

Entwicklung und Charakterisierung eines  
kolloidalen Lithographieverfahrens zur Herstellung  
plasmonischer Biosensoren

Gutachter:

Prof. Dr. Joachim Spatz  
Physikalisch-Chemisches Institut  
Universität Heidelberg

Max-Planck-Institut für  
Intelligente Systeme

PD Dr. Reiner Dahint  
Physikalisch-Chemisches Institut  
Universität Heidelberg



*Meinen Eltern gewidmet*



# Inhaltsverzeichnis

<b>Abstract</b>	<b>9</b>
<b>Kurzzusammenfassung</b>	<b>11</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>13</b>
1.1 Plasmonik . . . . .	13
1.1.1 Oberflächenplasmonen . . . . .	13
1.1.2 Plasmonische Wellenleiter . . . . .	16
1.1.3 Verstärkung von Emissionsprozessen . . . . .	18
1.1.4 Außerordentliche Transmission von Licht . . . . .	19
1.1.5 Oberflächenplasmonen Sensoren . . . . .	21
1.2 Lithographie . . . . .	24
1.2.1 Optische Lithographie . . . . .	24
1.2.2 Nicht-optische Lithographie . . . . .	25
1.2.3 Sequentiell arbeitende Lithographie-Verfahren . . . . .	27
1.3 Mikroskopie . . . . .	29
1.3.1 Phasenkontrastmikroskopie . . . . .	29
1.3.2 Rasterelektronenmikroskopie . . . . .	30
1.3.3 Rasterkraftmikroskopie . . . . .	31
<b>2 Außergewöhnliche Fernordnung in selbstheilenden zweidimensionalen Kristallen</b>	<b>33</b>
2.1 Einleitung . . . . .	33
2.2 Material und Methoden . . . . .	37
2.2.1 Synthese von PolyNIPAM-Kolloiden . . . . .	37
2.2.2 Substratreinigung . . . . .	39

2.2.3	Verdampfen des Dispersionsmediums . . . . .	39
2.2.4	Mechanisches Tempern . . . . .	40
2.3	Ergebnisse und Diskussion . . . . .	40
2.3.1	Kristallisation durch Trocknung an Luft . . . . .	40
2.3.2	Induzierte Oberflächenaktivität von PolyNIPAM-Kolloiden . .	41
2.3.3	Verbesserung der Kristallordnung durch mechanisches Tempern	45
2.3.4	Quantifizierung der Ordnung . . . . .	49
<b>3</b>	<b>Ein chemischer Ansatz zur Herstellung von Lochgittern in Goldfilmen</b>	<b>53</b>
3.1	Einleitung . . . . .	53
3.2	Material und Methoden . . . . .	55
3.2.1	Bestimmung der Goldfilmdicke und Rauheit . . . . .	55
3.2.2	Entfernung der PolyNIPAM-Kolloide . . . . .	55
3.2.3	Stromlose Goldabscheidung . . . . .	56
3.2.4	Substratbindung von Goldnanopartikeln . . . . .	56
3.2.5	Goldnanopartikel-Synthese . . . . .	56
3.2.6	Silanisierung der Glassubstrate . . . . .	57
3.3	Ergebnisse und Diskussion . . . . .	57
3.3.1	Der Lithographie-Ansatz . . . . .	57
3.3.2	Bindung von Goldnanopartikeln an das Glassubstrat . . . . .	57
3.3.3	Ablösen der PolyNIPAM-Kolloide . . . . .	62
3.3.4	Stromlose Goldabscheidung und Filmglättung . . . . .	63
3.3.5	Einstellung der Gitterkonstante . . . . .	66
<b>4</b>	<b>Optische Eigenschaften von Lochgittern in Goldfilmen</b>	<b>71</b>
4.1	Einleitung . . . . .	72
4.2	Material und Methoden . . . . .	76
4.2.1	Messung der Transmission von Lochgittern . . . . .	76
4.2.2	Bestimmung des offenen Flächenanteils und der Ordnung . . .	76
4.2.3	Bestimmung des Brechungsindex . . . . .	77
4.2.4	RSA-Anbindung . . . . .	78
4.3	Ergebnisse und Diskussion . . . . .	79
4.3.1	Kontrolle der Position der Transmissionsmaxima . . . . .	79
4.3.2	Einfluss der Gitterordnung auf die Transmissionspektren . . .	81

4.3.3	Spektrale Reproduzierbarkeit . . . . .	85
4.3.4	Sensitivität von Lochgittern . . . . .	87
4.3.5	Einfluss der Ordnung auf die Sensitivität von Lochgittern . . .	91
4.3.6	Untersuchung molekularer Schichten . . . . .	94
<b>5</b>	<b>Einsatz von Lochgittern zur Detektion des enzymatischen Gelatine- Abbaus</b>	<b>97</b>
5.1	Einleitung . . . . .	97
5.2	Material und Methoden . . . . .	99
5.2.1	Verwendete Materialien . . . . .	99
5.2.2	Weißlichtinterferometrie . . . . .	100
5.2.3	AFM-Messungen . . . . .	100
5.2.4	Rotationsbeschichtung . . . . .	100
5.2.5	Enzymatischer Verdau . . . . .	101
5.3	Ergebnisse und Diskussion . . . . .	101
5.3.1	Herstellung dünner Gelatinefilme . . . . .	101
5.3.2	Untersuchung des Schwellverhaltens von Gelatine . . . . .	103
5.3.3	Enzymatischer Verdau von Gelatinefilmen . . . . .	106
5.3.4	Abschätzung des zu erwartenden $\Delta\lambda_{max}$ . . . . .	109
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>113</b>
	<b>Literatur</b>	<b>117</b>
	<b>Abkürzungen</b>	<b>147</b>
	<b>Veröffentlichungen</b>	<b>149</b>
	<b>Danksagung</b>	<b>151</b>
	<b>Eidesstattliche Erklärung</b>	<b>154</b>

## *Inhaltsverzeichnis*

---

# Abstract

Arrays of subwavelength holes in metal films can show enhanced transmission based on the resonant excitation of surface plasmons (SP). Owing to the unusual physical nature of SPs, sub-wavelength hole arrays have emerged as promising candidates for various applications including surface plasmon resonance sensing and enhanced spectroscopy.

However, the fabrication of sub-wavelength hole arrays is still challenging in terms of cost efficiency, throughput and availability of sophisticated equipment needed within current lithographic approaches.

In this work a solely chemical approach for the preparation of sub-wavelength hole arrays in metal films was developed. The key components of this nanosphere lithographic process are the self-assembly of polyNIPAM<sup>1</sup>-microspheres and the electroless deposition of gold.

Here, polyNIPAM microspheres are used to prepare two-dimensional colloidal crystals as they have several useful physical properties. Most importantly they undergo a reversible phase transition from a swollen to a shrunken state upon drying. In contrast to approaches using hard spheres this enables us to prepare non-close packed colloidal crystals without any further treatment. Moreover the microspheres show a solvent inducible surface activity that can be exploited to mechanically anneal the crystal. By this means, crystals were obtained that possess outstanding long range order with single crystalline domains in the range of square millimeters.

The as-prepared colloidal crystals were subsequently used as lithographic masks for the fabrication of hole arrays. The fabrication procedure involves the selective growth of gold colloids bound to the substrate surface. It was investigated in detail how structural features such as lattice spacing and film thickness can be controlled precisely within the fabrication process and how the structure can be refined by post treat-

---

<sup>1</sup>Poly-(N-isopropylacrylamid)

ments. Most importantly the lattice constant, which is the key feature in defining the position of peak resonances, was easily varied between  $\sim 300 - 1200$  nm by employing microspheres of different diameters.

To compare the optical properties of the fabricated structures with hole arrays prepared by standard lithographic approaches, transmission spectra were measured at normal incidence. It was found that the arrays show a transmission enhancement of 1.5 - 2 with well resolved resonant features. The impact of structural features on the optical properties such as lattice order was investigated as well as the sensing capability.

In this regard transmission spectra were recorded in solvents of different index of refraction. By examining the obtained peak shifts the sensitivity was found to be 300 - 800 nm/RIU depending on the lattice constant and the spectral feature under consideration and lies well within the range of published values. Thus, the sensing performance of the prepared structures is compatible with hole arrays obtained by more sophisticated lithographic approaches.

As an example of use, a model system was developed that can be applied to detect the enzymatic degradation of extracellular matrix proteins such as gelatin. Here the hole arrays were spin coated with a thin film of gelatin. The degradation of the film by bacterial and human collagenase led to a peak shift that could be recorded in real time by UV-VIS spectroscopy. These results prove the viability of the developed system that is thought to be used as a tool for the investigation of invasive cancer cells in future experiments.

# Kurzzusammenfassung

Periodische Lochgitter in Metallfilmen zeigen überraschende optische Eigenschaften, welche auf die resonante Anregung von Oberflächenplasmonen (OP) zurückzuführen sind. So kann eine verstärkte Transmission bei Resonanzwellenlängen der OP beobachtet werden, welche unter anderem vom Brechungsindex der Umgebung des Metallfilms abhängt. In einer Reihe von Anwendungsfeldern wird der Einsatz von Lochgittern gegenwärtig untersucht, darunter die Verwendung in chemischen oder biologischen Sensoren.

Trotz des Anwendungspotentials dieser Strukturen erfordert die Herstellung mit gegenwärtigen Methoden den Einsatz kostspieliger Verfahren oder ist nur mit geringem Durchsatz möglich. In dieser Arbeit wurde daher ein neuartiges, lithographisches Verfahren entwickelt, mit dem sich Lochgitter in Metallfilmen mit rein chemischen Methoden herstellen lassen.

Hierzu wurde zunächst ein simples Verfahren entwickelt, um zweidimensionale Kolloidkristalle herzustellen. Dabei wurden Hydrogel-Mikrosphären aus Poly-(N-isopropylacrylamid) (PolyNIPAM) eingesetzt, da diese eine Reihe bemerkenswerter Eigenschaften aufweisen. Insbesondere führt der reversible Volumenphasenübergang der Mikrosphären zur Bildung nicht-dichtest-gepackter Kristalle, welche direkt als lithographische Maske in den nachfolgenden Prozessschritten eingesetzt werden können. Daneben kann die induzierte Oberflächenaktivität ausgenutzt werden, um durch mechanisches Tempern die Anzahl der Kristallgrenzen drastisch zu reduzieren. Dabei konnten Einkristalle erhalten werden, dessen Ausdehnung in der Größenordnung von  $\text{mm}^2$  liegt.

Der kolloidale Kristall fungiert im folgenden Prozessschritt als lithographische Maske bei der Erzeugung eines Lochgitters in einem Goldfilm. Dieser Schritt basiert auf der gerichteten Bindung von Goldnanopartikeln an das Glassubstrat und deren Vergrößerung durch chemische Goldabscheidung.

Hierbei wurde unter anderem untersucht, wie sich die strukturellen Eigenschaften, wie Gitterkonstante, Oberflächenrauheit und Filmdicke, präzise einstellen lassen. So kann etwa durch den Einsatz von Mikrosphären variablen Durchmessers die Gitterkonstanten zwischen  $\sim 300 - 1200$  nm eingestellt werden. Dies ermöglicht die präzise Kontrolle der Position der Transmissions-Maxima im Spektrum.

Die Transmission der erzeugten Lochgitter wurde im dritten Teil der Arbeit eingehend untersucht und wird erwartungsgemäß vor allem durch die Gitterkonstante bestimmt. Insbesondere wurde der Einfluss der Struktur, wie etwa die Ordnung des Lochgitters, auf die optischen Eigenschaften untersucht. Daneben wurde die Sensitivität der Resonanzen auf Änderungen des Brechungsindex bestimmt. Je nach betrachteter spektraler Signatur und Gitterkonstante ergab sich dabei die Sensitivität zu  $300 - 800$  nm/RIU. Sie ist damit vergleichbar mit Lochgittern, welche mit aufwendigeren Verfahren hergestellt wurden.

