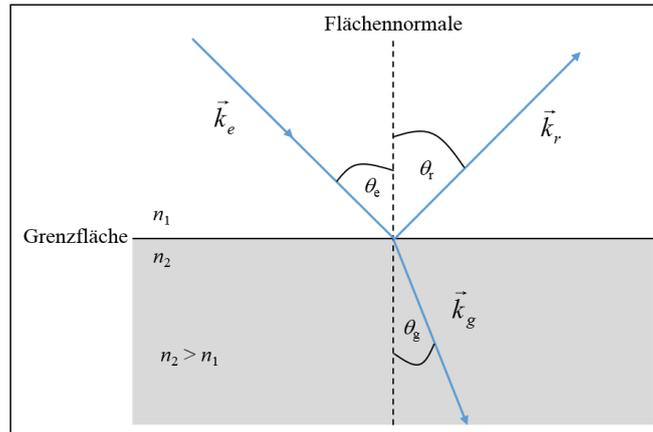


Abbildung A.1: Die Graphik zeigt die Wellenvektoren von ebener einfallender, reflektierender und gebrochener Welle an einer Grenzfläche zwischen den Medien 1 und 2 mit den Brechungsindizes n_1 bzw. n_2 , wobei $n_2 > n_1$ ist. Des Weiteren sind die mit der Flächennormalen (Lot) entstehenden Einfallswinkel (θ_e), Reflexionswinkel (θ_r) und Brechungswinkel (θ_g) dargestellt, verändert nach [17].

Eine ebene Welle:

$$\vec{E}_e(\vec{r}, t) = A_e e^{j(\omega_e t - \vec{k}_e \cdot \vec{r})}, \quad (\text{A.12a})$$

erreicht die Grenzfläche zwischen den Medien 1 und 2. Wie oben beschrieben, regt die Welle in beiden Medien Atomelektronen zu Schwingungen an. Diese induzierten Sekundärwellen überlagern sich dann mit der Primärwelle. Die einfallende ebene Welle $\vec{E}_e(\vec{r}, t)$ wird in zwei Wellen aufgetrennt. Zum einen entsteht eine gebrochene Welle:

$$\vec{E}_g(\vec{r}, t) = A_g e^{j(\omega_g t - \vec{k}_g \cdot \vec{r})}, \quad (\text{A.12b})$$

welche in das andere Medium eintritt, wobei sich im Allgemeinen die Ausbreitungsrichtung im Vergleich zur einfallenden Welle ändert. Zum anderen entsteht eine reflektierte Welle:

$$\vec{E}_r(\vec{r}, t) = A_r e^{j(\omega_r t - \vec{k}_r \cdot \vec{r})}. \quad (\text{A.12c})$$

Für die weitere Betrachtung müssen zunächst einmal noch zwei Randbedingungen für die elektrische Feldstärke getroffen werden. Der elektrischen Feldstärkenvektor $\vec{E}(r, t)$ wird in eine parallel zur Grenzfläche liegenden Komponente $\vec{E}_t(r, t)$ (Tangentialkomponente) und in eine orthogonal zur Grenzfläche liegende Komponente $\vec{E}_n(r, t)$ (Normalkomponente) mit der Bedingung $\vec{E}(r, t) = \vec{E}_t(r, t) + \vec{E}_n(r, t)$ zerlegt. Dies gilt für alle $\vec{E}_e(r, t) \perp \vec{k}_e$. Des Weiteren muss das Stetigkeitsprinzip für die Tangentialkomponente beim Übergang vom Medium 1 ins Medium 2 gelten, d.h. die Tangentialkomponenten in beiden Medien sind identisch [$\vec{E}_{1t}(r, t) = \vec{E}_{2t}(r, t)$]. So gilt für die drei Wellen:

$$\vec{E}_{et}(r, t) + \vec{E}_{rt}(r, t) = \vec{E}_{gt}(r, t) \quad (\text{A.13})$$

Als nächstes wird ein Koordinatensystem gewählt, sodass die Grenzfläche in der x-z-Ebene und der Wellenvektor \vec{k}_e in der x-y-Ebene liegt. Aus der Stetigkeitsbedingung (**Gl. A.13**) mit $\omega_e = \omega_r = \omega_g$ ergibt sich, dass an allen Punkten der Grenzfläche die Phasen der drei Wellen identisch sind:

$$\vec{k}_e \cdot r = \vec{k}_r \cdot r = \vec{k}_g \cdot r. \quad (\text{A.14})$$

Für die gewählte Grenzfläche gilt dann mit dem beliebigen Punkt:

$$\begin{aligned} r &= x\hat{e}_x + z\hat{e}_z, \\ \vec{k}_e &= k_{ex}\hat{e}_x + k_{ey}\hat{e}_y. \end{aligned} \quad (\text{A.15})$$

Da über die Richtungen von \vec{k}_g und \vec{k}_r bisher noch keine Aussage getroffen worden ist, gilt allgemein:

$$\begin{aligned} \vec{k}_r &= k_{rx}\hat{e}_x + k_{ry}\hat{e}_y + k_{rz}\hat{e}_z, \\ \vec{k}_g &= k_{gx}\hat{e}_x + k_{gy}\hat{e}_y + k_{gz}\hat{e}_z. \end{aligned}$$

Setzt man sie dann aber gemeinsam mit **Gl. A.15** in **Gl. A.14** ein, erhält man:

$$k_{ex}x = k_{rx}x + k_{rz}z = k_{gx}x + k_{gz}z. \quad (\text{A.16})$$

Die **Gl. A.16** gilt für alle Punkte auf der Grenzfläche, daraus folgt, dass:

$$\begin{aligned} k_{ex}x &= k_{rx}x = k_{gx}x, \\ k_{rz}z &= k_{gz}z = 0. \end{aligned} \quad (\text{A.17})$$

Die **Gl. A.17** zeigt damit, dass die Wellenvektoren der gebrochenen und reflektierenden

Welle in der x-y-Ebene liegen. Aus **Abb. A.2** kann man folgende Relationen entnehmen:

$$\begin{aligned} k_{\text{ex}} &= k_e \cdot \sin \theta_e, \\ k_{\text{rx}} &= k_r \cdot \sin \theta_r, \\ k_{\text{gx}} &= k_g \cdot \sin \theta_g. \end{aligned} \tag{A.18}$$

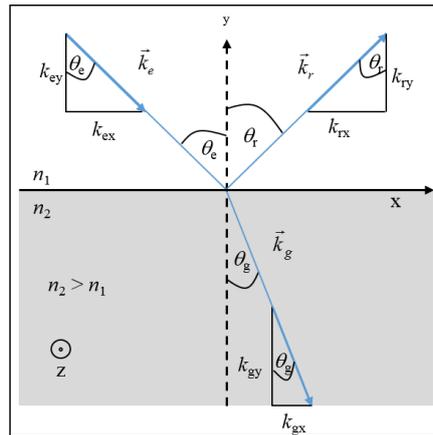


Abbildung A.2: Es sind die Wellenvektoren und Wellenvektorkomponenten von ebener einfallender, reflektierender und gebrochener Welle in x-y-Ebene an einer Grenzfläche (x-z-Ebene) zwischen zwei den Medien 1 und 2 mit den Brechungsindizes n_1 bzw. n_2 , indem $n_2 > n_1$ ist, dargestellt. Zudem sind die mit der Flächennormalen (y-z-Ebene) bzw. Wellenvektorkomponenten entstehenden Einfallswinkel (θ_e), Reflexionswinkel (θ_r) und Brechungswinkel (θ_g) gezeigt. Die Zeichenebene entspricht der Einfallsebene, verändert nach [17].

Die Beziehung $k = n \cdot \frac{\omega}{c_0} = \omega/c$ führt dazu, dass man folgende Verhältnis aufstellen kann:

$$\frac{\sin \theta_e}{c_1} = \frac{\sin \theta_r}{c_1} = \frac{\sin \theta_g}{c_2}. \tag{A.19}$$

Das bedeutet, dass der Einfallswinkel θ_e gleich dem Reflexionswinkel θ_r ist und zwischen dem Einfallswinkel θ_e und dem Winkel θ_g der gebrochenen Welle existiert folgender mathematischer Zusammenhang, der als *Snelliussches Brechungsgesetz* bekannt ist:

$$\boxed{\frac{\sin \theta_e}{\sin \theta_g} = \frac{c_1}{c_2} = \frac{n_2}{n_1}}. \tag{A.20}$$

Aus dem Brechungsgesetz kann man folgende zwei Aussagen ableiten [223]: Geht der Strahl vom Medium mit kleinerem n in das Medium mit dem höheren n über ($n_2 > n_1$), dann gilt $\sin \theta_e > \sin \theta_g$. Das bedeutet, dass $\theta_e > \theta_g$ ist und somit wird die Welle in Richtung

der Flächennormalen hin gebrochen. Für den umgekehrten Fall ($n_1 > n_2$), wird die Welle von der Flächennormalen weg gebrochen. Erfolgt der Übergang vom Medium mit höheren n in das Medium mit niedrigeren n ($n_1 > n_2$) kann man zusätzlich folgende Phänomene beobachten:

- Ist $\sin\theta_g = 1$: Die Welle breitet sich entlang der Grenzfläche weiter aus. Es gilt $\sin\theta_e = \frac{n_2}{n_1}$. Damit ist der Einfallswinkel θ_e der Grenzwinkel der Totalreflexion (θ_c). Dieser wird auch kritischer Winkel genannt.
- Ist $\sin\theta_g > 1$: Die Welle breitet sich hauptsächlich im Medium mit höherem n (n_1) aus. Dann gilt $\sin\theta_e > \frac{n_2}{n_1} > \sin\theta_c$. In diesem Fall spricht man von „innerer“ Totalreflexion.

Um einen Ausdruck zu finden, inwiefern sich die elektromagnetische Welle im Falle der „inneren“ Totalreflexion im Medium mit niedrigeren $n(n_2)$ ausbreitet, wird zunächst von **Gl. A.12b** ausgegangen [223]:

$$\vec{E}_g(\vec{r}, t) = A_g e^{j(\omega_g t - \vec{k}_g \cdot \vec{r})} \quad \text{mit } \vec{k}_g = k_{gx} \hat{e}_x + k_{gy} \hat{e}_y.$$

Aus **Abb. A.2** kann man wiederum folgende Relationen entnehmen:

$$k_{gx} = k_g \cdot \sin\theta_g \quad \text{und} \quad k_{gy} = k_g \cdot \cos\theta_g.$$

Wird nun das Snelliussches Brechungsgesetz (**Gl. A.20**) angewendet, ergibt sich:

$$k_g \cdot \cos\theta_g = \pm k_g \left[1 - \frac{\sin^2\theta_e}{\frac{n_2}{n_1}} \right]^{\frac{1}{2}}, \quad (\text{A.21})$$

bzw. man erhält für den Fall $\sin\theta_e > \sin\theta_c$ folgende Relationen:

$$k_{gy} = \pm j k_g \left[\frac{\sin^2\theta_e}{\frac{n_2}{n_1}} - 1 \right]^{\frac{1}{2}} \equiv \pm j k_g \alpha \quad \text{und} \quad k_{gx} = \frac{k_g}{\frac{n_2}{n_1}} \sin\theta_e. \quad (\text{A.22})$$

Setzt man diese Relationen in **Gl. A.12b** ein, resultiert daraus:

$$\vec{E}_g(\vec{r}, t) = A_g e^{\pm k_g \alpha y} e^{j(\omega_g t - k_g x \sin\theta_e \frac{n_1}{n_2})} \quad (\text{A.23})$$

Wenn der erste exponentielle Term positiv ist, würde die Wellenamplitude exponentiell in y -Richtung wachsen. Das ist physikalisch aber unsinnig. Deshalb sinkt die Amplitude exponentiell in y -Richtung für den Fall eines negativen Exponenten. Sie breitet sich damit als **abklingende Welle** bzw. **evaneszentes Feld** aus. Des Weiteren gilt, dass das Reziproke des Ausdrucks $k_g \alpha$ der *Eindringtiefe* d_p entspricht [224]:

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi \sqrt{[n_1^2 \sin^2 \theta_e - n_2^2]}}. \quad (\text{A.24})$$

A.3 Lichtführung in optischen Fasern

Ein elektromagnetisches Feld wird durch zwei verwandte Vektorfelder beschrieben, die elektrische $\vec{E}(\vec{r}, t)$ und die magnetische Feldstärke $\vec{H}(\vec{r}, t)$. Beide Felder sind Vektoren der Position und der Zeit. Im Allgemeinen sind sechs skalare Funktionen der Position und der Zeit notwendig, um Licht im freien Raum zu beschreiben. diese Vektoren stehen in Beziehung zueinander, denn sie müssen die Maxwell-Gleichungen erfüllen. Die Maxwell-Gleichungen im freien Raum beinhalten die Gauß-Gesetze für das elektrische und für das magnetische Feld, sowie das Gesetz von Ampere und Faraday. Die Gauß-Gesetze besagen, dass elektrische Ladungen Quellen des elektrischen Feldes sind (**Gl. A.25a**) und dass es keine „magnetischen Ladungen“ (**Gl. A.25b**) gibt. **Gl. A.25c** besagt, dass elektrische Strömungen Magnetfelder erzeugen, während **Gl. A.25d** wiedergibt, dass zeitliche Änderungen des Magnetfeldes elektrische Felder erzeugen:

$$\nabla \cdot \vec{D}(\vec{r}, t) = p_{\text{el}}, \quad (\text{A.25a})$$

$$\nabla \cdot \vec{B}(\vec{r}, t) = 0, \quad (\text{A.25b})$$

$$\nabla \times \vec{H}(\vec{r}, t) = \vec{J}(\vec{r}, t) + \frac{\partial \vec{D}(\vec{r}, t)}{\partial t}, \quad (\text{A.25c})$$

$$\nabla \times \vec{E}(\vec{r}, t) = -\frac{\partial \vec{B}(\vec{r}, t)}{\partial t}. \quad (\text{A.25d})$$

Aufgrund von elektrischen Eigenschaften des Mediums hängen die dielektrische Verschiebung $\vec{D}(\vec{r}, t)$ und die elektrische Feldstärke $\vec{E}(\vec{r}, t)$ voneinander ab. Analog hängt die magnetische Feldstärke $\vec{H}(\vec{r}, t)$ von der magnetischen Flussdichte $\vec{B}(\vec{r}, t)$ ab. Daraus lassen

sich folgende Bedingungen aufgrund der Materialeigenschaften ableiten:

$$\vec{D}(\vec{r}, t) = \varepsilon_0 \vec{E}(\vec{r}, t) + \vec{P}(\vec{r}, t), \quad (\text{A.26a})$$

$$\vec{B}(\vec{r}, t) = \mu_0 \vec{H}(\vec{r}, t) + \vec{M}(\vec{r}, t), \quad (\text{A.26b})$$

$$\vec{J}(\vec{r}, t) = \sigma \vec{E}(\vec{r}, t). \quad (\text{A.26c})$$

Glas ist ein lineares, disperses, homogenes und isotropes Medium. Ein dielektrisches Medium ist linear, wenn es einen linearen Zusammenhang zwischen der elektrischen Feldstärke $\vec{E}(\vec{r}, t)$ und der induzierten Polarisation $\vec{P}(\vec{r}, t)$ gibt, sodass das Überlagerungsprinzip Anwendung findet. Man spricht von einem dispersen Medium, wenn eine dynamische Beziehung zwischen den Vektoren \vec{P} und \vec{E} vorliegt. Das dielektrische Medium antwortet auf ein elektrisches Feld mit der Erzeugung von induzierter Polarisation:

$$\vec{P}(\vec{r}, t) = \varepsilon_0 \chi^{(\text{el})}(\nu) \vec{E}(\vec{r}, t). \quad (\text{A.27})$$

$\chi^{(\text{el})}$ ist die Suszeptibilität mit der linearen Anfälligkeit auf die Polarisation und steht in Beziehung zur Dielektrizitätskonstante mit:

$$\frac{\varepsilon(\nu)}{\varepsilon_0} = 1 + \chi^{(\text{el})}(\nu). \quad (\text{A.28})$$

Das bedeutet, dass in dispersen Medien die Suszeptibilität $\chi^{(\text{el})}$ und die Permittivität ε frequenzabhängig und im Allgemeinen komplex sind. So brechen disperse Medien Wellen mit unterschiedlichen Wellenlängen in unterschiedlichen Winkeln. Des Weiteren führt es dazu, dass sich ein Lichtpuls in einem dispersen Medium verbreitert, da sich einzelnen Komponenten mit verschiedenen Geschwindigkeiten ausbreiten. Wenn die Polarisation und die Feldstärke unabhängig von der Position r sind, handelt es sich um ein homogenes Medium. Bei einem isotropen Medium ist Beziehung zwischen der Polarisation und der elektrischen Feldstärke unabhängig von der Vektorrichtung der elektrischen Feldstärke, d.h. die Polarisation ist parallel zur Feldstärke. Der Einfluss der Magnetizität und der induzierten Polarisation basieren auf Verzerrungen von Atomorbitalen, die durch das elektromagnetische Feld beeinflusst wurden. Im Glas lassen sich bei der Lichtführung weitere Annahmen treffen:

- keine freien Ladungen ($p_{\text{el}} = 0$)
- kein Ladungstransport ($\vec{J}(\vec{r}, t) = 0$)

- keine Magnetizität ($\vec{M}(\vec{r}, t) = 0$)

Daraus resultieren dann die Maxwell-Gleichungen im Medium:

$$\nabla \cdot \vec{D}(\vec{r}, t) = 0, \quad (\text{A.29a})$$

$$\nabla \cdot \vec{B}(\vec{r}, t) = 0, \quad (\text{A.29b})$$

$$\nabla \times \vec{B}(\vec{r}, t) = \mu_0 \frac{\partial \vec{D}(\vec{r}, t)}{\partial t}, \quad (\text{A.29c})$$

$$\nabla \times \vec{E}(\vec{r}, t) = -\frac{\partial \vec{B}(\vec{r}, t)}{\partial t}, \quad (\text{A.29d})$$

und die Bedingung aus **Gl. A.26b** vereinfacht sich zu:

$$\vec{B}(\vec{r}, t) = \mu_0 \vec{H}(\vec{r}, t). \quad (\text{A.30})$$

In den Fasern ist die Homogenität lediglich durch das n -Profil leicht gestört. Die Wellenleitung erfolgt parallel zur Achse bzw. mit kleinen von der Achse abweichenden Winkeln. Der anfängliche n -Unterschied ist klein aber belanglos, da $\vec{E}(\vec{r}, t)$ und $\vec{H}(\vec{r}, t)$ senkrecht zur Grenzfläche zwischen Kern und Mantel sind. Des Weiteren sind beide noch parallel zu einander (Z_0), mit $\frac{\vec{E}(\vec{r}, t)}{\vec{H}(\vec{r}, t)} = Z_0$ bzw. $\frac{\mu_0}{\epsilon_0} = Z_0^2$. Die Anwendung des Nabla-Operators auf **Gl. A.29d** mit

$$\nabla \times \nabla \times \vec{E}(\vec{r}, t) = \nabla \left(\nabla \cdot \vec{E}(\vec{r}, t) \right) - \nabla^2 \vec{E}(\vec{r}, t)$$

resultiert in

$$\nabla \times \nabla \times \vec{E}(\vec{r}, t) = \nabla \times \left(-\frac{\partial \vec{B}(\vec{r}, t)}{\partial t} \right), \quad (\text{A.31})$$

$$\nabla \left(\nabla \cdot \vec{E}(\vec{r}, t) \right) - \nabla^2 \vec{E}(\vec{r}, t) = -\frac{\partial}{\partial t} \left(\nabla \times \vec{B}(\vec{r}, t) \right). \quad (\text{A.32})$$

Durch das Anwenden von RHS auf **Gl. A.32** mit dem Ersetzen durch **Gl. A.29c** und **Gl. A.26a**:

$$\nabla \left(\nabla \cdot \vec{E}(\vec{r}, t) \right) - \nabla^2 \vec{E}(\vec{r}, t) = -\frac{\partial}{\partial t} \left(\mu_0 \frac{\partial \vec{D}(\vec{r}, t)}{\partial t} \right) \quad (\text{A.33})$$

$$\begin{aligned} &= -\mu_0 \frac{\partial^2 \vec{D}(\vec{r}, t)}{\partial t^2} \\ &= -\mu_0 \varepsilon_0 \frac{\partial^2 \vec{E}(\vec{r}, t)}{\partial t^2} - \mu_0 \frac{\partial^2 \vec{P}(\vec{r}, t)}{\partial t^2}, \end{aligned} \quad (\text{A.34})$$

woraus sich die Wellengleichung für das elektrische Feld ergibt:

$$\nabla \left(\nabla \cdot \vec{E}(\vec{r}, t) \right) - \nabla^2 \vec{E}(\vec{r}, t) = -\frac{1}{c_0^2} \frac{\partial^2 \vec{E}(\vec{r}, t)}{\partial t^2} - \mu_0 \frac{\partial^2 \vec{P}(\vec{r}, t)}{\partial t^2} \quad (\text{A.35})$$

analog lässt sich die Wellengleichung für das magnetische Feld herleiten. Die Wellengleichung lässt sich durch die Bedingungen $\vec{E}(\vec{r}, t) \parallel \vec{P}(\vec{r}, t)$ und $\vec{D}(\vec{r}, t) \parallel \vec{E}(\vec{r}, t)$ vereinfachen, woraus folgt, dass $\nabla \cdot \vec{D}(\vec{r}, t) = \nabla \cdot \vec{E}(\vec{r}, t) = 0$ ist. Diese Vereinfachung hat zur Folge, dass die LHS der Wellengleichung mit dem $\nabla \cdot \vec{E}(\vec{r}, t)$ verschwindet und es resultiert mit $\vec{U}(\vec{r}, t) = \vec{E}(\vec{r}, t)$ oder $\vec{U}(\vec{r}, t) = \vec{H}(\vec{r}, t)$ die *allgemeine Wellengleichung*:

$$\boxed{\nabla^2 \vec{U}(\vec{r}, t) - \frac{1}{c_0^2} \frac{\partial^2 \vec{U}(\vec{r}, t)}{\partial t^2} = 0}. \quad (\text{A.36})$$

Die Maxwell-Gleichungen und die Wellengleichung sind linear, so dass das Überlagerungsprinzip greift. Das heißt, sobald mindestens zwei der elektrischen und magnetischen Felder Lösungen dieser Gleichungen sind, ist deren Summe ebenfalls eine Lösung. Die Helmholtz-Gleichung ist ein Spezialfall der Wellengleichung. Bei monochromatischem Licht sind alle elektrischen und magnetischen Feldstärken dieser elektromagnetischen Welle harmonische Funktionen der Zeit bei derselben Frequenz. Diese Komponenten können dann als Terme ihrer komplexen Amplituden ausgedrückt werden:

$$\begin{aligned} \vec{E}(\vec{r}, t) &= \text{Re}\{E(\vec{r})e^{j\omega t}\} \\ \vec{H}(\vec{r}, t) &= \text{Re}\{H(\vec{r})e^{j\omega t}\}. \end{aligned} \quad (\text{A.37})$$

wobei $E(\vec{r})$ und $H(\vec{r})$ die komplexen Amplituden der elektrischen bzw. magnetischen Feldstärke sind und $\omega = 2\pi f$ ist die Winkelfrequenz mit f als Frequenz. Die komplexen Amplituden P , D und B für die realen Funktionen \vec{P} , \vec{D} und \vec{B} sind analog definiert. Um die Helmholtz-Gleichung für monochromatisches Licht herzuleiten, müssen die Maxwell-