Das letzte Kapitel beschäftigt sich mit der Entwicklung eines Modellsystems, das künftig bei der Untersuchung des invasiven Potentials von Tumorzellen eingesetzt werden könnte. Das System basiert auf einem Lochgitter, welches mit einem Gelatinefilm definierter Dicke beschichtet wird. Durch die Aktivität von Kollagenasen, welche typischerweise von invasiven Tumorzellen sezerniert werden, kann die Gelatine abgebaut werden. In ersten Experimenten konnte gezeigt werden, dass der enzymatische Abbau im Transmissionsspektrum der Lochgitter verfolgt werden kann. Dies belegt die praktische Relevanz der untersuchten Lochgitter.

# 1 Einleitung

## 1.1 Plasmonik

Die Plasmonik ist ein noch junges Teilgebiet der Optik und beschäftigt sich mit den Eigenschaften elektromagnetischer Wellen an metallischen Grenzflächen. Diese als Oberflächenplasmonen (OP) bezeichneten Wellen haben ungewöhnliche physikalische Eigenschaften, welche in verschiedenen Forschungszweigen untersucht werden. Hierzu zählen beispielsweise die Verstärkung von Emissionsprozessen, Materialien mit negativem Brechungsindex (Metamaterialien), außerordentliche Transmission von Licht durch Lochgitter in metallischen Filmen und die Steuerung der Ausbreitung von OP in plasmonischen Wellenleitern.

Im Folgenden Text sollen grundlegende physikalische Begriffe der Plasmonik beschrieben und die wichtigsten Anwendungsgebiete dargestellt werden.

### 1.1.1 Oberflächenplasmonen

Bei einem OP handelt sich um eine Schwingung des Elektronenplasmas an der Oberfläche eines Metalls. Im Allgemeinen unterscheidet man dabei zwischen lokalisierten Oberflächenplasmonen (LOP), wie sie beispielsweise bei metallischen Partikeln auftreten und propagierenden Oberflächenplasmonen, welche sich an der Oberfläche einer ausgedehnten metallischen Struktur ausbreiten. Letztere werden auch als Oberflächenplasmonen Polaritonen (OPP) bezeichnet.

Das OPP ist eine transversal magnetisch (TM) polarisierte und senkrecht zur Ausbreitungsrichtung evaneszente Welle (vgl. Abb. 1.1 a und b). Durch Lösung der Maxwell-Gleichungen an der Grenzfläche und unter Berücksichtigung der Stetigkeitsbedingun-

gen kann die Dispersionsrelation des OPP abgeleitet werden. Für diese gilt[1]:

$$k_{OPP} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d}} \quad (1.1)$$

Dabei ist  $\omega$  die Kreisfrequenz der Welle,  $c$  die Lichtgeschwindigkeit und  $\epsilon_m$  und  $\epsilon_d$  ist die Permittivität des Metalls bzw. des Dielektrikums. Abb. 1.1 c zeigt die Dispersionsrelation des OPP für einen unendlich ausgedehnten Metallfilm mit vernachlässigbarer Dämpfung schematisch. Ebenfalls zu sehen ist Dispersionsrelation einer frei propa-

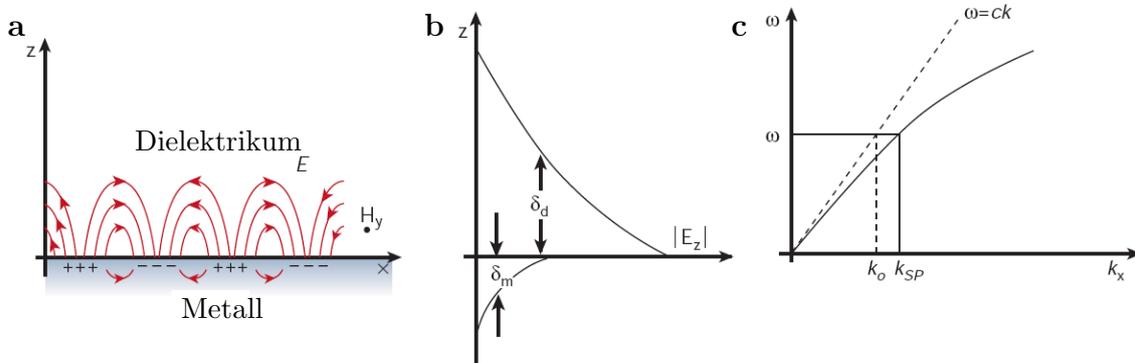


Abbildung 1.1: Eigenschaften des Oberflächenplasmonen-Polaritons. (a) Die Ladungsdichteschwingung des Plasmas ist mit einem TM polarisierten elektromagnetischen Feld assoziiert (b) Die Felder senkrecht zur Ausbreitungsrichtung fallen exponentiell in den beiden Grenzmedien ab. Für ein OPP mit einer Wellenlänge von 630 nm an einer Gold/Wasser Grenzfläche ist die Eindringtiefe im Metall  $\delta_m = 29 \text{ nm}$  und im Dielektrikum  $\delta_d = 162 \text{ nm}$ . Die Dämpfung bewirkt damit eine starke Lokalisierung der Felder an der Grenzfläche. (c) Zu sehen ist die Lichtgerade und die Dispersionsrelation des OPP. Bei gegebener Frequenz ist der Impuls des OPP immer größer als der des Lichts. Verändert aus[2].

gierenden elektromagnetischen Welle im Dielektrikum, die sogenannte Lichtgerade. Wie man aus der Abbildung erkennt, ist der Wellenvektor des OPP bei gegebener Frequenz immer größer als der des Lichts. Die Anregung eines OPP mit Licht ist somit nicht ohne weiteres möglich.

Es wurden verschiedene Techniken entwickelt, welche eine Angleichung der Wellenvektoren ermöglichen und damit die Anregung eines OPP durch Licht. Eine der ersten Techniken ist als Prismenkopplung bekannt. Die Angleichung der Wellenvektoren wird dadurch erreicht, dass sich das Licht und das OPP in Medien mit unterschiedlicher Permittivität ausbreiten[3, 4]. Eine andere Möglichkeit stellt die Streuung an topographischen Defekten dar[5, 6]. Daneben kann auch die Beugung an einem periodisch strukturierten Metallfilm ausgenutzt werden. Bei dieser, als Gitterkopplung bekannten Technik, ermöglicht der vergrößerte Impuls der gebeugten Ordnungen die Anregung[1].

Aufgrund der Absorption im Metall sind OPP auch in Ausbreitungsrichtung gedämpft. Die Dämpfung hängt dabei vom Imaginärteil der Permittivität des Metalls ab und wird als Abklinglänge  $\delta_l$  bezeichnet. Für Gold an der Grenze zu Wasser ist  $\delta_l = 3 \mu m$  bei einer Wellenlänge des OPP von 630 nm. Für Silber, das eine deutlich schwächere Dämpfung aufweist, ist  $\delta_l = 19 \mu m$  bei gleicher Wellenlänge.

Wie beim OPP handelt es sich beim LOP um eine Schwingung des Elektronenplasmas. Diese Schwingung ist im Gegensatz zum OPP nicht ausbreitungsfähig und kann beispielsweise bei einem metallischen Partikel oder einem dielektrischen Partikel in einem Metall auftreten (vgl. Abb. 1.2). Ein weiterer wichtiger Unterschied ist,

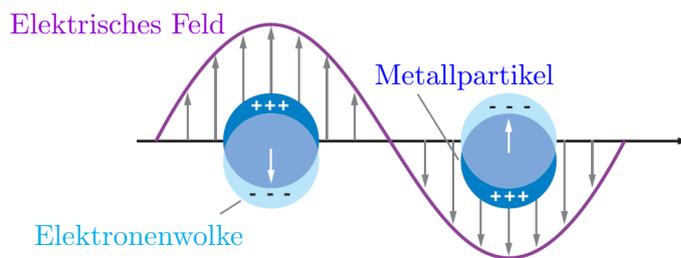


Abbildung 1.2: Wechselwirkung zwischen Licht und einem metallischen Partikel. Das elektrische Feld einer einfallenden Lichtwelle führt zur Polarisation der Elektronendichte im metallischen Partikel. Verändert aus[7].

dass sich die LOP direkt mit Licht anregen lassen. Das elektromagnetische Feld des einfallenden Lichts führt dabei zu einer Polarisation des Partikels und induziert ein Dipolmoment. Für ein kleines metallisches Teilchen mit Radius  $a$  und  $\lambda \gg a$  lässt

sich für die Polarisierbarkeit des Teilchens schreiben (quasi-statische Näherung)[8]:

$$\alpha = 4\pi d^3 \frac{\epsilon_m - \epsilon_d}{\epsilon_m + 2\epsilon_d} \quad (1.2)$$

Wie aus 1.2 hervorgeht, gibt es offensichtlich eine Resonanzbedingung bei der die Polarisierbarkeit des Teilchens divergiert. Nämlich genau dann, wenn gilt:

$$\epsilon_m = -2\epsilon_d \quad (1.3)$$

Gl. 1.3 ist als Fröhlich-Bedingung bekannt. Wie man vermuten kann nehmen bei der Resonanzbedingung auch die Streu- und Absorptionsquerschnitte ein Maximum an[8]. Dies erklärt beispielsweise die intensiven Farben kolloidaler Goldlösungen. Eine genauere Betrachtung der elektrischen Felder zeigt darüber hinaus, dass sie im Nahfeld des Partikels bei der Resonanz stark überhöht werden. Ähnlich wie bei den OPP führt dies zu einer starken Konzentration der Energie an der Grenzfläche des Partikels.

### 1.1.2 Plasmonische Wellenleiter

Wie wir in Abschn. 1.1.1 gesehen haben, sind die elektromagnetischen Felder eines OPP stark an der Grenzfläche lokalisiert. Dies ist ein wichtiger Unterschied zu einer frei propagierenden elektromagnetischen Welle wie beispielsweise Licht. Die gebundene Natur der OPP bedingt, dass sich die Welle in Wellenleitern führen lässt, die subwellenlängen Ausdehnung haben[9]. So zeigten Dickson und Lyon die Ausbreitung eines OPP in Nanostäbchen aus Gold und Silber mit 20 nm Durchmesser[10] bei Anregung mit 532 nm und 820 nm. Aufgrund der starken Lokalisierung bleibt die Ausdehnung der Mode auf die physikalische Ausdehnung des Nanodrahts beschränkt[11]. Es ist daher denkbar, dass sich mit OPP miniaturisierte photonische Schaltkreise realisieren lassen[12]. Diese könnten beispielsweise in neuartigen Computerchips Anwendung finden. Bisher haben die unterschiedlichen Größendimensionen der Photonik (um 1000 nm) und der Mikroelektronik (unter 100 nm) die Vereinigung dieser Techniken verhindert[13]. Es besteht daher ein großes Forschungsinteresse an plasmonischen Wellenleitern.

Es wurden unterschiedliche Geometrien für plasmonische Wellenleiter entwickelt. Im einfachsten Fall handelt es sich um einen metallischen Film, an dessen Oberfläche sich ein OPP ausbreitet. Durch eine Strukturierung des Films kann die Dispersionsrelation

des OPP lokal beeinflusst werden, wodurch sich die Ausbreitung steuern lässt. Dies kann bspw. durch das Aufbringen eines dielektrischen Materials[14] geschehen, durch eine wellenförmige Modulation des Filmprofils[15], durch V-förmige Vertiefungen im Metallfilm[16, 17] oder das Aufbringen geordneter metallischer Nanopartikel[18, 19]. Auf diese Weise lassen sich auch einfache optische Elemente wie Linsen oder Spiegel für OPP erzeugen. Auch ins Metall gefräste Löcher oder Gräben können zur Steuerung der OPP-Ausbreitung dienen[20, 21]. So demonstrierte Yin et al. wie OPP, welche in

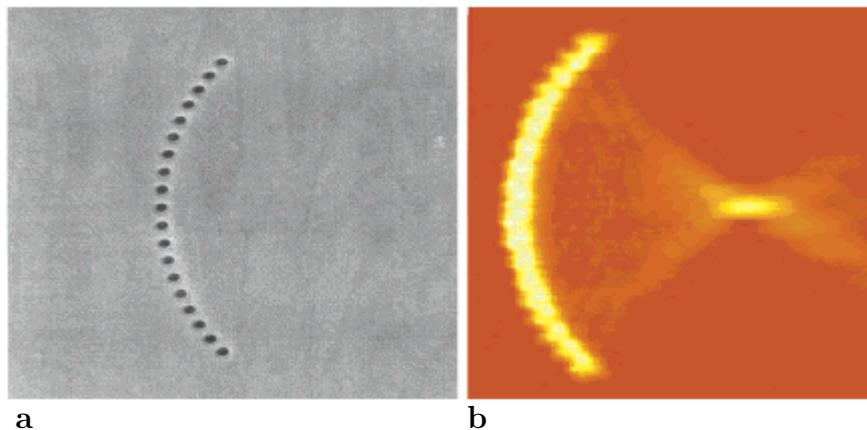


Abbildung 1.3: Lochmuster zur Fokussierung von OPP. (a) REM Bild des zirkulären Lochmusters im Silberfilm. (b) Das Nahfeld optische Bild des Lochmusters zeigt die Fokussierung der OPP im Zentrum des zirkulären Lochmusters. Verändert aus [20].

zirkular angeordneten 200 nm Löcher eines Silberfilms angeregt wurden, durch konstruktive Interferenz einen schmalen Fokuspunkt erzeugen (vgl. Abb. 1.3).

Eine weitere Möglichkeit plasmonischer Wellenleiter stellen Ketten oder Felder aus metallischen Nanopartikeln dar. Die Partikel können dabei über Dipol-Dipol Wechselwirkungen koppeln und longitudinale oder transversale Moden führen[22–24]. Auch hier kann, ähnlich wie bei Nanodrähten, die Mode in sub-wellenlängen Strukturen geführt werden[25, 26].

Ein Problem in plasmonischen Wellenleiter ist, dass die Laufweiten und die Lokalisierung der Moden nicht unabhängig voneinander sind. Je stärker die Lokalisierung der Mode an der metallischen Grenzfläche, desto kürzer ist Laufweite aufgrund steigender Ohm'scher Verluste im Metall. Eine Begrenzung der OPP-Mode auf subwel-

lenlängen führt daher zu einer Begrenzung der Laufweiten in der Größenordnung von  $\mu\text{m}$ . Verzichtet man auf eine starke Lokalisierung der Mode sind sehr hohe Laufweiten möglich. Berini et al. nutzte beispielsweise dünne metallische Streifen zur Führung von OPP-Moden[27] und erzielte Laufweiten in der Größenordnung von 1 cm im nahen Infrarot[28].

Eine starke Lokalisierung bei hohen Laufweiten lässt sich eventuell erreichen, indem man den Wellenleiter in ein aktives Medium einbettet[29]. Das aktive Medium kompensiert dabei die Ohm'schen Verluste und könnte sogar eine weitere Verstärkung der Lokalisierung bewirken. Erste vielversprechende Ergebnisse in dieser Richtung wurden kürzlich veröffentlicht[30].

### 1.1.3 Verstärkung von Emissionsprozessen

Bei der Anregung eines OP kommt es zu einer Verstärkung und Verdichtung der elektrischen Feldlinien im Nahfeld. LOP und OPP können daher zur Verstärkung Emissionsprozessen eingesetzt werden. In einer Reihe von Arbeiten wurde dies experimentell und theoretisch untersucht. Hierzu zählen die Verstärkung der Fluoreszenz[31, 32], Photolumineszenz metallischer Nanostrukturen[33, 34] und nichtlinearer optischer Prozesse, wie Frequenzverdopplung [35–38].

Besonders beeindruckend zeigt sich die Verstärkung beim Raman-Effekt. An chemisch aufgerauten Silberfilmen und Nanopartikeln konnte eine Verstärkung der Raman-Streuleistung bis zu einem Faktor von  $10^{15}$  beobachtet werden[39, 40]. Dies ermöglichte erstmals die Beobachtung der Ramanstreuung einzelner Moleküle.

Als Ursache für diese oberflächenverstärkte Ramanstreuung (OVRs) nimmt man das verstärkte elektromagnetische Feld aufgrund der Anregung von LOP und eine Verdichtung der Feldlinien an (*lightning rod effect*)[41–43]. Dies führt zu einer Verstärkung der eingehenden und emittierten Felder und damit zu einer Verstärkung der Streuleistung.

Der starke Einfluss der LOP auf die Ramanstreuung hat die Entwicklung einer Vielzahl von OVRs-Substraten für eine optimierte Feldverstärkung angestoßen. Hierzu zählen beispielsweise dichtgepackte Nanopartikel[44, 45], zylindrische und ellipsoide metallische Nanopartikel[46], Nanoschalen[47], Nanodrähte[48] und Nanoporen[49]

### 1.1.4 Außerordentliche Transmission von Licht

Aufgrund der Wellennatur des Lichts tritt bei der Transmission durch ein Loch Beugung auf, wenn der Lochdurchmesser  $d$  kleiner ist als die Wellenlänge des Lichts. Wie Bethe in einer theoretischen Untersuchung ableitete, fällt bei gegebenem Lochdurchmesser die Transmissionseffizienz<sup>1</sup> proportional zur vierten Potenz der inversen Wellenlänge[50]:

$$\eta_B = \frac{64\pi^2}{27} \left( \frac{d}{\lambda} \right)^4 \quad (1.4)$$

Gl. 1.4 gilt für unendlich dünne, perfekt leitende Filme. Bei einem Film mit endlicher Ausdehnung erwartet man zudem noch eine exponentielle Dämpfung der Welle im Verlauf der Apertur, sofern sich keine Wellenleitermode ausbilden kann. Zusammen mit Gl. 1.4 erwartet man daher eine Transmissionseffizienz die deutlich kleiner ist als eins.

Im Jahre 1998 untersuchten Ebbesen et al., die Transmission von metallischen Filmen mit periodisch angeordneten Löchern[51]. Überraschenderweise zeigte sich, dass bei bestimmten Wellenlängen die Transmission den offenen Flächenanteil des Lochgitters übersteigt und damit die Transmissionseffizienz größer als eins werden kann (siehe Abb. 1.4). Dies bedeutet, dass selbst Licht, das auf den Metallfilm trifft transmittiert wird. Die beobachteten Spektren können erklärt werden, wenn man annimmt, dass OPP durch Gitterkopplung angeregt werden. In diesem Fall gilt als Bedingung für die Wellenvektoren bei einem quadratischen Gitter:

$$k_{OPP} = k_x \pm nG_x \pm mG_y = k_0 \sin\theta \pm (n + m) \frac{2\pi}{L} \quad (1.5)$$

Hierbei ist  $k_{OPP}$  der Wellenvektor des OPP,  $k_x$  ist die Komponente der einfallenden Welle parallel zur Grenzfläche,  $G_x$  und  $G_y$  sind die Gittervektoren,  $L$  ist die Gitterkonstante und  $n$ ,  $m$  sind ganzzahlige Variablen. Die Kombination von Gl. 1.5 und Gl. 1.1 ergibt nach kurzer Rechnung für senkrechten Lichteinfall[52]:

$$\lambda_{OPP} = \frac{L}{\sqrt{n^2 + m^2}} \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d}} \quad (1.6)$$

Nach Gl. 1.6 werden bei definierten Wellenlängen OPP angeregt. Diese tunneln durch die Löcher im Metallfilm und gelangen somit auf die andere Seite des Films, wo sie

---

<sup>1</sup>auf die Lochfläche normierte absolute Transmission.

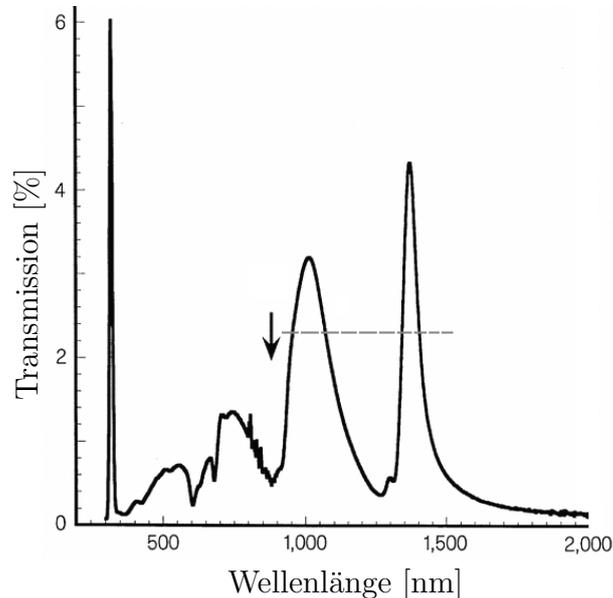


Abbildung 1.4: Transmissionsspektrum eines Lochgitters in einem Silberfilm. Für bestimmte Wellenlängen ist die Transmission größer als der offene Flächenanteil des Films (gestrichelte Linie). Der Pfeil markiert die Gitterkonstante  $L$ . Abbildung verändert aus [51].

durch Streuung ihre Energie ins Strahlungsfeld abgeben.

Eine Vielzahl nachfolgender Arbeiten untermauert die wichtige Rolle der OPP beim Transmissionsprozess. So wurden beispielsweise periodische Gitter um ein einzelnes Loch erzeugt, um die Anregung von OPP zu ermöglichen. Auch hier zeigte sich eine Verstärkung der Transmission[53, 54]. Eine erhöhte Transmission konnte auch bei Schlitzten in Metallfilmen gezeigt werden, welche von periodischen Gräben benachbart sind[55]. Und selbst in völlig geschlossenen, aber periodisch strukturierten Metallfilmen kann eine Transmission auftreten, sofern der Metallfilm hinreichend dünn und damit das Tunneln des OPP möglich ist[56]. Darüber hinaus stellte man fest, dass die Strukturierung der Eintrittsoberfläche die Einkopplung der OPP und damit die Position der Transmissionsmaxima bestimmt. Die Struktur der Austrittsoberfläche kontrolliert die Emission der OPP, wobei ein ungewöhnlich stark gerichteter Strahl entsteht[57]. Die Transmission von Lochgittern in Metallfilmen wird in Kapitel 4 ausführlich besprochen.

### 1.1.5 Oberflächenplasmonen Sensoren

Die beiden Gl. 1.1 und Gl. 1.3 aus Abschn. 1.1.1 zeigen, dass sowohl die LOP-Resonanz als auch die Dispersionsrelation des OPP von der Permittivität des umgebenden Dielektrikums abhängen. Es ist daher naheliegend OP in Sensoren einzusetzen, welche Änderungen der Permittivität sichtbar machen sollen. In Biosensoren, welche auf OPs basieren, wird die metallische Grenzfläche funktionalisiert, so dass ein Analyt spezifisch gebunden werden kann. Diese Bindung führt zur Änderung der Permittivität, welche durch das OP detektiert wird.

Der Großteil der bisher entwickelten plasmonischen Sensoren nutzt OPP an planaren metallischen Filmen zur Detektion. In einem typischen Aufbau wird durch Prismenkopplung das Plasmon angeregt und die reflektierte Intensität des Anregungsstrahls aufgezeichnet. Eine Änderung der Permittivität führt dann zu einer Änderung der Kopplungsbedingung.

Bei Anregung nahe der Resonanzwellenlänge kann dies beispielsweise als Änderung der reflektierten Intensität[58, 59] gemessen werden. Bei einer spektral- oder winkel aufgelösten Messung kann auch die Änderung der Resonanzwellenlänge[60, 61] oder des Resonanzwinkels[62, 63] detektiert werden. Bei einer spektral aufgelösten Messung liegt die Sensitivität im Bereich von 3100-8000 nm/RIU<sup>2</sup>[64]. Die Sensitivität des Sensors hängt vor allem von der Stärke der Feldlokalisierung an der Grenzfläche sowie der Laufweite des OPP ab. Durch ein Mehrschichtsystem kann die Laufweite und damit die Sensitivität verbessert werden[65].