Gleichungen (Gl. A.29) nun in den Fourierraum mit $\frac{\partial}{\partial t} \rightarrow j\omega$ transformiert werden:

$$\nabla \cdot D = 0, \quad (\text{A.38a})$$

$$\nabla \cdot B = 0, \quad (\text{A.38b})$$

$$\nabla \times H = j\omega D, \quad (\text{A.38c})$$

$$\nabla \times E = -j\omega B. \quad (\text{A.38d})$$

Eine Anwendung auf Gl. A.26a und Gl. A.30 bietet sich ebenfalls an:

$$D = \varepsilon_0 E + P, \quad (\text{A.39})$$

$$B = \mu_0 H \quad (\text{A.40})$$

$\vec{E}(\vec{r}, t)$ und $\vec{E}(\vec{r}, t)$ erfüllen mit der Lichtgeschwindigkeit und n die Wellengleichung:

$$c = \frac{c_0}{n(\nu)}, \quad n^2(\nu) = \varepsilon_r \implies n(\nu) = \sqrt{\left(\frac{\varepsilon(\nu)}{\varepsilon_0}\right)} = \sqrt{(1 + \chi^{(\text{el})}(\nu))}, \quad (\text{A.41})$$

wobei ε_r reell ist, da man nur geringe Verluste bei der Verwendung optischer Wellenlängen zwischen 0,5-2 μm [20] annehmen kann. Daraus resultiert die *Helmholtz-Gleichung*:

$$\boxed{\nabla^2 U + k^2 U = 0 \quad k = \omega \sqrt{\varepsilon(\nu)\mu_0} = nk_0}, \quad (\text{A.42})$$

wobei die Skalarfunktion $U = U(\vec{r})$ jede der sechs Komponenten der Vektoren E und H darstellt und $k_0 = \frac{\omega}{c_0}$. Des Weiteren sind nur zwei von sechs Gleichungen unabhängig voneinander. Üblicherweise werden die Komponenten E_z und H_z als unabhängig gewählt und E_r , E_ϕ , H_r und H_ϕ als Terme von ihnen beobachtet. In Stufenindexfasern gilt im Kern mit dem Radius a ($r < a$) $n = n_K$ und im Mantel ($r > a$) $n = n_M$ mit $k_0 = 2\pi\lambda_0$. Mit der Annahme, dass der Radius b des Mantels wesentlich größer ist, kann dieser als unendlich groß angenommen werden, wenn die Lichtführung im Kern und an der Kern-Mantelgrenze betrachtet wird. In einem kartesischen Koordinatensystem wird die Helmholtz-Gleichung zu:

$$\frac{\partial^2 U}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial U}{\partial r} + \frac{1}{r^2} \frac{\partial^2 U}{\partial \phi^2} + \frac{\partial^2 U}{\partial z^2} + n^2 k_0^2 U = 0, \quad (\text{A.43})$$

mit der komplexen Amplitude $U = U(r, \phi, z)$, die jede kartesische Komponente der elektrischen und magnetischen Feldstärke oder der axialen Komponenten E_z und H_z in zylindrischen Koordinaten wiedergibt. Im Weiteren wird lediglich nach der Lösung gesucht,

die die Welle in z-Richtung führt. Die Abhängigkeit von U in z-Richtung entspricht der Form von $e^{-j\beta z}$, mit der Ausbreitungskonstanten β :

$$\beta = k_0 n_K \sin \theta_e = \frac{2\pi n_K \sin \theta_e}{\lambda} = \frac{2\pi n_{\text{eff}}}{\lambda}, \text{ mit } \theta_e > \theta_c. \quad (\text{A.44})$$

Die Welle nimmt eine harmonisch periodische Funktion des Winkels ϕ mit der Periode 2π ($e^{-jl\phi}$) mit $l \in \mathbf{Z}$ ein. Es ergibt sich daraus:

$$U(r, \phi, z) = u(r) e^{-jl\phi} e^{-j\beta z}, \text{ mit } l = 0, \pm 1, \pm 2, \dots, \quad (\text{A.45})$$

Durch die Substitution von **Gl. A.43** mit der ganzzahligen Substitutionsvariablen l und **Gl. A.45** ergibt sich eine Differentialgleichung für das radiale Profil $u(r)$:

$$\frac{d^2 u}{dr^2} + \frac{1}{r} \frac{du}{dr} + \left(n^2 k_0^2 - \beta^2 - \frac{l^2}{r^2} \right) u = 0. \quad (\text{A.46})$$

Eine Wellenführung findet statt, wenn die Ausbreitungsgeschwindigkeit im Kern kleiner als die Wellenzahl ($\beta < n_K k_0$) und im Mantel größer ist ($\beta > n_M k_0$). Für die weitere Betrachtung ist es wichtig die reelle transversale Wellenzahl k_T und den Abfallparameter γ_T zu definieren, sodass

$$k_T^2 = n_K^2 k_0^2 - \beta^2 \quad (\text{A.47a})$$

und

$$\gamma_T^2 = \beta^2 - n_M^2 k_0^2 \quad (\text{A.47b})$$

gilt. Für geführte Wellen sind k_T^2 und γ_T^2 positiv und k_T bzw. γ_T sind reell. Diese Definition hat zur Folge, dass **Gl. A.46** separat für den Kern und für den Mantel geschrieben werden kann:

$$\frac{d^2 u}{dr^2} + \frac{1}{r} \frac{du}{dr} + \left(k_T^2 - \frac{l^2}{r^2} \right) u = 0, \quad r < a \text{ (Kern)}, \quad (\text{A.48a})$$

$$\frac{d^2 u}{dr^2} + \frac{1}{r} \frac{du}{dr} + \left(\gamma_T^2 + \frac{l^2}{r^2} \right) u = 0, \quad r > a \text{ (Mantel)}. \quad (\text{A.48b})$$

Die Gleichungen **A.48** sind bekannte Differentialgleichungen. Unter den Bedingungen, dass die Funktionen begrenzt sind ($r = 0$, für den Kern) bzw. im Mantel gegen 0 abfallen

($r \rightarrow \infty$) gehören die Lösung zu den Bessel-Funktionen. So ergeben sich die Lösungen

$$u(r) \propto \begin{cases} J_l(k_T, r), & r < a \text{ (Kern)} \\ K_l(\gamma_T, r), & r > a \text{ (Mantel)} \end{cases} \quad (\text{A.49})$$

für die Wellenführung, wobei $J_l(x)$ eine Bessel-Funktion erster Art mit der l -ten Ordnung ist und $K_l(x)$ ist eine modifizierte Funktion zweiter Art mit l -ter Ordnung. Die Funktion $J_l(x)$ oszilliert sinus- oder kosinusförmig mit abnehmender Amplitude mit der Bedingung $x \gg 1$:

$$J_l(x) \approx \sqrt{\left(\frac{2}{\pi x}\right)} \cos \left[x - \left(l + \frac{1}{2}\right) \frac{\pi}{2} \right], \quad (\text{A.50a})$$

im selben Bereich fällt $K_l(x)$ mit steigenden x exponentiell ab:

$$K_l(x) \approx \sqrt{\left(\frac{\pi}{2x}\right)} \left(1 + \frac{4l^2 - 1}{8x}\right) e^{(-x)}. \quad (\text{A.50b})$$

Die Parameter k_T und γ_T bestimmen den Verlauf von $u(r)$ im Kern bzw. im Mantel. Mit steigenden k_T oszilliert die Radialfunktion im Kern stärker und mit steigenden γ_T nimmt der exponentielle Abfall zu und d_p in den Mantel wird kleiner. Anhand von **Gl. A.47** ist zu erkennen, dass die Summe der Quadrate von k_T und γ_T konstant ist:

$$k_T^2 + \gamma_T^2 = (n_1^2 - n_2^2)k_0^2 = NA^2 \cdot k_0^2, \quad (\text{A.51})$$

daraus folgt, dass k_T steigt, wenn γ_T sinkt und damit das elektromagnetische Feld tiefer in den Mantel eindringt. Wenn nun $k_T > NA^2 \cdot k_0^2$ wird, wird γ_T imaginär und die Welle wird nicht mehr im Kern geführt.

A.4 Physikalische Betrachtung der Bragg-Gleichung

A.4.1 Theorie der gekoppelten Moden

Ausgehend von der allgemeinen Wellengleichung (**Gl. A.36**) soll die Betrachtung mit der Wellengleichung für das elektrische Feld (**Gl. A.35**) begonnen werden:

$$\nabla^2 \vec{E}(\vec{r}, t) = \mu_0 \varepsilon_0 \frac{\partial^2 \vec{E}(\vec{r}, t)}{\partial t^2} + \mu_0 \frac{\partial^2 \vec{P}(\vec{r}, t)}{\partial t^2}. \quad (\text{A.52})$$

Da die Wellenleitung in einem System stattfindet, das von einem dielektrischen Gitter gestört wird, kann der Polarisationsvektor in zwei Terme getrennt werden. Bei den Termen handelt es sich zum einen um die ungestörte $\vec{P}_{\text{ungestört}}(\vec{r}, t)$ und zum anderen um die gestörte Polarisation $\vec{P}_{\text{Gitter}}(\vec{r}, t)$ mit:

$$\vec{P}(\vec{r}, t) = \vec{P}_{\text{ungestört}}(\vec{r}, t) + \vec{P}_{\text{Gitter}}(\vec{r}, t). \quad (\text{A.53})$$

Die ungestörte Polarisation ist analog definiert zu **Gl. A.27** mit:

$$\vec{P}_{\text{ungestört}}(\vec{r}, t) = \varepsilon_0 \chi^{(\text{el})}(\nu) \vec{E}_\mu(\vec{r}, t). \quad (\text{A.54})$$

So wird **Gl. A.52** bei Verwendung von **Gl. A.27** und **Gl. A.41** zu:

$$\nabla^2 E_{\mu t} = \mu_0 \varepsilon_0 \varepsilon_r \frac{\partial^2}{\partial t^2} E_{\mu t} + \mu_0 \frac{\partial^2}{\partial t^2} P_{\text{Gitter}, \mu}. \quad (\text{A.55})$$

Die Moden einer optischen Faser E_t können als Summe von l transversal geleiteten Amplitudenmoden $A_z(z)$ samt Strahlungsmoden $A_p(z)$ angesehen werden, mit den dazugehörigen Ausbreitungskonstanten β_μ und β_p ,

$$\vec{E}_t(\vec{r}, t) = \frac{1}{2} \sum_{\mu=1}^{\mu=1} [A_\mu(z) \xi_{\mu t} e^{j(\omega t - \beta_\mu z)} + cc] + \sum_{p=0}^{p=\infty} \int A_p(z) \xi_{p t} e^{j(\omega t - \beta_p z)} dp, \quad (\text{A.56})$$

mit $\xi_{\mu t}$ und $\xi_{p t}$ als die radial transversale Feldverteilungen der geführten μ -ten und der strahlenden p -ten Mode. Die transversale Polarisation ist mit dem Index t signalisiert.

Das Kombinieren von **Gl. A.55** und **Gl. A.56** ergibt folgenden Zusammenhang:

$$\begin{aligned} & \nabla^2 \left[\frac{1}{2} \sum_{\mu=1}^{\mu=1} [A_{\mu}(z) \xi_{\mu t} e^{j(\omega t - \beta_{\mu} z)} + cc] + \sum \int_{p=0}^{p=\infty} A_p(z) \xi_{pt} e^{j(\omega t - \beta_p z)} dp \right] \\ & - \mu_0 \varepsilon_0 \varepsilon_r \frac{\partial^2}{\partial t^2} \left[\frac{1}{2} \sum_{\mu=1}^{\mu=1} [A_{\mu}(z) \xi_{\mu t} e^{j(\omega t - \beta_{\mu} z)} + cc] + \sum \int_{p=0}^{p=\infty} A_p(z) \xi_{pt} e^{j(\omega t - \beta_p z)} dp \right] \\ & = \mu_0 \frac{\partial^2}{\partial t^2} P_{\text{Gitter}, \mu}. \end{aligned} \quad (\text{A.57})$$

Die Kopplung zu den strahlenden Moden wird erstmal nicht weiter betrachtet. Bei schwachen Kopplungen ist es möglich die sogenannte Näherung der langsam variierenden Einhüllenden (SVE) anzuwenden. Die SVE Näherung besagt, dass sich die Amplitude $A_{\mu}(z)$ nur geringfügig in Zeit und Raum in Bezug auf die Wellenlänge des Lichtes verändert. Das bedeutet, dass die Änderung ΔA_{μ} innerhalb eines Intervalls $\Delta t = \lambda$ viel kleiner ist als A selbst, darum gilt $\Delta A_{\mu} < A_{\mu}$. Diese komplexe Ungleichung gilt sowohl für den Real- als auch für den Imaginärterm. Des Weiteren muss auch die erste Ableitung selbst in dem Intervall λ sich nur langsam verändern, so dass gilt [221]:

$$\frac{\partial^2 A_{\mu}}{\partial z^2} \ll \beta_{\mu} \frac{\partial A_{\mu}}{\partial z}, \quad (\text{A.58})$$

Als Folge ergibt sich daraus, dass:

$$\nabla^2 E_t = \frac{1}{2} \sum_{\mu=1}^{\mu=1} \left[-2j\beta_{\mu} \frac{\partial A_{\mu}}{\partial z} \xi_{\mu t} e^{j(\omega t - \beta_{\mu} z)} - \beta_{\mu}^2 A_{\mu} \xi_{\mu t} e^{j(\omega t - \beta_{\mu} z)} + cc \right]. \quad (\text{A.59})$$

Erweitert man den zweiten Term in **Gl. A.57** und kombiniert diese dann mit **Gl. A.59**, vereinfacht sich die Wellengleichung mit der Bedingung $\omega^2 \mu_0 \varepsilon_0 \varepsilon(\nu) = \beta_{\mu}^2$ zu:

$$\sum_{\mu=1}^{\mu=1} \left[-j\beta_{\mu} \frac{\partial A_{\mu}}{\partial z} \xi_{\mu t} e^{j(\omega t - \beta_{\mu} z)} + cc \right] = \mu_0 \frac{\partial^2}{\partial t^2} P_{\text{Gitter}, t}. \quad (\text{A.60})$$

Zu diesen Zeitpunkt ist es wichtig anzumerken, dass die durch das Gitter verursachte Störung $P_{\text{Gitter}, t}$ ebenfalls ein transversales Profil aufweist. Nach einer Multiplikation auf beiden der Gleichung mit dem komplexen Konjugat der transversalen Feldverteilung $\xi_{\mu t}^*$

und einer folgenden Integration über den gesamten Querschnitt wird **Gl. A.60** zu:

$$\sum_{\mu=1}^{\mu=1+\infty} \iint_{-\infty}^{+\infty} \left[-j\beta_{\mu} \frac{\partial A_{\mu}}{\partial z} \xi_{\mu t} \xi_{\mu t}^* e^{j(\omega t - \beta_{\mu} z)} + cc \right] dx dy = \iint_{-\infty}^{+\infty} \mu_0 \frac{\partial^2}{\partial t^2} P_{\text{Gitter},t} \xi_{\mu t}^* dx dy. \quad (\text{A.61})$$

Dieses transversale Profil der Störung hängt vom Schreibprozess ab und muss in der Berechnung des Querschnittintegrals berücksichtigt werden. Mit der Feststellung, dass die Stärke der μ -ten Mode $|A_{\mu}|^2 = 1$ ist und durch das Anwenden der Orthogonalitätsbeziehung:

$$\frac{1}{2} \left[\frac{\beta_{\mu}}{\omega \mu_0} \right] \iint_{-\infty}^{+\infty} \xi_{\mu t} \xi_{\mu t}^* dx dy = \delta_{\mu\nu}, \quad (\text{A.62})$$

wird **Gl. A.61** zu:

$$\boxed{\sum_{\mu=1}^{\mu=1} \left[-2j\omega \mu_0 \frac{\partial A_{\mu}}{\partial t} e^{j(\omega t - \beta_{\mu} z)} + cc \right] = \iint_{-\infty}^{+\infty} \mu_0 \frac{\partial^2}{\partial t^2} P_{\text{Gitter},t} \xi_{\mu t}^* dx dy.} \quad (\text{A.63})$$

Gl. A.63 ist eine *fundamentale Gleichung der Wellenleitung*, die benutzt werden kann, um eine Vielzahl von Phänomenen bei der Kopplung von Moden zu beschreiben. Wird **Gl. A.63** auf vorwärts und rückwärts geleitete Moden angewendet, ist erkennbar, wie die Modenkopplungen auftreten. Das komplette transversale Feld, hier nur am Beispiel des elektrischen Feldes gezeigt, ist beschreibbar als eine Summe von beiden Feldern, den vorwärts und den rückwärts führenden:

$$E_t = \frac{1}{2} \left[A_{\nu} \xi_{\nu t} e^{j(\omega t - \beta_{\nu} z)} + cc + B_{\mu} \xi_{\mu t} e^{j(\omega t + \beta_{\mu} z)} + cc \right]. \quad (\text{A.64})$$

Die Differenz im Exponenten verdeutlicht die vorwärts leitende Mode mit der Amplitude A_{ν} und die Summe im Exponenten zeigt die rückwärts leitende Mode mit der Amplitude B_{μ} . Die Moden sind orthogonal zueinander, sodass sie in einer Faser nicht miteinander koppeln bis zum Auftauchen einer Störung. Das ganze transversale Feld kann man beschreiben als Summe von beiden Feldern, dem elektrischen und den magnetischen, wobei die Modenordnung nicht unbedingt derselben Modenordnung entsprechen muss. Das Ein-

setzen von Gl. A.64 in Gl. A.63 führt zu

$$\begin{aligned} & \left[\frac{\partial A_\nu}{\partial z} e^{j(\omega t - \beta_\nu z)} + cc \right] - \left[\frac{\partial B_\mu}{\partial z} e^{j(\omega t + \beta_\mu z)} + cc \right] \\ & = + \frac{j}{2\omega} \iint_{-\infty}^{+\infty} \frac{\partial^2}{\partial t^2} P_{\text{Gitter},t} \xi_{\mu,\nu t}^* dx dy. \end{aligned} \quad (\text{A.65})$$

A.4.2 Räumlich periodische Brechungsindexänderung

In einem Medium, in der die Dielektrizitätskonstante periodisch entlang der Wellenausbreitung variiert, kann die komplette induzierte Polarisation mit der gestörten Permittivität ($\Delta\varepsilon(z)$) definiert werden und wirkt sich dann auf das Feld aus mit

$$P = \varepsilon_0[\varepsilon_r - 1 + \Delta\varepsilon(z)]E_\mu. \quad (\text{A.66})$$

Der Ausdruck innerhalb der Klammer entspricht der Suszeptibilität ($\chi^{(\text{el})}$) und ε_r ist die relative Permittivität bzw. die Dielektrizitätskonstante des ungestörten Kerns. Die Beziehung zwischen der Materialpermittivität und n resultiert in den Index der Störungsänderung, abgeleitet von $n^2 = \varepsilon_r$, mit:

$$[n + \delta n(z)]^2 = \varepsilon_r + \Delta\varepsilon(z). \quad (\text{A.67})$$

Mit der Annahme, dass die n -Störung nur sehr klein ist:

$$\Delta\varepsilon(z) \approx 2n\delta n(z), \quad (\text{A.68})$$

kann man die n -Änderung durch das Gitter definieren als:

$$\delta n(z) = \overline{\Delta n} \left\{ 1 + \frac{\nu}{2} \left(e^{j[(2\pi m/\Lambda)z + \varphi(z)]} + cc \right) \right\}, \quad (\text{A.69})$$

mit der mittleren n -Änderung ($\overline{\Delta n}$) über die Periode eines Gitters, ν als Verhältnis zwischen der Amplitude der Brechzahländerung zur mittleren Brechzahländerung, auch Brechzahlkontrast genannt, und den exponentiellen Term mit dem komplexen konjugierten Wert cc , der die reale periodische Änderung in komplexer Schreibweise beschreibt. $\varphi(z)$ ist eine willkürliche räumliche Phasenänderung und Λ ist die Störungsperiode, während m ($-\infty < m < +\infty$) die harmonische Beugungsordnung darstellt. Die mittlere Periodenänderung muss berücksichtigt werden, da sich n_{eff} der Mode ändert. Durch die Kombination

der **Gl. A.66** bis **Gl. A.69** kann man die komplette Materialpolarisation ausdrücken mit:

$$P = \varepsilon_0 \left\{ n^2 - 1 + 2n\overline{\Delta n} \left[1 + \frac{\nu}{2} \left(e^{j[(2\pi m/\Lambda)z + \varphi(z)]} + cc \right) \right] \right\} E_\mu, \quad (\text{A.70})$$

Die drei Terme auf der RHS kann man definieren als die Permittivität, den DC Term der n -Änderung (Δn_{DC}) und den AC Term der Brechungsmodulation (Δn_{AC}). Der DC-Term beschreibt die räumliche und zeitliche n -Änderung und der AC-Term beschreibt das Abklingen der Amplitude in Abhängigkeit des Weges z [221]. Integriert man **Gl. A.70** nach ν erhält man einen neuen Ausdruck der Amplitudenänderung:

$$\delta n(z) = 2n \left[\overline{\Delta n} + \frac{\Delta n}{2} \left(e^{j[(2\pi m/\Lambda)z + \varphi(z)]} + cc \right) \right], \quad (\text{A.71})$$

mit $\Delta n = \nu\overline{\Delta n}$ als die Amplitude des AC Terms. Die **Gl. A.71** beschreibt die n -Änderung, der durch UV-Bestrahlung hervorgerufen worden ist. Die Gleichung besagt, dass die Änderung vom n_0 im Kern unabhängig von der Dimension des Brechzahlkontrastes konstant ist, bleibt aber eine Funktion von δn . Trotzdem steigen sowohl die mittlere Änderung als auch die n -Amplitude mit steigender UV-Bestrahlung an. Stellt man nun die Amplitudenänderung (**Gl. A.71**) in Beziehung zur gestörten Polarisation (**Gl. A.70**) ergibt sich:

$$P_{\text{gestört}} = 2n\varepsilon_0 \left[\overline{\Delta n} + \frac{\Delta n}{2} \left(e^{j[(2\pi m/\Lambda)z + \varphi(z)]} + cc \right) \right] E_\mu. \quad (\text{A.72})$$

Wird anschließend **Gl. A.72** in **Gl. A.65** mit der Anwendung der Orthogonalitätsbeziehung (**Gl. A.62**) eingesetzt ergibt sich folgende Beziehung:

$$\begin{aligned} & \frac{\partial A_\nu}{\partial z} e^{j(\omega t - \beta_\nu z)} \delta_{k\nu} - \frac{\partial B_\mu}{\partial z} e^{j(\omega t + \beta_\mu z)} \delta_{k\mu} \\ &= + \frac{j\varepsilon_0}{2\omega} \iint_{-\infty}^{+\infty} \frac{\partial^2}{\partial t^2} \delta n(z) \left[A_\nu e^{j(\omega t - \beta_\nu z)} \xi_{\nu t} + B_\mu e^{j(\omega t + \beta_\mu z)} \xi_{\mu t} \right] \xi_{\mu, \nu t}^* dx dy + cc \\ &= -jn\omega\varepsilon_0 A_\nu \iint_{-\infty}^{+\infty} \left[\overline{\Delta n} + \frac{\Delta n}{2} \left(e^{j[(2\pi m/\Lambda)z + \varphi(z)]} + cc \right) \right] \xi_{\nu t} e^{j(\omega t - \beta_\nu z)} \xi_{\mu, \nu t}^* dx dy \\ & \quad -jn\omega\varepsilon_0 B_\mu \iint_{-\infty}^{+\infty} \left[\overline{\Delta n} + \frac{\Delta n}{2} \left(e^{j[(2\pi m/\Lambda)z + \varphi(z)]} + cc \right) \right] \xi_{\mu t} e^{j(\omega t + \beta_\mu z)} \xi_{\mu, \nu t}^* dx dy + cc \end{aligned} \quad (\text{A.73})$$

Auf der LHS ist die Änderungsrate entweder von A_ν oder von B_μ durch die Modenordnung μ oder ν des elektrischen Feldes bestimmt. $\xi_{\mu, \nu t}^*$ dient dabei als Vervielfacher in Bezug auf die Orthogonalitätsbeziehung (**Gl. A.62**) und wird auch generierte Welle genannt.