Um einen möglichst einfachen experimentellen Aufbau zu erreichen, wurden das oben beschriebene Messprinzip in optischen Fasern integriert[66–68]. Typischerweise besteht ein solcher Sensor aus einer (einzel- oder multimoden) optischen Faser, die an einer Seite abgeschliffen wurde. Der hier freigelegte Kern der Faser wird mit einem dünnen Goldfilm versehen und erlaubt die Anregung eines OPP über eine Fasermode. Die Signatur der OPP kann über das am Faserende ausgekoppelte Licht detektiert werden.

Neben planaren Filmen können auch Filme mit einer periodischen Modulation der Topographie eingesetzt werden. Die Anregung des OPP erfolgt hier durch Gitterkopplung. Die Sensitivität dieses Aufbaus ist allerdings etwas schlechter als im Falle

---

<sup>2</sup>RIU, Abkürzung des englischen Begriffs refractive index unit, Brechungsindex.

eines planaren Goldfilms und liegt im Bereich von 630 nm/RIU[69]. Zu einer ähnlichen Kategorie mit vergleichbarer Sensitivität zählen Lochgitter in Metallfilmen. Auch hier erfolgt die Anregung über Gitterkopplung. Im Gegensatz zu den zuvor besprochenen Techniken kann hier auch in Transmission gemessen werden[70].

Im Falle der LOP nutzt man metallische Nanopartikel. Das Plasmon kann hierbei direkt mit Licht angeregt werden. Eine Änderung der Permittivität führt gemäß Gl. 1.3 zur Verschiebung des Absorptionsmaximums und kann somit im Absorptionsspektrum detektiert.

Von besonderem Interesse ist in diesem Zusammenhang die Spektroskopie einzelner Nanopartikel. Die im Partikelensemble auftretende inhomogene Linienverbreiterung aufgrund der Form- und Größenverteilung der Partikel kann hier umgangen werden. Hierdurch kann die Sensitivität deutlich verbessert werden[8]. Eine Vielzahl von Arbeiten beschäftigt sich daher mit der Einzel-Partikelspektroskopie. In einem möglichen Versuchsaufbau wird ein einzelner metallischer Nanopartikel auf die Oberfläche eines Prismas übertragen. Über das evaneszente Feld eines im Prisma total reflektieren Lichtstrahls wird dann das LOP angeregt. Mit Hilfe eines Objektivs wird das am Partikel gestreute Licht gesammelt und anschließend auf einen Detektor gebracht[71]. Es wurden eine ganze Reihe weiterer Techniken entwickelt, bei der die LOP-Resonanz mittels Mikroskopie beobachtet wird, darunter Nahfeld-Mikroskopie [72–74] und Dunkelfeldmikroskopie[75, 76]. Metallische Nanopartikel wurden dabei auch als Marker in der Mikroskopie von Zellen eingesetzt[77].

Da die Detektion der LOP-Resonanz über ein Mikroskop nachteilig sein kann, wurden auch hier Techniken entwickelt, die auf optischen Fasern basieren[78, 79] und somit einen einfachen Aufbau bieten.

Mit typischerweise 200 nm/RIU reagiert das LOP deutlich schwächer auf eine Änderung des Brechungsindex als die zuvor besprochenen OPP an planaren Goldfilmen[80]. Dennoch kann die Bindung eines Analyten mit vergleichbarer Sensitivität gemessen werden. Der Grund hierfür ist die extrem kurze Eindringtiefe von  $\delta_d \approx 6nm$  im Gegensatz zu  $\delta_d \approx 200nm$  bei planaren Goldfilmen. Die Beschränkung der elektromagnetischen Energie des LOP auf eine sehr kleines Volumen außerhalb des metallischen Nanopartikels führt zu einer deutlichen Steigerung der Sensitivität[81, 82].



## 1.2 Lithographie

Lithographie bedeutet wörtlich übersetzt Stein-schreiben (von altgriech. lithos, „Stein“ und graphein „schreiben“) und hat seinen historischen Ursprung im Papierdruck. Das Ziel der Lithographie ist es eine bestimmte zwei- oder dreidimensionale Struktur zu vervielfältigen und auf ein Substrat zu übertragen[83].

Die wohl wichtigste industrielle Anwendung der Lithographie ist das Schreiben von integrierten Schaltkreisen in der Chiptechnologie. Aufgrund der fortschreitenden Miniaturisierung in der Computertechnik ist heute die Erzeugung von nanoskaligen Strukturen erforderlich. Aber auch moderne Biosensoren, optische und insbesondere plasmonische Elemente sowie Metamaterialien benötigen Verfahren, mit denen sich Oberflächen auf der Nano- bis Mikrometerskala strukturieren lassen. Im folgenden Text sollen die wichtigsten modernen Lithographie-Verfahren vorgestellt werden.

### 1.2.1 Optische Lithographie

Die industriell am häufigsten verwendete lithographische Methode ist die Photolithographie (PL). In der PL erfolgt das „Schreiben“ in mehreren Schritten. Zunächst wird das Substrat, in der Regel Silicium, mit einem lichtempfindlichen Fotolack beschichtet. Mit Hilfe einer Maske, welche die gewünschte Struktur enthält, wird dann durch Belichtung das Maskenbild auf den Fotolack projiziert.

Die Belichtung verändert den Fotolack in der Art, dass in einer nachfolgenden chemischen Behandlung die belichteten und unbelichteten Teile des Fotolacks selektiv aufgelöst werden können. Das projizierte Maskenbild wird dabei in ein Reliefbild überführt. In den nachfolgenden Prozessschritten, wie z.B. Ätzen oder Metallabscheidung, dient der so strukturierte Fotolack als eigentliche lithographische Maske, welche am Prozessende entfernt werden kann[84]. Abb. 1.5 zeigt ein typisches Prozessschema. Ein wichtiges Merkmal einer lithographischen Methode ist sein absolutes Größenminimum. Dieses bezeichnet den kleinsten Strukturabstand, der sich mit der Methode erzeugen lässt.

Bei der PL ist das Größenminimum unter anderem von der Wellenlänge abhängig und kann durch Verwendung kürzerer Wellenlängen verbessert werden[85]. Heutzutage werden in der Mikroelektronik KrF und ArF Excimerlaser mit Wellenlängen zwischen 248 und 193 nm eingesetzt[86]. Durch technische Neuerungen, wie etwa die

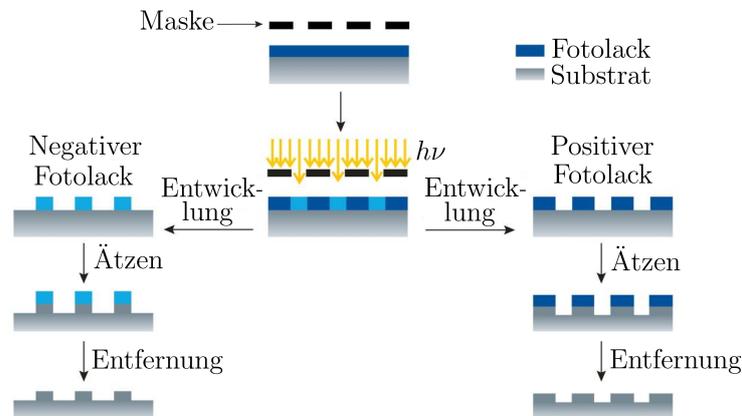


Abbildung 1.5: Prinzip der Photolithographie. Nach der Belichtung wird der Fotolack durch chemische Behandlung selektiv aufgelöst (Entwicklung). Während beim Positivlack die unbelichteten Bereiche zurückbleiben, werden genau diese beim Negativlack abgelöst. Siehe Text für Details. Verändert aus [88].

Verwendung von Immersionsflüssigkeiten, können gegenwärtig Minimalabstände von 22 nm erzeugt werden[87].

Neben der beschriebenen klassischen PL existieren Verfahren, die der PL im Arbeitsprinzip ähneln, aber mit sehr viel kürzeren Wellenlängen arbeiten und somit theoretisch kleinere Strukturen auflösen können. Hierzu gehören z.B. die Extrem-UV-Lithographie[89] oder die Röntgen-Lithographie[83]. In anderen Verfahren wird das Größenminimum reduziert, ohne die Wellenlänge zu verringern. So nutzt man bei der 2-Photonen-Lithographie aus, dass die 2-Photonen-Absorption quadratisch von der Strahlintensität abhängt. Dies führt zu einer drastischen Reduktion des effektiven Fokusvolumens und damit ebenfalls zur Verringerung des Größenminimums[90, 91].

## 1.2.2 Nicht-optische Lithographie

Des weiteren existieren Verfahren, die keine elektromagnetische Strahlung zur Strukturierung benötigen und somit das wellenlängenabhängige Größenminimum umgehen. Ein wichtiger Vertreter dieser Verfahren ist die *Soft-Lithography* (SL)[92–94]. Das grundlegende Prinzip der SL ist die Oberflächenstrukturierung mit Hilfe eines

Elastomer-Stempels bzw. -Abgussform. Der Elastomer (typischerweise Polydimethylsiloxan) trägt dabei die gewünschte Struktur als Relief auf seiner Oberfläche. Es wurden unterschiedliche Varianten der SL entwickelt. Eine häufig verwendete Methode ist dabei das *Microcontact printing*[95, 96], welche in Abb. 1.6 schematisch dargestellt ist. Typischerweise wird dabei der Elastomerstempel mit einem Liganden

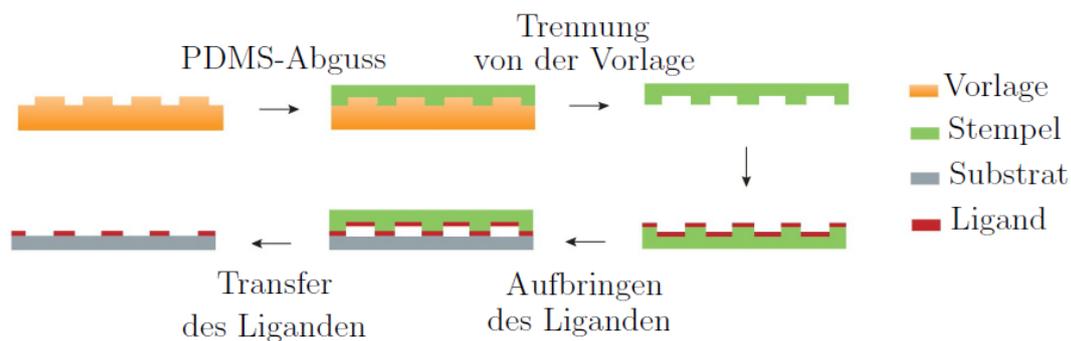


Abbildung 1.6: Prinzip des *Microcontact printing*. Die Strukturierung des Substrats erfolgt hier über einen Stempel. Siehe Text für Details. Verändert aus [88].

inkubiert und anschließend auf ein geeignetes Substrat gedrückt. Dabei bindet der Ligand an der Oberfläche. Die Verteilung des Liganden auf der Oberfläche entspricht dann der Reliefstruktur des Stempels. Bei dem Liganden kann es sich dabei direkt um das Material handeln, mit dem das Substrat strukturiert werden soll, wie z.B. Biomoleküle, Polymere oder Polymerpartikel[96]. Der Ligand kann aber auch als Ätzmaste verwendet werden oder als Templat für das selektive Abscheiden eines Metalls[93]. Eine weitere vielversprechende Variante ist das *Nanotransfer printing*[97, 98]. Hierbei wird der Stempel mit einem Metall bedampft. Dabei können auch mehrlagige oder dreidimensionale Strukturen auf dem Stempel erzeugt werden[99, 100]. Die Struktur wird anschließend auf ein Substrat übertragen, welche das Metall stärker bindet als der Stempel.