Ist $k = \nu$ entfällt die zu μ gehörigen Mode auf der linken Seite. Die RHS der **Gl. A.73** hat für beide A und B Moden zwei allgemeine Komponenten mit:

$$\begin{aligned} \text{RHS} = & -jn\omega\varepsilon_0 B_\mu e^{j(\omega t + \beta_\mu z)} \times \iint_{-\infty}^{+\infty} \overline{\Delta n} \xi_{\mu t} \xi_{\mu t}^* dx dy \\ & -jn\omega\varepsilon_0 A_\nu e^{j(\omega t - \beta_p z + \varphi(z))} \times \iint_{-\infty}^{+\infty} \frac{\Delta n}{2} \xi_{\nu t} \xi_{\mu t}^* dx dy + cc, \end{aligned} \quad (\text{A.74})$$

Der erste Exponent muss mit dem Exponenten des generierten Feldes von LHS **Gl. A.73** übereinstimmen und hat eine Abhängigkeit des DC Terms ($\overline{\Delta n}$). Der Grund ist das jede andere Abhängigkeit der Phasengeschwindigkeit wie beispielsweise $e^{j(\omega t + \beta_\mu z)}$ nicht mit der generierten Welle in Phase gebracht werden kann. Der zweite Term der RHS lässt sich wiederum in zwei Abschnitte trennen. Der erste Abschnitt ist abhängig vom Phasensynchronisationsfaktor:

$$\beta_p = \frac{2\pi m}{\Lambda} \pm \beta_\nu. \quad (\text{A.75})$$

Wechselwirkungen die zwischen Moden auftreten können, werden bestimmt durch die RHS von **Gl. A.73** und **Gl. A.74**. Zwei Aspekte muss man dabei beachten. Erstens, die Impulserhaltung erfordert, dass die Ausbreitungsgeschwindigkeiten der LHS und RHS von **Gl. A.74** identisch sind (**Gl. A.75**) und so Einfluss auf das Koppeln zwischen vorwärts und rückwärts geführten Moden nehmen. Die Impulserhaltung wird auch Phasenanpassung genannt. Zweitens, Die Integrale der RHS von **Gl. A.73**, die das Überlappprofil der n -Änderung und Feldverteilung der Mode bilden, bestimmen die Stärke der Modenwechselwirkungen.

A.4.3 Phasenanpassung

Gl. A.75 besagt, dass die resultierende Ausbreitungskonstante der induzierten Polarisationswelle (β_p) die Summe oder die Differenz der Ausbreitungskonstante der geführten Mode (β_ν) und dem Phasenfaktor der Störung ist. Gleichzeitig ist es eine Ausbreitungskonstante einer „gekoppelten“ Welle als Antwort des Materials auf eine Energiezufuhr. Für einen signifikanten Energietransfer von der geführten Feldamplitude (A_ν) zum generierten Feld der LHS von **Gl. A.74** bedarf es ein in Phase sein der generierten und der Polarisationswelle über eine große Distanz ($\Delta z \gg 0$). Deshalb gilt für einen kontinuierli-

chen Energietransfer die Bedingung für die Phasen Anpassung:

$$\beta_\mu = \beta_p. \quad (\text{A.76})$$

$\Delta\beta$ ist die Verstimmung zwischen den Ausbreitungskonstanten der induzierten Polarisationswelle und der rückwärts gerichteten Welle:

$$\Delta\beta = \beta_\mu - \beta_p. \quad (\text{A.77})$$

Setzt man nun **Gl. A.75** in **Gl. A.77** ein erhält man:

$$\Delta\beta = \beta_\mu \pm \beta_\nu - \frac{2\pi m}{\Lambda} \quad (\text{A.78})$$

Sollten sowohl β_ν als auch β_μ identische positive Werte besitzen, dann liegt eine gesättigte Phasen Anpassung für gegenläufige Moden vor ($\Delta\beta = 0$). Sollten sie dagegen Werte mit unterschiedlichen Vorzeichen besitzen, gibt es Wechselwirkungen zwischen gleichlaufende Moden. Letztendlich bedarf es noch der Energieerhaltung, indem die Frequenz ω der generierten Welle gleich bleibt. Für die Phasen Anpassung von gegenläufigen Moden (reflektierenden Moden) ist es notwendig verschiedene Moden zu betrachten. So wird aus **Gl. A.73**:

$$\begin{aligned} \frac{\partial B_\mu}{\partial z} e^{j(\omega t + \beta_\mu z)} + cc &= jn\omega\varepsilon_0 B_\mu \iint_{-\infty}^{+\infty} \overline{\Delta n} \xi_{\mu t} \xi_{\mu, t}^* e^{j(\omega t + \beta_\mu z)} dx dy \\ &+ jn\omega\varepsilon_0 A_\nu \iint_{-\infty}^{+\infty} \frac{\Delta n}{2} e^{j[(2\pi m/\Lambda)z + \varphi(z)]} \xi_{\nu t} \xi_{\mu t}^* e^{j(\omega t - \beta_\nu z)} dx dy + cc \end{aligned} \quad (\text{A.79})$$

Wählt man geeignete β Werte für identische Moden ($\mu = \nu$) mit gegenläufigen Ausbreitungsrichtungen in **Gl. A.79** und dividiert beide Seiten mit $e^{j(\omega t + \beta_\nu z)}$, erhält man:

$$\begin{aligned} \frac{\partial B_\mu}{\partial z} &= jn\omega\varepsilon_0 B_\mu \iint_{-\infty}^{+\infty} \overline{\Delta n} \xi_{\mu t} \xi_{\mu, t}^* dx dy \\ &+ jn\omega\varepsilon_0 A_\nu \iint_{-\infty}^{+\infty} \frac{\Delta n}{2} e^{j[(2\pi m/\Lambda) - \beta_\nu - \beta_\mu]z + \varphi(z)} \xi_{\nu t} \xi_{\mu t}^* dx dy + cc. \end{aligned} \quad (\text{A.80})$$

Ein vereinfachter Ausdruck der **Gl. A.80** ist:

$$\boxed{\frac{\partial B_\mu}{\partial z} = jk_{\text{DC}}B_\mu + jk_{\text{AC}}A_\nu e^{-j(\Delta\beta z - \varphi(z))}} \quad (\text{A.81})$$

mit:

$$\Delta\beta = \beta_\mu + \beta_\nu - \frac{2\pi m}{\Lambda}, \quad (\text{A.82})$$

dem DC-Kopplungsterm:

$$k_{\text{DC}} = n\omega\varepsilon_0 \iint_{-\infty}^{+\infty} \overline{\Delta n} \xi_{\mu t} \xi_{\mu, t}^* dx dy, \quad (\text{A.83})$$

und der AC-Kopplungskonstante, die das Überlappintegral beinhaltet:

$$\begin{aligned} k_{\text{AC}} &= n\omega\varepsilon_0 \iint_{-\infty}^{+\infty} \frac{\Delta n}{2} \xi_{\mu t} \xi_{\mu, t}^* dx dy \\ &= \frac{\nu}{2} k_{\text{DC}}, \end{aligned} \quad (\text{A.84})$$

unter der Bedingung, dass $\mu = \nu$ ist. Der Wechsel in der Amplitude der geführten Mode kann auch von **Gl. A.73** zu

$$\boxed{\frac{\partial A_\nu}{\partial z} = -jk_{\text{DC}}A_\nu - jk_{\text{AC}}^* B_\mu e^{j(\Delta\beta z - \varphi(z))}} \quad (\text{A.85})$$

abgeleitet werden. Die **Gl. A.81** und **Gl. A.85** sind die Kopplungsmoden-Gleichungen, von denen man den Transfercharakter von Bragg Gittern berechnen kann. Um eine Lösung zu finden, werden folgende Substitutionen für die vorwärts und die rückwärts führende Mode gemacht:

$$\begin{aligned} R &= A_\nu e^{-(j/2)[\Delta\beta z - \varphi(z)]} \\ S &= B_\mu e^{(j/2)[\Delta\beta z - \varphi(z)]}. \end{aligned} \quad (\text{A.86})$$

Leitet man die **Gl. A.86** ab und setzt sie in den **Gl. A.81** und **Gl. A.85** ein, resultiert das in folgende Kopplungs-Gleichungen:

$$\frac{dR}{dz} + j \left[k_{\text{DC}} + \frac{1}{2} \left(\Delta\beta - \frac{d\varphi(z)}{dz} \right) \right] R = -jk_{\text{AC}}^* S \quad (\text{A.87})$$

$$\frac{dS}{dz} - j \left[k_{\text{DC}} + \frac{1}{2} \left(\Delta\beta - \frac{d\varphi(z)}{dz} \right) \right] S = -jk_{\text{AC}} R. \quad (\text{A.88})$$

k_{DC} beeinflusst die Ausbreitung der Mode durch die verursachte n -Änderung. Der Verstimmungsparameter $\Delta\beta$ induziert wie schnell der Energie zwischen dem generierten Feld und dem polarisierten Feld ausgetauscht wird und ist am größten, wenn $\Delta\beta = 0$. Unter Berücksichtigung der **Gl. A.82** mit der Definition der Ausbreitungskonstante β (**Gl. A.44**) mit $\mu = \nu$ ergibt sich die *allgemeine Bragg-Gleichung*:

$$\begin{aligned} \Delta\beta &= \beta_\mu + \beta_\nu - \frac{2\pi m}{\Lambda} = 0 \\ 0 &= \frac{2\pi n_{\text{eff},\mu}}{\lambda} + \frac{2\pi n_{\text{eff},\nu}}{\lambda} - \frac{2\pi m}{\Lambda} \end{aligned}$$

$m\lambda_{\text{B}} = 2n_{\text{eff}}\Lambda_{\text{FBG}}$

(A.89)

Der Term $\frac{d\varphi(z)}{dz}$ zeigt die Phasenänderung der Störung bzw. des Gitters im Verhältnis zur z -Richtung (Faserachse) an. Bei uniformen Gittern ist $\frac{d\varphi(z)}{dz} = 0$, ansonsten handelt es sich um gechirpte Gitter (tFBG), die wiederum andere Eigenschaften aufweisen.