Die Vorteile der SL sind die einfache Erzeugung von dreidimensionalen Strukturen und die Möglichkeit auch nicht planare Substrate zu strukturieren. Zudem können viele Materialien auch direkt in einem einzigen Prozessschritt auf das Substrat übertragen werden[101].

Vergleichbar mit der SL verwendet die *Nanoimprint-Lithography* (NIL) Stempel um

ein Substrat zu strukturieren[102–104]. Im Gegensatz zur SL ist der Stempel hier allerdings aus einem rigiden Material wie etwa Quarzglas und wird unter hohem Druck in ein weiches Material auf einem harten Substrat gepresst. Das weiche Material, etwa Polymethylmethacrylat oder Polystyrol, wird dabei durch den Stempel strukturiert und anschließend mittels UV-Bestrahlung oder Erhitzen ausgehärtet. Wie bei der PL wird der strukturierte Lack als Maske für die folgenden Prozessschritte verwendet. Mit Hilfe der NIL können bislang Strukturen von ca. 10 nm erzeugt werden[105].

In der kolloidalen Lithographie macht man sich zu Nutze, dass mikro- bis nanoskalige Partikel spontan geordnete Muster bilden können. Ein so erhaltenes geordnetes Gitter aus organischen oder anorganischen Partikeln kann dann als Maske für die Strukturierung des Substrats verwendet werden[106, 107]. Es lassen sich mit dieser Methode zwar keine beliebigen zweidimensionalen Strukturen erzeugen, aber mit vergleichbar geringem Aufwand sind Strukturen weit unter 100 nm herstellbar[106]. Die kolloidale Lithographie wird in Kapitel 2 ausführlich beschrieben.

Ein weiteres nicht-optisches Verfahren ist die Block-Copolymer-Mizellare-Nanolithographie (BCML)[108–111]. Ähnlich der kolloidalen Lithographie wird hier die Selbstassemblierung genutzt. Anstelle von Kolloiden kommen amphiphile Polymere, welche in einem organischen Lösungsmittel Mizellen bilden, zum Einsatz. Diese Mizellen können mit unterschiedlichen Metallsalzen beladen werden. Eine mizellare Monolage kann dann durch Tauch- oder Rotationsbeschichtung auf einem Substrat erzeugt werden, wobei sich die Mizellen spontan in ein geordnetes Muster anordnen. Durch eine nachfolgende Plasmabehandlung werden die Mizellen entfernt und die Metallsalze reduziert. Hierdurch lassen sich nanoskalige Metallpunkte mit variablen Abständen erzeugen.

### **1.2.3 Sequentiell arbeitende Lithographie-Verfahren**

Die bis hier besprochenen Verfahren hatten gemeinsam, dass die Strukturierung auf dem gesamten Substrat gleichzeitig erfolgen konnte. Im Gegensatz hierzu existieren Verfahren, welche die Struktur Punkt für Punkt in das Substrat schreiben. Solche Verfahren arbeiten direkter und benötigen keine strukturgebenden Masken. Hierzu zählen beispielsweise die Elektronen- und Ionenstrahl-Lithographie[112, 113], wobei ein Muster durch Partikelbeschuss in das Substrat geschrieben wird.

Eine weitere interessante Methode dieser Kategorie ist die *Dip-Pen-Nanolithography*[114]. Hierbei können mit Hilfe der Spitze eines Rasterkraftmikroskops sehr verschiedene Moleküle, wie Alkanthiole, Silane, Proteine oder DNA auf einer Oberfläche abgelegt werden.

Sequentiell arbeitende Lithographie-Verfahren sind sehr zeitaufwendig und eignen sich daher in der Regel nicht für eine großflächige Strukturierung bzw. hohen Durchsatz. Ein Vorteil ist jedoch die im Allgemeinen sehr hohe Auflösung im sub-100 nm bis 10 nm Bereich[112, 115].

## 1.3 Mikroskopie

In dieser Arbeit wurden Materialien verwendet und erzeugt, deren Ausdehnung im Nano- bis Mikrometer-Bereich liegen. Um diese Strukturen betrachten zu können, kamen unterschiedliche Mikroskopie-Techniken zum Einsatz. Im Folgenden seien die wichtigsten Techniken kurz dargestellt.

### 1.3.1 Phasenkontrastmikroskopie

Das Auflösungsvermögen optischer Instrumente ist im Allgemeinen durch Beugung begrenzt. Ein gewöhnliches Lichtmikroskop hat dabei ein maximales Auflösungsvermögen von etwa  $0.3 \mu\text{m}$ .

In der mikroskopischen Praxis sind viele organische und anorganische Objekte, wie biologische Zellen, Silica- und Polymerpartikel u.a., aber selbst dann kaum im Mikroskop zu erkennen, wenn ihre Größe die Auflösungsgrenze um ein Vielfaches übersteigt. Der Grund dafür ist der schlechte Bildkontrast. Viele Objekte sind hoch transparent und weisen einen Brechungsindex auf, der nur wenig vom umgebenden Medium abweicht. Da somit Absorption, Streuung und Reflexion am Objekt vernachlässigbar sind, wird die Intensität des Lichtes der Beleuchtungsquelle beim Durchtritt durch das Objekt kaum modelliert. Das Objekt bleibt praktisch unsichtbar.

In einem Phasenkontrastmikroskop wird nun ausgenutzt, dass die Phasen der Lichtstrahlen, welche durch das Objekt und das umgebende Medium treten, unterschiedlich sind. Dieser Phasenunterschied ist für das menschliche Auge nicht sichtbar. Durch den speziellen optischen Aufbau des Mikroskops lässt sich der Phasenunterschied in einen Intensitätsunterschied umwandeln und damit der Bildkontrast bedeutend erhöhen[116].

Die Phasenkontrastmikroskopie eignet sich daher besonders für Strukturen, deren Größe oberhalb der Auflösungsgrenze des Lichtmikroskops liegen (d.h. Strukturen  $> 0.3 \mu\text{m}$ ), aber nur einen schwachen Materialkontrast geben.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Phasenkontrastmikroskopie zur Untersuchung von PolyNIPAM-Partikeln in Luft und in flüssiger Phase verwendet. Dabei kam ein Axiovert Mikroskop der Firma Zeiss zum Einsatz.

### 1.3.2 Rasterelektronenmikroskopie

Im Rasterelektronenmikroskop (REM) werden Elektronen verwendet, um eine Objekt Oberfläche abzubilden. Aufgrund der kleinen Materiewellenlänge der Elektronen ist die Auflösung dabei um Größenordnungen besser als im Lichtmikroskop.

Zur Bilderzeugung wird ein Elektronenstrahl zunächst in ein kleines Volumen des Objekts fokussiert. Die einfallenden (primären) Elektronen dringen hierbei in das Objekt ein. Durch inelastische Streuung übertragen sie dabei ihre kinetische Energie ganz oder teilweise auf die Elektronen der Objektatome. Die oberflächennahen Spezies dieser sogenannten Sekundärelektronen (SE) können die Probe verlassen und werden über eine Saugspannung auf einen Detektor gebracht und detektiert.

Der Detektor befindet sich dabei seitlich zum primären Elektronenstrahl (SE-Detektor) oder ringförmig um diesen angeordnet (In Lens-Detektor). Der am Detektor gemessene Elektronenstrom wird in einen Intensitätswert umgewandelt. Durch punktweises abfahren („rastern“) der Objekt Oberfläche erhält man Intensitätswerte für jeden Objektpunkt, welche dann im PC zu einem vollständigen Bild zusammengesetzt werden. Da die Zahl der erzeugten SE vom Eintrittswinkel des primären Elektronenstrahls abhängt (je kleiner der Eintrittswinkel, desto mehr SE können die Oberfläche verlassen) entsteht ein topographischer Bildkontrast, der einen räumlichen Eindruck vermittelt.

Neben den SE lassen sich auch die durch elastische Streuung zurückgestreuten Elektronen (BSE vom engl. back-scattered electron) detektieren. Da die Zahl der zurückgestreuten Elektronen mit steigender Ordnungszahl eines Atoms ansteigt, ermöglichen REM Aufnahmen mit dem BSE Detektor die Darstellung der Probe mit einem materialabhängigen Kontrast.

Die Auflösung eines REM wird durch den Durchmesser des primären Elektronenstrahls bestimmt, welche auf die Probe trifft und liegt typischerweise bei ca. 10 nm und bestenfalls bei 1 nm (bei Verwendung einer Feldemissions Elektronenquelle)[117].

Die in dieser Arbeit gezeigten REM-Bilder wurden mit Hilfe eines Zeiss Ultra 55 Gemini Rasterelektronenmikroskop aufgenommen.

### 1.3.3 Rasterkraftmikroskopie

Die Rasterkraftmikroskopie (engl. atomic force microscopy, Abk. AFM) ist ein mechanisches Verfahren zur Abbildung einer Materialoberfläche. Hierbei wird eine Messspitze an einem *Cantilever* über eine Oberfläche geführt. Zur präzisen Steuerung des Abstands zwischen Messspitze und Probe wird in der Regel ein Piezoelement verwendet, welches nanometergenaue Verschiebungen des *Cantilevers* ermöglicht. Aufgrund der Wechselwirkung zwischen der Messspitze und der Oberfläche kommt es zu einer Verbiegung des *Cantilevers*. Diese wird typischerweise mit einem Laserstrahl gemessen. Dabei wird dieser auf den *Cantilever* fokussiert und der reflektierte Strahl auf eine Photodiode gebracht. Das Signal der Photodiode hängt dabei von der Verbiegung des *Cantilevers* ab.

Ist die Messspitze mit der Probenoberfläche in Kontakt, so kann über die Verbiegung des *Cantilevers* nach dem punkweisen Abfahren der Oberfläche auf die Topographie zurückgeschlossen werden. Das AFM kann in ähnlicher Weise in unterschiedlichen Modi betrieben werden. Ein häufig genutzter Modus ist als *tapping-mode* bekannt. Hierbei wird der *Cantilever* zur Schwingung angeregt, wobei die Anregungsfrequenz nahe der Resonanzfrequenz liegt. Wird die Messspitze in die Nähe der Oberfläche gebracht, so ändern sich aufgrund der wirkenden Oberflächenkräfte die Schwingungsamplitude und die Phasenverschiebung zwischen der anregenden und der angeregten Schwingung. Über einen Regelkreis wird die Schwingungsamplitude durch Variation des Abstands der Messspitze zur Probenoberfläche konstant gehalten. Dies ermöglicht die berührungsfreie Messung der Oberflächentopographie.

Die Auflösung des AFM wird durch die Ausdehnung der Messspitze bestimmt und liegt typischerweise zwischen 0,1 bis 10 nm[118].

In der vorliegenden Arbeit wurden die gezeigten AFM-Bilder mit Hilfe des MFP-3D-BIO von Asylum Research aufgenommen.



## 2 Außergewöhnliche Fernordnung in selbstheilenden zweidimensionalen Kristallen

Unter Verwendung verschiedener Methoden wurden zweidimensionale, kolloidale ndp<sup>1</sup> Kristalle hergestellt. Bei den verwendeten Kolloiden handelt es sich um Hydrogel-Mikrosphären aus Poly-(N-isopropylacrylamid) (PolyNIPAM). Die experimentellen Beobachtungen führten zur Entwicklung eines Verfahrens, das die Erzeugung von 2D-Kristallen mit außergewöhnlich hoher Fernordnung ermöglicht. Das Verfahren nutzt die Oberflächenaktivität der PolyNIPAM-Kolloide in binären Mischungen aus Wasser und Alkohol und ermöglicht damit eine mechanische „Auflösung“ der Korngrenzen im Kristall. Die hohe Fernordnung ist zudem ein Resultat der Selbstheilung, eine ungewöhnliche Toleranz eines Hydrogel-Kristalls gegenüber Störstellen im Kristallgitter.

### 2.1 Einleitung

Nano- und Mikrosphären mit einer Größe zwischen einigen Nanometern und einigen Mikrometern lassen sich nasschemisch durch Sol-Gel-Synthese, sowie mittels Suspensions-, Dispersions-, Präzipitations- und Emulsions-Polymerisation herstellen[119]. Sofern eine hinreichend schmale Größen- und Formverteilung gegeben ist, können die Mikrosphären durch Selbstassemblierung spontan zwei- oder dreidimensionale periodische Gitter bilden. Typischerweise sind die Kolloide dabei hexagonal-dichtest gepackt (hdp).

Es wurden verschiedene Techniken entwickelt, um die spontane Selbstassemblierung auf einem Substrat kontrolliert ablaufen zu lassen. Zur Erzeugung

---

<sup>1</sup>Abkürzung: nicht-dichtest-gepackt.

von 2D-Kolloidkristallen nutzte man unter anderem Tauchbeschichtung[120], Rotationsbeschichtung[121] und das Langmuir-Blodgett-Verfahren[122]. Die erzeugten Kristalle lassen sich in vielfältiger Art und Weise zur Strukturierung von Oberflächen verwenden. Hierzu zählen beispielsweise Reliefstrukturen für Elastomerstempel[123], photonische Kristalle[124], plasmonische Wellenleiter[14] und Mikrolinsen[125].

Die vermutlich bedeutsamste Anwendung ist die Verwendung als lithographische Maske bei Ätz- und Beschichtungsprozessen. In diesem Zusammenhang spricht man in der Regel von kolloidaler Lithographie (KL). Die erste Anwendung der KL wurde 1981 von Fischer und Zingsheim gezeigt, welche eine ungeordnete Monolage als Maske für die Beschichtung eines Substrats mit Platin nutzten[126]. In der Folge entwickelte Deckman et al. die Technik zur großflächigen Strukturierung von Substratoberflächen weiter[127, 128] und zeigte auch die Anwendbarkeit als Ätzmaske beim reaktiven Ionenätzen[121].

Das Potential kolloidaler Kristalle in der Lithographie wurde unter anderem von Van Duyne et al. eindrucksvoll belegt (siehe Abb. 2.1). Er nutzte ein- bis zweilagige Kolloidkristalle als Maske bei der Gasphasenabscheidung von Metallen[129–131] und erzeugte dabei eine große Bandbreite an Strukturen mit interessanten plasmonischen Eigenschaften[7, 132]. Im Vergleich zu konventionellen lithographischen Techniken, wie Elektronenstrahl-, Ionenstrahl- oder Photolithographie, ist der apparative Aufwand der KL gering. Zur Erzeugung des kolloidalen Kristalls reicht in der Regel die übliche Ausstattung eines chemischen Labors aus und es muss nicht wie im Falle der Photolithographie im Reinraum gearbeitet werden. Zudem ist die KL eine vergleichsweise einfach auszuführende und vor allem kostengünstige Technik zur Erzeugung großflächiger Masken[107]. Strukturdimensionen unter 100 nm können relativ einfach erzeugt werden[106] und selbst die sub-10 nm Längenskala wurde bereits erreicht[133]. Einschränkend muss allerdings bemerkt werden, dass mittels KL nur Strukturen erzeugt werden können, die sich aus dem Kolloidgitter ableiten lassen. Zudem weisen kolloidale Kristalle in der Regel viele Kristalldefekte auf[134–136] und sind daher weniger geeignet, wenn möglichst gleichförmige Strukturen benötigt werden.

Um die Anwendbarkeit der KL zu stärken, wird daran gearbeitet möglichst defektfreie Kristalle zu erzeugen. Eine Verbesserung der Ordnung wurde in zwei- und drei-

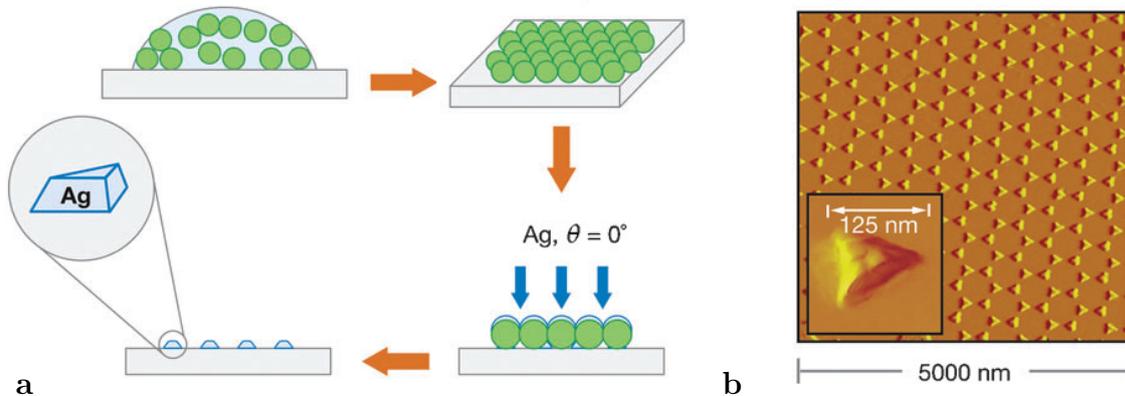


Abbildung 2.1: Prinzip der Kolloidalen Lithographie. (a) Ein zweidimensionaler, kolloidaler Kristall dient als Maske beim Aufdampfen von Silber. In den Zwischenräumen der Kolloide entstehen dabei trianguläre Silber-Nanopartikel. (b) Bild der Silber-Nanopartikel im Rasterkraftmikroskop. Abbildung verändert aus[7].

dimensionalen hdp Kristallen durch Anwendung einer periodischen oder konstanten Scherspannung[134, 137, 138], sowie durch thermisches oder mechanisches Tempern erreicht[135, 139, 140]. Daneben kann auch ein kontrolliertes Kristallwachstum zu hohen Ordnungen führen. In diesem Zusammenhang wurden kürzlich kolloidale Einkristalle mit cm-Längenskala erzeugt, indem die Kristallisation in einer keilförmigen Zelle kontrolliert wurde[141].

Üblicherweise werden zur Herstellung der Kolloidkristalle Mikrosphären aus einem harten Material, wie beispielsweise Silica[142], Polystyrol[120, 143] oder Polymethylmethacrylat verwendet. In neueren Arbeiten wurden auch hybride Materialien aus harten Kolloiden und weichen Materialien, sowie Mikrogele zur Herstellung von 3D-Kristallen genutzt[144–146]. Mikrogele sind „schwellbare“ Kolloide und weisen zudem weichere Interaktionspotentiale auf als Mikrosphären aus harten Materialien. Diese Eigenschaften bewirken, dass Defektenergien im Kristall dissipiert werden können[147]. So konnten Iyer und Lyon in 3D-Kristallen aus PolyNIPAM zeigen, dass selbst starke Größenunterschiede der Kolloide keine Gitterfehler nach sich ziehen[148]. Nur die lokale Ordnung um die Störstelle wird beeinflusst. Diese intrinsische Defekt-

toleranz der Kolloide wird in der Literatur auch als Selbstheilung bezeichnet.

Vor allem aus Sicht der Lithographie sind 2D nicht-dichtest-gepackte (ndp) Kristalle wünschenswert. Hierbei handelt es sich um Kristalle die in einer dichtesten Kugelpackung angeordnet sind, ohne dass sich die individuellen Kolloide berühren. Die Erzeugung von ndp Kristallen wurde jedoch vergleichsweise wenig untersucht. Ein ndp Kristall kann durch lithographische Vorstrukturierung des Substrats oder durch Nachbehandlung eines hdp Kristalls, beispielsweise durch reaktives Ionenätzen gewonnen werden [107, 149, 150]. Zudem können Kolloide oder Tröpfchen, welche in Polymeren oder Flüssigkristallen dispergiert sind für die Erzeugung eines ndp Kristalls eingesetzt werden[151–153]. Der Nachteil dieser Techniken ist allerdings, dass sie mit einem verstärkten apparativen Aufwand und/oder langwierigen Prozessschritten verbunden sind. Damit geht ein wichtiger Vorteil der KL, seine Simplizität im Vergleich zu Standardverfahren, verloren.

Eine Idee ist daher Kolloide zu verwenden, welche aufgrund ihrer intrinsischen Eigenschaften direkt in einen ndp Kristall assemblieren. Dies ist beispielsweise durch den Einsatz von Hydrogel-Kolloiden, eine wasserlösliche Klasse von Mikrogelen, möglich[154]. Diese Kolloide weisen einen reversiblen Volumenphasenübergang auf. Dabei reagieren sie auf Änderungen ihrer Umgebung, wie pH, Temperatur oder Lösungsmittel durch den Übergang von einem geschwollenen zu einem kollabierten Zustand[155, 156]. In Wasser dispergierte Hydrogel-Kolloide befinden sich im geschwollenen Zustand. Dabei dringen Wassermoleküle in die Polymermatrix und führen zu einer Volumenzunahme des Kolloids. Bringt man die Dispersion auf ein Substrat, assemblieren die Kolloide bei hinreichend dünnem Flüssigkeitsfilm in einen hdp Kristall. Wird das Wasser entzogen, kollabieren die Kolloide und ein ndp Kristall wird direkt erhalten.

Somit sind Hydrogel-Kolloide gute Kandidaten, um auf direkten Weg ndp Kristalle zu erzeugen. Die aus der Literatur bekannten Kristalle weisen allerdings einen sehr niedrigen Ordnungsgrad auf[154–156]. Es wurde bereits angedeutet, dass in vielen lithographischen Fragestellungen eine hohe Ordnung erforderlich ist. Ziel dieses Kapitels wird es daher sein, eine simple Methode zu entwickeln, mit der sich Hydrogelkristalle mit verbesserter Ordnung erzeugen lassen.

## 2.2 Material und Methoden

Alle Reagenzien wurden, mit Ausnahme von N-Isopropylacrylamid (NIPAM), ohne weitere Präparation verwendet. NIPAM wurde vor der Verwendung in Hexan umkristallisiert. NIPAM, 3-Aminopropyltriethoxysilan und Hexadecyltriethoxysilan wurden von Acros Organics bezogen. Von der Firma Roth wurde Ethanol, N,N - Methylene Bisacrylamid (BIS),  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und  $\text{HCl}$  verwendet.  $\text{HNO}_3$  und  $\text{H}_2\text{O}_2$  wurden von Merck bezogen. Es wurde Kaliumperoxodisulfat (KPS) der Firma Fluka und Methanol der Firma BASF eingesetzt. Natriumdodecylsulfat (SDS) wurde bei Fisher Scientific bezogen. Wasser wurde in einem Reinstwasser-System (Ultra pure water system, TKA) deionisiert und anschließend durch ein  $0,2\mu\text{m}$  Filter gefiltert. Der Widerstand des verwendeten Wassers betrug mindestens  $18,2\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ . Die verwendeten Glassubstrate waren  $2 \times 2\text{ cm}$  Deckgläschen der Firma Carl Roth.

### 2.2.1 Synthese von PolyNIPAM-Kolloiden

Die Synthese der PolyNIPAM-Kolloide erfolgte mittels Radikalpräzipitationspolymerisation in wässriger Phase nach Pelton et al [154]. Die Stoffzusammensetzung der verwendeten Kolloide ist in Tab. 2.1 zusammengefasst. Die Polymerisation erfolgte in einem 250 mL Dreihalsrundkolben. In diesem wurde deionisiertes Wasser, NIPAM und BIS vorgelegt. Die Lösung wurde auf etwa  $70\text{ }^\circ\text{C}$  in einer Ar-Atmosphäre erhitzt und mittels eines Magnetrührers gemischt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von KPS-Lösung initiiert. Nach 6 Stunden wurde die Lösung abgekühlt und die erhaltenen Mikrosphären wurden zentrifugiert, dekantiert und mit deionisiertem Wasser resuspendiert (drei Mal). Anschließend wurden die Dispersionen filtriert (Acrodisc 25 mm Spitzenfilter mit Versapor Membran). Der Porendurchmesser der Membranen betrug  $1,2\ \mu\text{m}$  für SP13 und VV53 und  $0,8\ \mu\text{m}$  für alle anderen Kolloide.