Anhang B: Endotoxine

Endotoxine sind Lipopolysaccharide (LPS). Sie bestehen aus einer lipophilen, dem Lipid A, und einer hydrophilen Komponente, die von einem Polysaccharid gebildet wird (Abb. B.3a). LPS sind Bestandteile der äußeren Membran von Gram-negativen Bak-

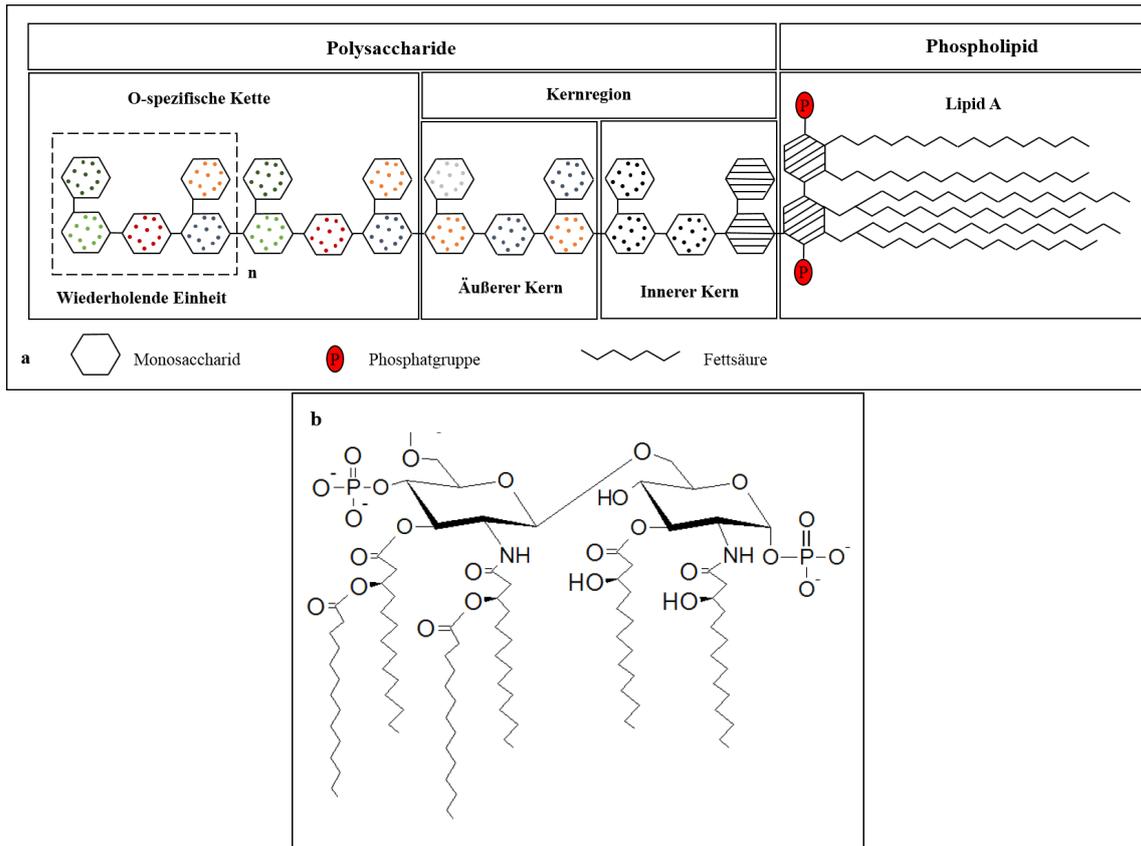


Abbildung B.3: Die Abbildung stellt (a) eine allgemeine chemische Struktur eines Lipopolysaccharides (LPS) in einem Gram-negativen Bakterium dar. Das LPS besteht aus einem hydrophilen Bereich bestehend aus einem Polysaccharid und einem lipophilen Bereich, dem Lipid A, nach [225]. Des Weiteren zeigt die Abbildung in (b) die chemische Struktur des Lipides A in detaillierter Form, verändert nach [225, 226].

terien. Bei Bakterien wird je nach Dicke der Murein-Schicht, die aus Zuckern und Aminosäuren besteht, in der Zellmembran zwischen Gram-positiven (dicke Schicht) und Gram-negativen (dünne Schicht) unterschieden. Zu den Gram-negativen Bakterien zählen u. a. viele Krankheitserreger wie beispielsweise *Escherichia coli*, *Legionella pneumophila*, *Salmonella enterica* und *Haemophilus influenzae*. Das Polysaccharid wird unterteilt in eine terminale O-spezifische Kette und in eine Kernregion. Die O-spezifische Kette besteht

dabei aus $N \leq 50$ wiederkehrenden Gruppen aus 2-8 Monosacchariden. Diese Kette ist artspezifisch und wird auch O-Antigen genannt. Sie bestimmt die Oberflächeneigenschaft und Immunogenizität des Bakteriums. Die Kernregion wird wiederum in einen äußeren und einen inneren Kern unterteilt, wobei diese sich nur gering zwischen den verschiedenen Bakterienarten unterscheiden. Das Lipid A besteht zentral aus zwei verknüpften D-Glucosaminen, die jeweils glycosidisch mit einer Phosphatgruppe verbunden sind. Des Weiteren sind die beiden Amine mit Fettsäuren verestert (**Abb. B.3b**).

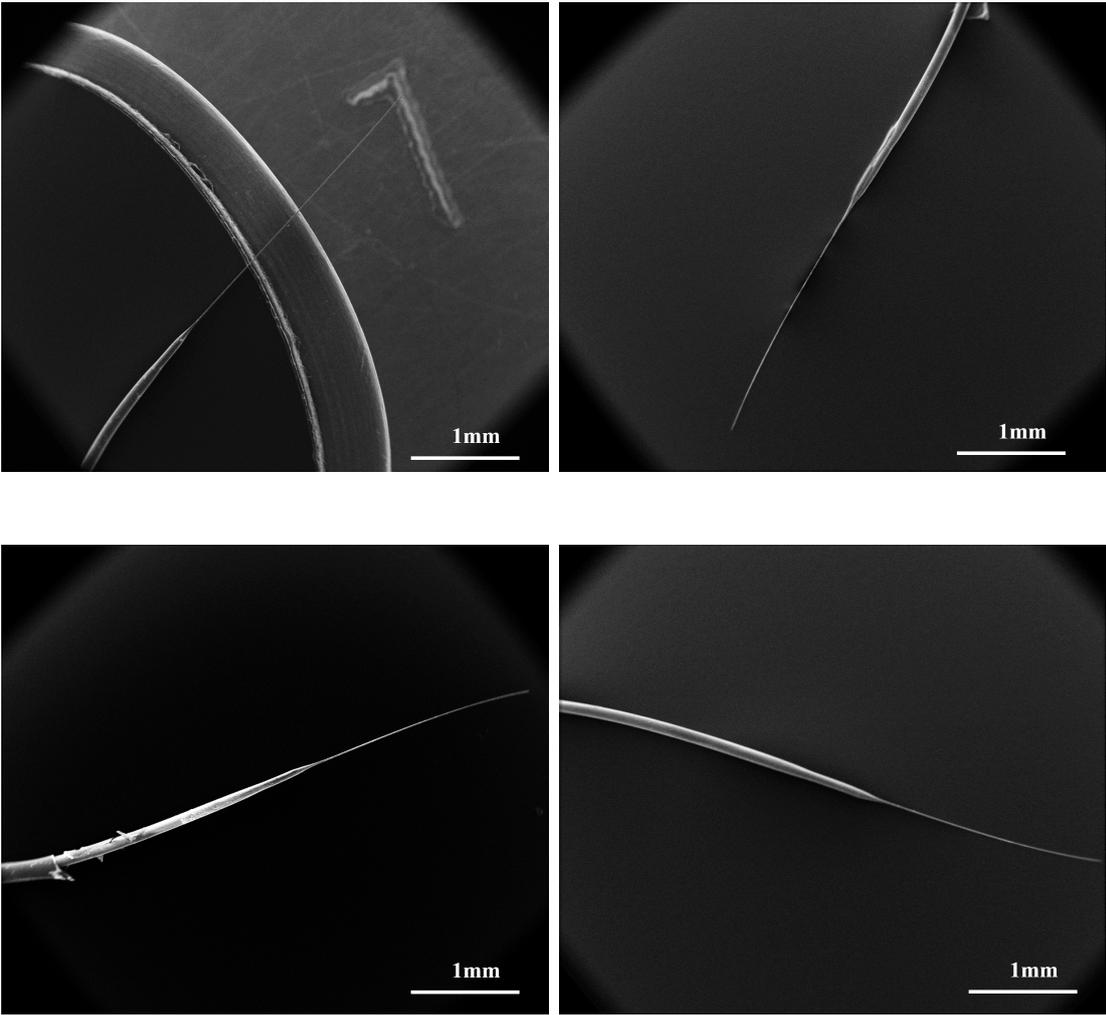
Das Lipid A ist im Normalfall in der Zellmembran verankert. Es bildet den toxischen Anteil des LPS, entfaltet aber erst nach einer Zellyse seine giftige Wirkung (Endotoxizität \equiv innere Toxizität) [225, 226]. Nach der Freisetzung führt der Endotoxinkontakt mit dem Immunsystem zu pyrogenen Reaktionen (Entzündungsreaktionen) [227]. So führt eine Infektion mit dem Bakterium *Neisseria meningitidis*, dem Erreger für die Meningitidis, u. a. zur Freisetzung von Endotoxinen. Dies resultiert u. a. in Fieber und/oder septischen Schock [228]. Des Weiteren kann eine schwere Endotoxininfektion in Kombination mit einem schweren septischen Schock zu einer gesteigerten Sterberate führen, trotz Antibiotika- und Intensivbehandlung [229]. Der Mensch ist im Alltag ständig in Kontakt mit Endotoxinen, vor allem über die Nahrung. Gefährlich wird es aber erst bei einem direkten Kontakt zum Immunsystem, z. B. der Kontakt von Endotoxinen mit dem Blut bei Operationen. Alternativ kann auch ein chronischer Kontakt in der Arbeitsumgebung mittels Hautkontakt bzw. Inhalation gefährlich werden.

Standardmäßig werden Endotoxine über auf Tierversuchen basierende Methoden nachgewiesen, dazu zählen der Kaninchenpyrogentest und der LAL-Test (*Limulus polyphemus* Amöbocyten Lysat). Bisher gibt es noch keine monoklonaren AK mit breiter Spezifität gegen LPS, insbesondere gegen das Lipid A. AK können aufgrund ihrer Struktur LPS *in vitro* nicht erkennen [230]. Aber mit Aptameren als molekulare Erkennungseinheit war es in der Vergangenheit bereits möglich Endotoxine u. a. mit einem elektrochemischen Verfahren nachzuweisen [231].

Anhang C: weitere SEM-Aufnahmen

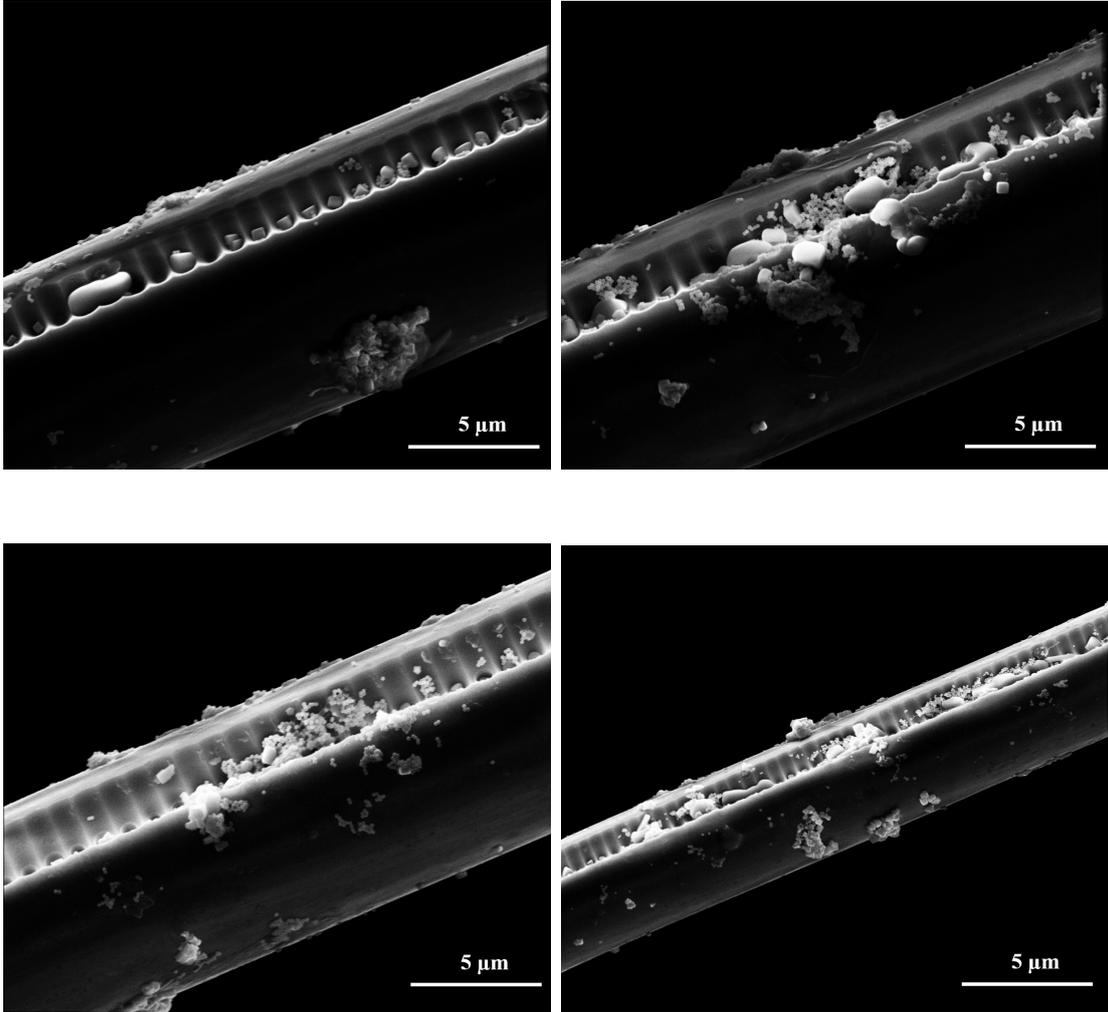
C.1 Übersichtsaufnahmen

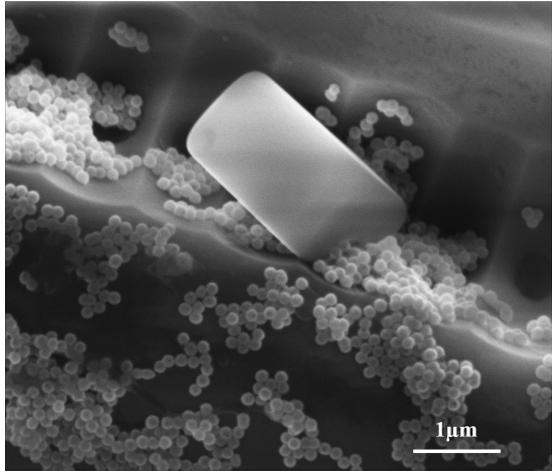
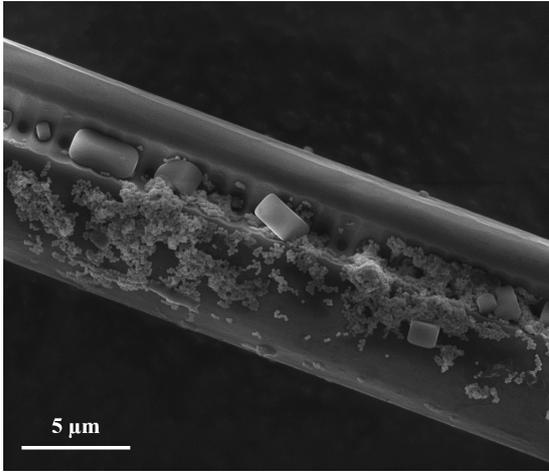
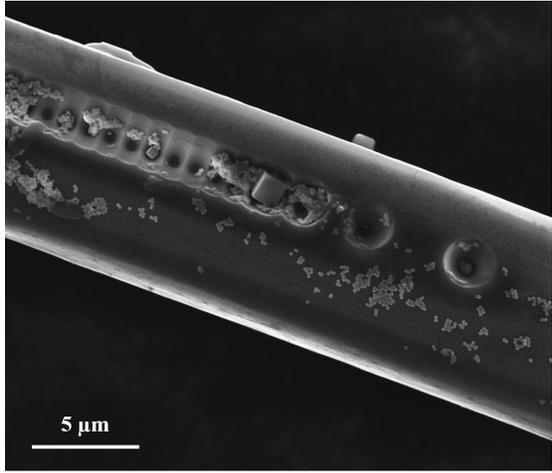
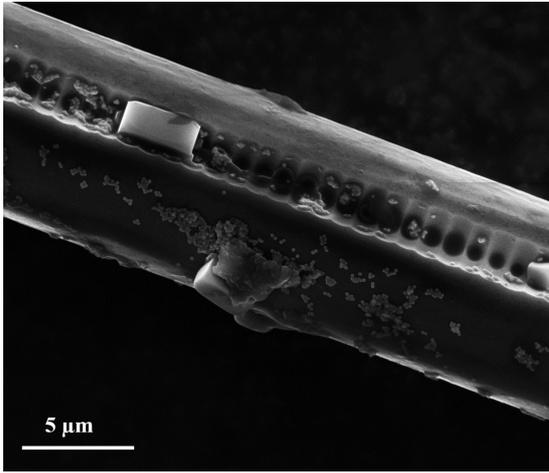
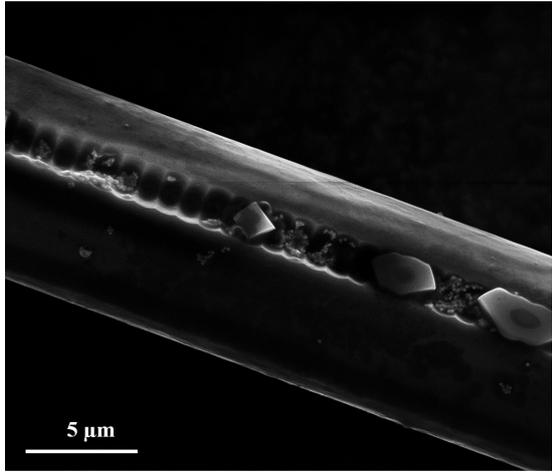
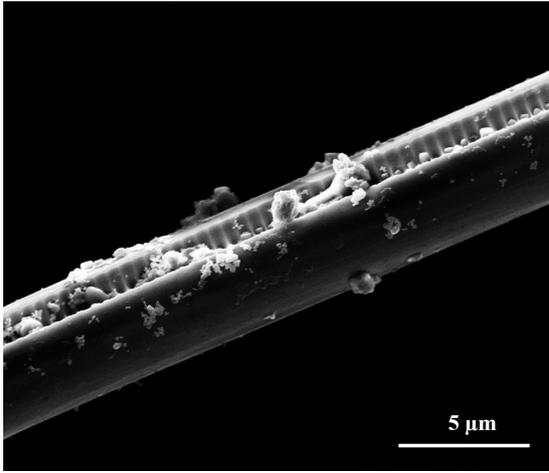
Diese Aufnahmen zeigen Übersichtsaufnahmen der Faserspitzen auf den Probenhaltern. Es ist ein deutlicher Unterschied zwischen den geätzten und ungeätzten Abschnitten erkennbar.



C.2 Fasern mit Gitterstrukturen

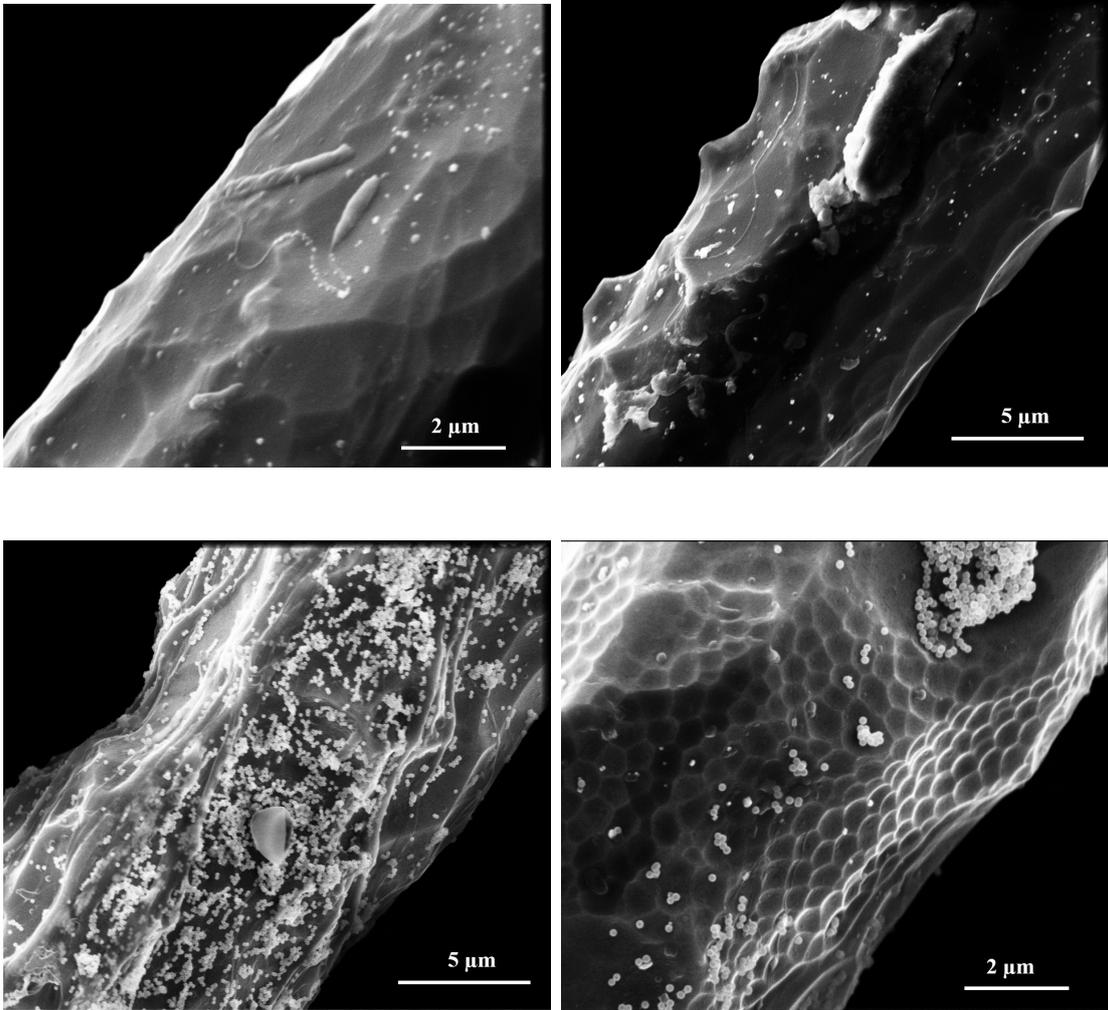
Die in diesem Abschnitt dargestellten SEM-Aufnahmen zeigen kristalline Rückstände und $\text{SiO}_2\text{:Au-NP}$ neben den Gitterstrukturen.

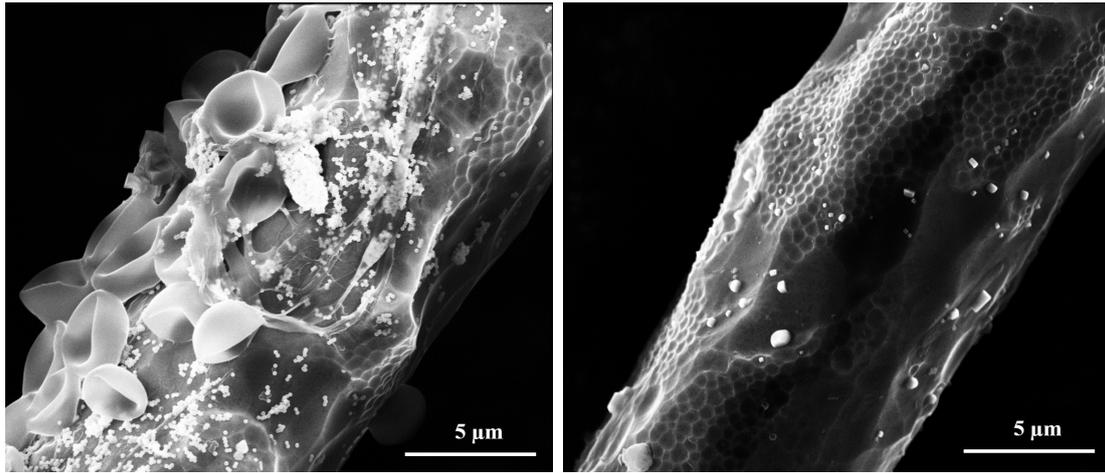




C.3 Fasern mit rauer Oberfläche

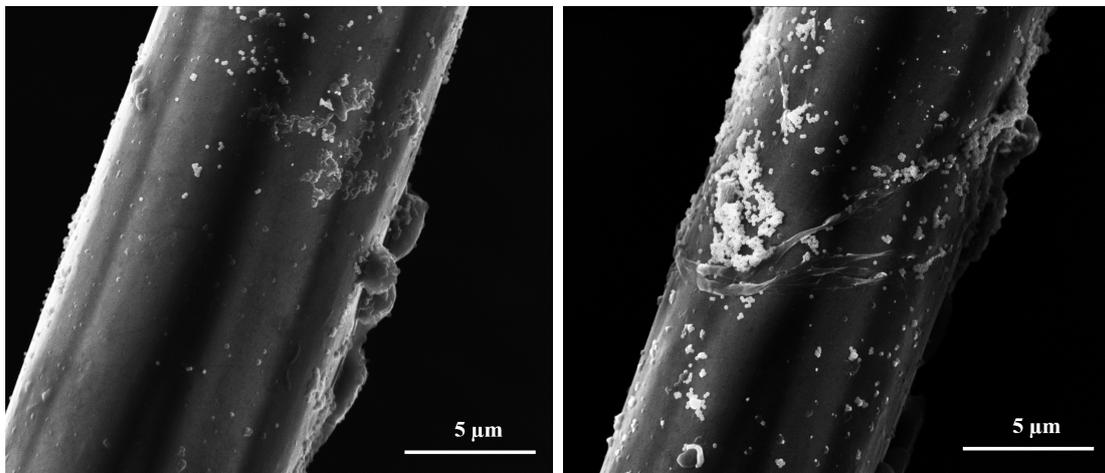
Diese SEM-Aufnahmen zeigen neben den kristallinen Rückständen und SiO₂:Au-NP auch eine raue Oberfläche bei einer Faser nach dem Ätzen