Die Größe der PolyNIPAM-Kolloide wurde im Rasterelektronenmikroskop (REM) abgeschätzt und ist in Tab. 2.2 zusammengefasst. Hierzu wurden  $40\mu\text{l}$  der Kolloidsuspension auf ein Deckgläschen getropft, das Lösungsmittel im Rotationsbeschichter verdampft (vgl. 2.2.3) und hochauflösende Bilder im REM aufgenommen. Die Proben wurden vor der Betrachtung im REM mit Kohlenstoff bedampft. Diese Methode der Größenbestimmung setzt voraus, dass der Durchmesser der geschwollenen Kolloide und der Gitterabstand der geordneten Kolloide auf dem Glassubstrat gleich sind. Da

Tabelle 2.1: Zusammensetzung der PolyNIPAM-Kolloide in [g/L].

Probenname	NIPAM	BIS	SDS	KPS
R13	0.201	0.137	0.292	0.292
SP13	0.193	0.127	0.212	0.292
SP73	0.082	0.141	0.117	0.292
VV53	0.167	0.106	0.293	0.292
R51	0.114	0.075	0.176	0.292

Hydrogel-Kolloide jedoch ähnlich einer Flüssigkeit das Substrat benetzen und sich dabei spreizen, ist dieser Zusammenhang nicht exakt gegeben. Dies ist in Abb. 2.2 illustriert. Es sei daher darauf hingewiesen, dass die erhaltenen Werte sich auf die Kol-

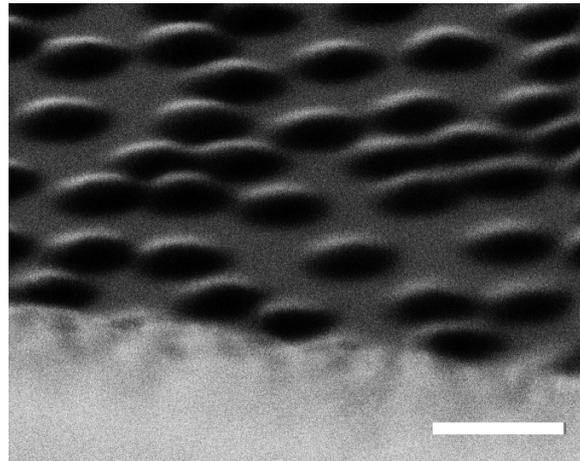


Abbildung 2.2: REM-Aufnahme von PolyNIPAM-Kolloiden unter geneigtem Winkel. Die elastischen Kolloide verlieren ihre sphärische Geometrie aufgrund der wirkenden Adhäsionskräfte zum Substrat. Maßstab: 1  $\mu\text{m}$ .

loidgröße auf einem Glassubstrat beziehen und von der Größe in Lösung vermutlich abweichen. Die Kolloidgrößen wurden mittels Bildanalyse in ImageJ und Anwendung selbstgeschriebener Programme bestimmt. Dabei wurde der Gitterabstand im Kolloidgitter als der Durchmesser des geschwollenen Kolloids angenommen. Es wurden

mehrere Bilder mit einer Gesamtzahl von mindestens 10000 Kolloiden pro Probentyp untersucht. In Abschnitt 2.3.4 ist das Vorgehen bei der Analyse detaillierter erläutert.

Tabelle 2.2: Größe der PolyNIPAM-Kolloide.

Probenname	$\varnothing$ geschwollen [nm]
R13	$441 \pm 24$
SP13	$1204 \pm 64$
SP73	$623 \pm 35$
VV53	$1113 \pm 31$
R51	$312 \pm 26$

## 2.2.2 Substratreinigung

Deckgläschen wurden in einer 3:1 Mischung aus  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (95-98%) und  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%) für 1,5 h inkubiert und anschließend mehrfach mit deionisiertem Wasser gespült, 5 min im Ultraschallbad behandelt und erneut gespült. Die gereinigten Deckgläschen wurden in deionisiertem Wasser für maximal 24 h gelagert und kurz vor der Rotationsbeschichtung mit  $\text{N}_2$  trocken geblasen.

## 2.2.3 Verdampfen des Dispersionsmediums

Das Dispersionsmedium (typischerweise  $40 \mu\text{l}$  einer wässrigen PolyNIPAM-Dispersion und  $80 \mu\text{l}$  EtOH) wurde mit Hilfe eines Laurell WS-400A-6NPP Lite Rotationsbeschichter verdampft. Hierzu wurde die Probe für zunächst 6 min bei 500 U/min und danach 1 min bei 6000 U/min rotiert. Die Zunahme der Rotationsgeschwindigkeit während der Beschleunigungsphase betrug 100 U/min pro Sekunde.

Zur Erzeugung der Kolloid-Kristalle wurden ausschließlich verdünnte PolyNIPAM-Dispersionen eingesetzt. Dabei wurde die gefilterte Stocklösung mit  $\text{H}_2\text{O}$  verdünnt. Die dabei verwendeten Verdünnungen und die gravimetrisch ermittelten Konzentrationen der Stocklösungen sind in Tab. 2.3 zusammengestellt.

Tabelle 2.3: Konzentration der PolyNIPAM-Stocklösungen und die verwendeten Verdünnungen bei der Rotationsbeschichtung.

Probenname	Konzentration [g/l]	Verdünnung (v/v)
R13	15,71 ± 0,04	1:300
SP13	19,6 ± 0,4	1:50
SP73	8,6 ± 0,2	1:100
VV53	3,4 ± 0,4	1:50
R51	1,21 ± 0,03	1:20

## 2.2.4 Mechanisches Tempern

Beim mechanischen Tempern mit einer externen Gasquelle spielen der Gasdruck und die breite des Gasstrahls eine kritische Rolle. Wenn der Strahl zu punktuell und/oder der verwendete Druck zu hoch ist, kommt es zu einer Zerstörung der geordneten Bereiche, d.h. die Fernordnung wird nicht verbessert sondern verschlechtert.

Der Durchmesser der Düse sollte daher im Bereich zwischen 3-4 mm liegen und der Gasdruck um 1,5 bar. Die Pulsdauer sollte zwischen 1-5 s betragen und durch strömungsfreie Intervalle mit einer Länge von ebenfalls 1-5 s unterbrochen werden. Die Gesamtzeit des Temperns sollte etwa 120 s betragen.

Alternativ kann mit einem Peleusball der Luftstrom erzeugt werden und die Bildung farbiger Domänen unter Verwendung einer Weißlichtquelle beobachtet werden. Dabei können die benötigten Parameter der Gasquelle auf einfache Weise abgeschätzt werden.

## 2.3 Ergebnisse und Diskussion

### 2.3.1 Kristallisation durch Trocknung an Luft

Nach bisherigem Kenntnisstand kann ein ndp Kristall erzeugt werden, indem eine verdünnte PolyNIPAM-Dispersion auf ein gereinigtes Deckgläschen gegeben und das Dispersionsmedium an Luft verdampft wird[154]. In einem entsprechenden Versuch

wurden 40  $\mu\text{l}$  einer verdünnten PolyNIPAM-Dispersion (vgl. Abschn. 2.2.1) auf ein gereinigtes Deckgläschen gegeben. Anschließend wurde diese Probe für etwa 4 h an einem trockenen Ort gelagert bis das Lösungsmittel vollständig verdampft war. Abb. 2.3 zeigt die REM-Aufnahme eines typischen 2D-Kristalls, wie er mit dieser Methode erhalten werden kann. Wie aus der Abbildung hervorgeht, gibt es zwar lokal hexagonal geordnete Bereiche, aber das Kolloidgitter weist eine Vielzahl von Kristallgrenzen auf. Um einen schnellen Eindruck über den Grad der Ordnung zu erhalten, wurde eine 2D-Fast-Fouriertransformation (FFT) der REM Aufnahme durchgeführt. Diese ist ebenfalls in Abb. 2.3 zu sehen und zeigt deutlich, dass die Ordnung des Kristalls sehr niedrig ist<sup>2</sup>.

### 2.3.2 Induzierte Oberflächenaktivität von PolyNIPAM-Kolloiden

Vor dem Hintergrund der Ergebnisse in Abb. 2.3 sollte nun ein Verfahren zur Ordnungsverbesserung entwickelt werden. Wie in der Einleitung dieses Kapitels beschrieben, wurde bereits in verschiedenen Arbeiten gezeigt, wie sich die Ordnung in hdp Kristallen durch eine geeignete Nachbehandlung verbessern lässt. Diese Techniken setzen allerdings eine gewisse Mobilität der Kolloide im Kristall voraus. Während der Trocknung an Luft kristallisieren die PolyNIPAM-Kolloide jedoch erst an der Tropfenkante und sind dann aufgrund der starken Adhäsionskräfte zum Substrat unbeweglich.

Aus diesem Grunde wurde versucht das grenzflächenaktive Verhalten von PolyNIPAM auszunutzen, um zunächst einen Kristall an der Grenzfläche Luft/Dispersionsmittel zu erzeugen. Die in der Grenzschicht lateral beweglichen Kolloide könnten dann einer Nachbehandlung unterworfen werden. Nun ist PolyNIPAM in einer reinen wässrigen Lösung gut löslich und nicht grenzflächenaktiv. In einer binären Mischung aus Wasser und Alkohol gibt es jedoch einen Konzentrationsbereich innerhalb dessen die Löslichkeit stark verringert ist[157]. Dies lässt sich unter anderem damit erklären, dass Alkohole die Wechselwirkung zwischen PolyNIPAM und Wassermolekülen stören. Dadurch wird die Adsorption der Kolloide an der Grenzfläche zur umgebenden Luft begünstigt. Zhang und Pelton haben dieses Verhalten bereits vor einem Jahrzehnt

---

<sup>2</sup>Die FFT eines perfekten hexagonalen Gitters ergibt ein hexagonales Punktgitter im reziproken Raum. Streut die Ausrichtung der Gittervektoren, so kommt es zu einer Verbreiterung der Punkte. Bei maximaler Unordnung sind keine definierten Punkte mehr zu erkennen.