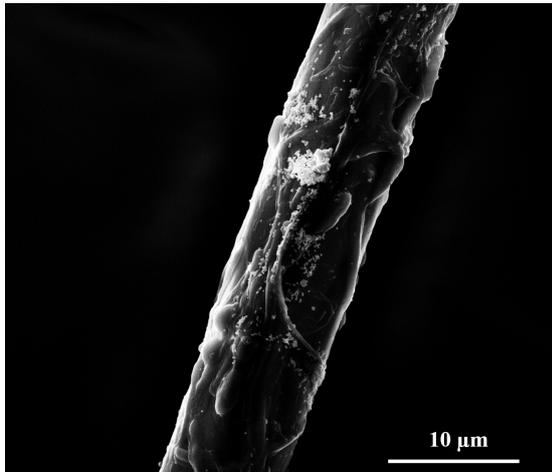
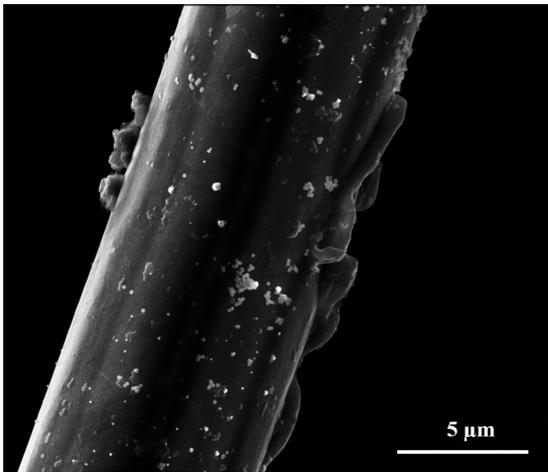
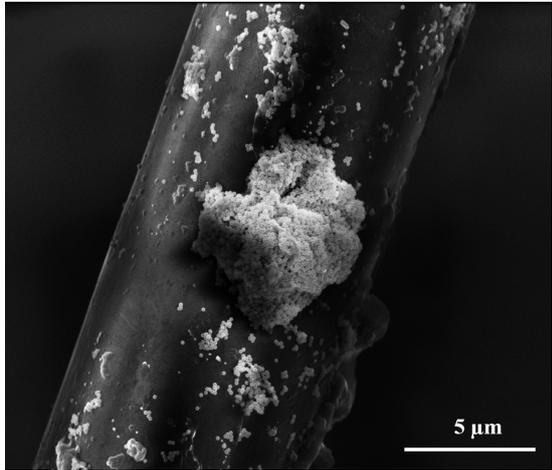
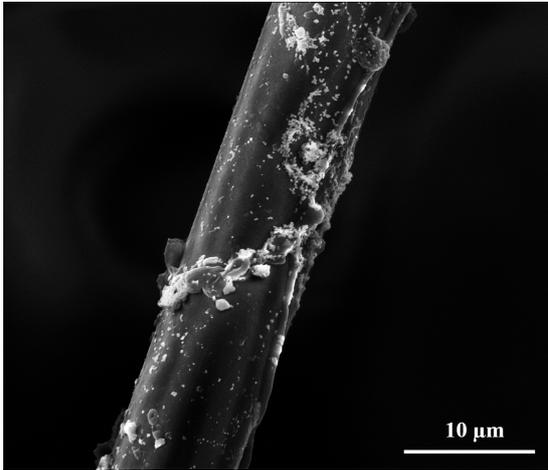
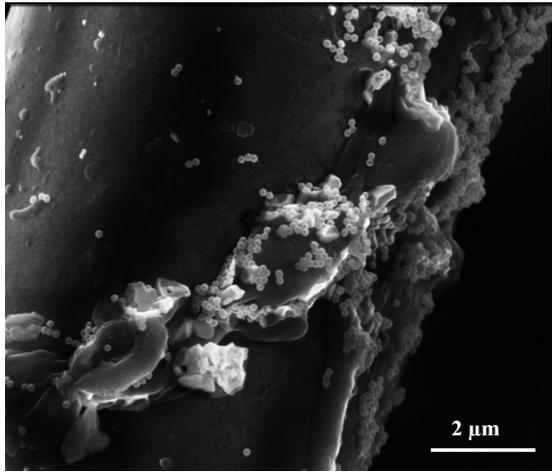
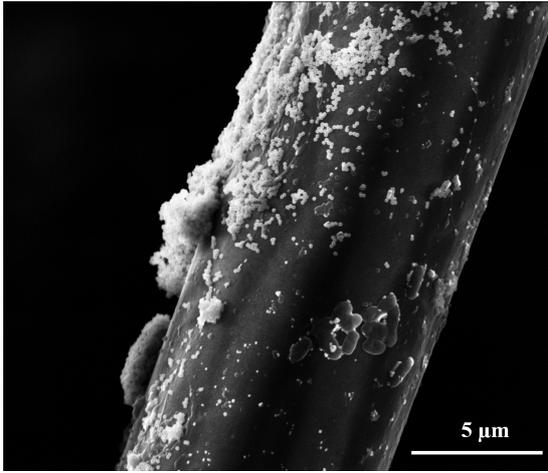


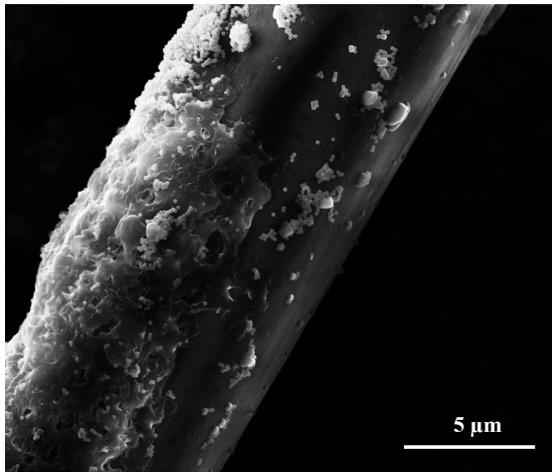
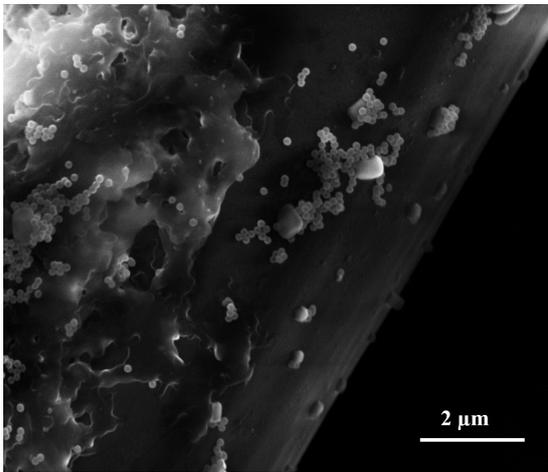
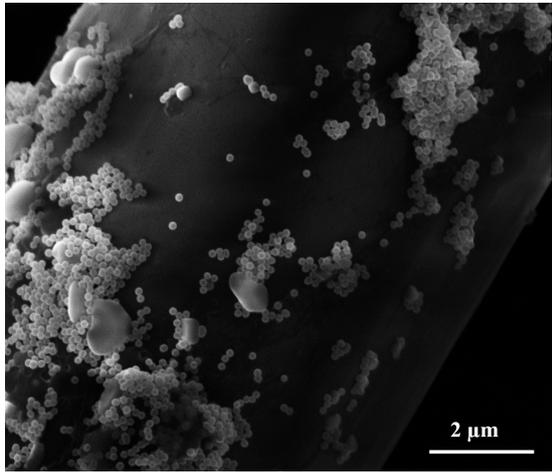
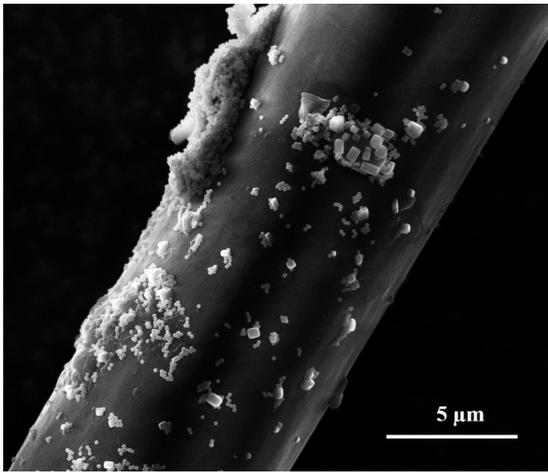
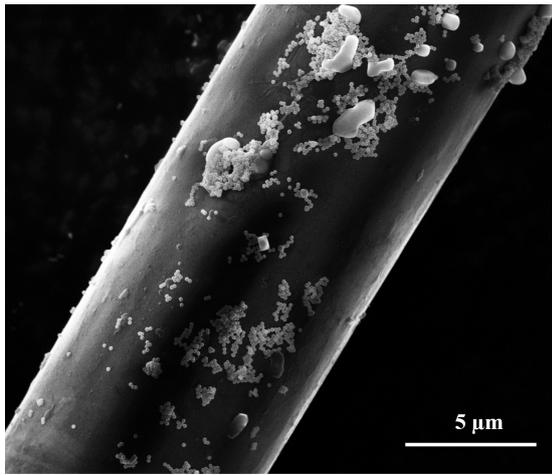
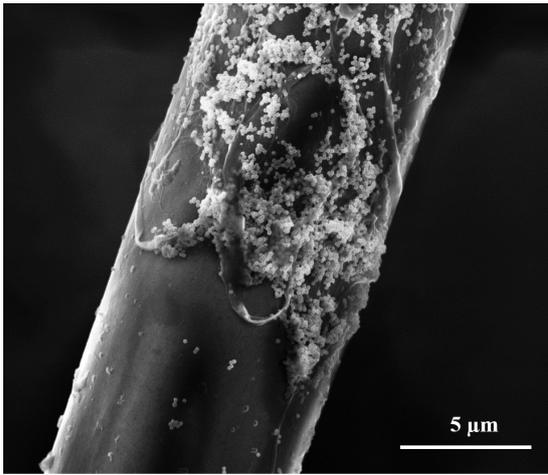


C.4 Unterschiedliche SiO₂:Au-NP-Verteilung auf den Fasern

In diesem Abschnitt werden weitere Aufnahmen gezeigt, in denen man erkennt, dass es keine homogene SiO₂:Au-NP-Verteilung der auf den Fasern gab.







Erklärung

Hiermit versichere ich,
dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Des Weiteren versichere ich, dass alle Stellen der Arbeit, die wörtlich oder sinngemäß aus anderen Quellen übernommen wurden, als solche kenntlich gemacht worden sind.

Potsdam, den 8. Januar 2019

Sven Schulze