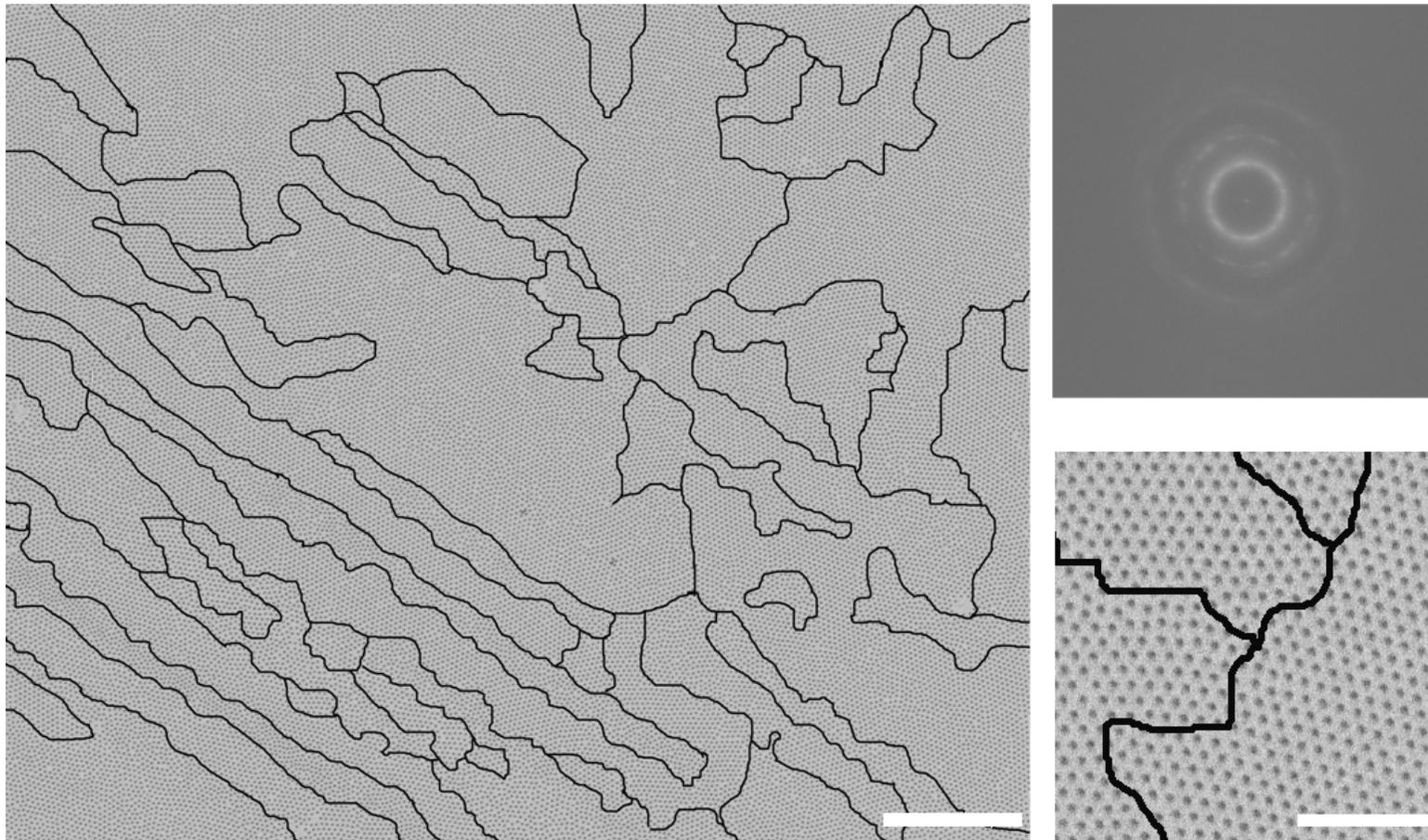


Abbildung 2.3: 2D-Kristall hergestellt durch Trocknung an Luft. In der Abbildung sind die Kristallgrenzen durch schwarze Linien hervorgehoben. Aus der FFT (kleine Abbildung rechts oben) wird zudem die schlechte Fernordnung des Gitters ersichtlich. Maßstäbe:  $30 \mu\text{m}$  im großen Bild und  $10 \mu\text{m}$  im vergrößerten Ausschnitt.

beobachten können, allerdings wurde daraus bislang kein technologischer Nutzen abgeleitet[158].

Um die Grenzflächenaktivität zu induzieren, wurden zu einer verdünnten PolyNIPAM-Dispersion ( $40 \mu\text{l}$ ) auf einem Deckgläschen  $80 \mu\text{l}$  EtOH hinzugefügt. Wie in Abb. 2.4 illustriert, führt dies augenblicklich zu einer Aufspaltung des Tropfens in mehrere Einzeltropfen aufgrund der entstehenden Gradienten in der Oberflächenspannung.

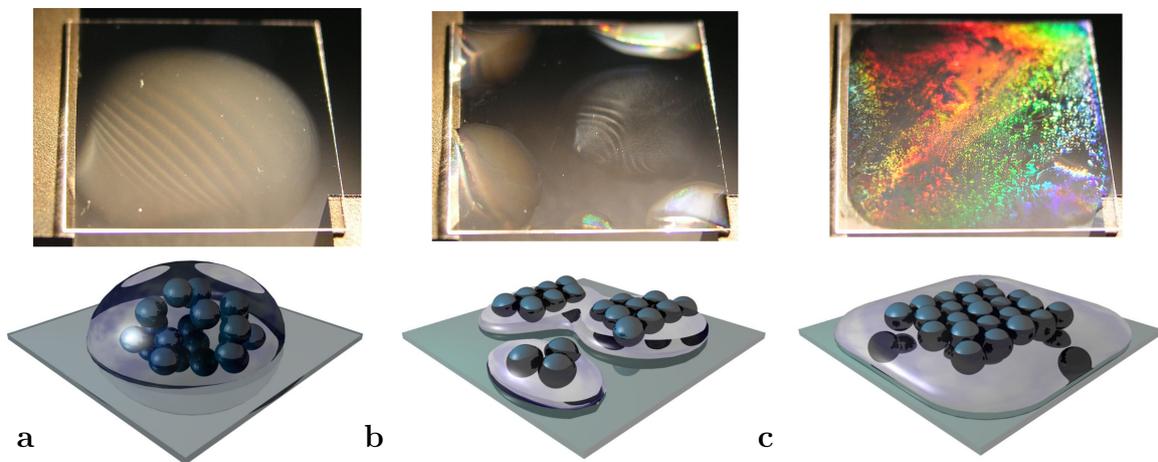


Abbildung 2.4: Prozesse bei Zugabe von EtOH zu einem Tropfen einer PolyNIPAM-Dispersion. Obere Reihe: fotografische Aufnahmen der Dispersion (von unten mit einer Weißlichtquelle beleuchtet). Untere Reihe: Schematische Darstellung der Kristallbildung. (a) Die PolyNIPAM-Kolloide sind vor der EtOH-Zugabe zufällig im Tropfenvolumen verteilt. (b) Unter EtOH-Zugabe kommt es zur Aufspaltung des Tropfens und zur Kristallisation an der Grenzfläche. (c) Die Tropfen koaleszieren in wenigen Sekunden. Aufgrund der Lichtbeugung kommt es zur Ausbildung farbiger Domänen.

Die Tropfen koaleszieren in wenigen Sekunden und es lässt sich die Ausbildung farbiger Domänen beobachten. Dies legt die Vermutung nahe, dass sich an der Grenzfläche ein kolloidaler Kristall gebildet hat, welcher aufgrund der Beugung des sichtbaren Lichts zum Auftreten der beobachteten Farben führt.

Eine genauere Untersuchung im Phasenkontrast-Mikroskop zeigte, dass sich nach der EtOH-Zugabe tatsächlich PolyNIPAM-Kolloide an der Grenzfläche

Luft/Dispersionsmittel anlagern, wie man in Abb. 2.5 sieht. Beim Durchstimmen des Fokus kann an der Grenzfläche des Tropfens der kolloidale Kristall beobachtet werden (im übrigen Tropfenvolumen findet man ausschließlich Kolloide in stochastischer Bewegung). Zudem zeigt sich, dass der Kristall offensichtlich Punktdefekte tolerieren

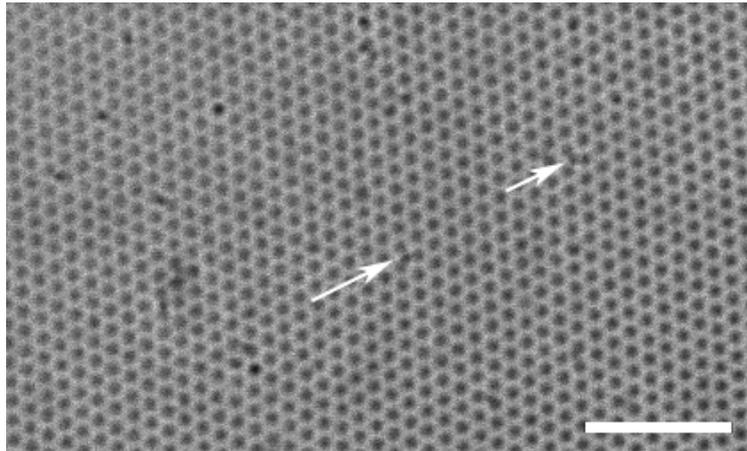


Abbildung 2.5: Bild eines kolloidalen Kristalls an der Grenzfläche zwischen Luft und Dispersionsmittel im Phasenkontrastmikroskop. Die Pfeile markieren Störstellen, welche offensichtlich vom Gitter toleriert werden können. Maßstab: 10  $\mu\text{m}$ .

kann (Pfeile in Abb. 2.5). Die beobachteten Gittereinfügungen haben praktisch keinen Effekt auf die Ordnung. Dies ist ein erster Hinweis darauf, dass die von Iyer und Lyon beschriebene Selbstheilung in 3D Kristallen auch in 2D Kristallen auftritt. Die Ordnung des Kristalls an der Grenzfläche ist mit dem in Abb. 2.3 gezeigten Kristall vergleichbar und weist zahlreiche Korngrenzen auf, wie aus Abb. 2.6 hervorgeht. Da die Adhäsion zum Substrat fehlt, sind die Kolloide in der Grenzschicht jedoch lateral beweglich. In Anlehnung an das thermische Tempern in Metallen, bei dem durch Zufuhr thermischer Energie Korngrenzen aufgelöst werden können, wurde versucht die Kristallgrenzen durch mechanischen Energieeintrag aufzulösen. Eine Möglichkeit der Grenzfläche mechanische Energie zuzuführen ist es, einen Gasstrom auf die Grenzfläche zu richten. Die dabei entstehenden Scherkräfte sollten dann für eine Umordnung der Kolloide im Kristall sorgen.

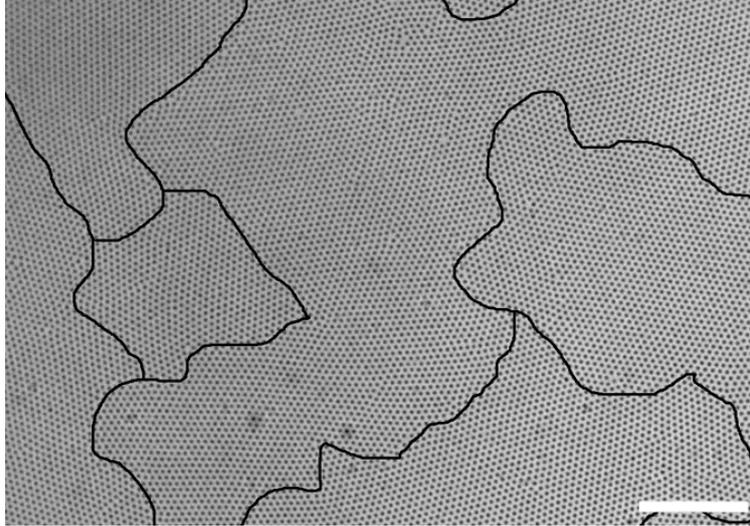


Abbildung 2.6: Bild eines kolloidalen Kristalls an der Grenzfläche zwischen Luft und Dispersionsmittel im Phasenkontrastmikroskop. Die schwarzen Linien markieren die Kristallgrenzen. Maßstab: 15  $\mu\text{m}$ .

### 2.3.3 Verbesserung der Kristallordnung durch mechanisches Tempern

Ein erster Versuch in diese Richtung wurde unternommen, indem die Probe im Rotationsbeschichter rotiert wurde. Die Rotation setzt dabei die Probenoberfläche einem konstanten Luftstrom aus und sorgt damit für den mechanischen Energieeintrag. Abb. 2.8 zeigt eine REM-Aufnahme der dabei erhaltenen Struktur. Wie aus der Abbildung ersichtlich ist, führt dieser Ansatz zu einer deutlichen Reduktion der Zahl der Korngrenzen. Offensichtlich haben sich einzelne kristalline Bereiche unter Auflösung der Kristallgrenzen vereinigt. Auch die FFT zeigt die verbesserte Ordnung gegenüber Abb. 2.3.

Es gibt noch einen weiteren Vorteil der Rotationsbeschichtung, welcher aus den Abbildungen nicht direkt ersichtlich ist. Beim Verdunsten des Dispersionsmittels erhöht sich die Kolloidkonzentration. Bei der Trocknung an Luft führt dies dazu, dass die Kolloiddichte auf dem Substrat während der Trocknung stetig zunimmt. Im letzten Tropfen der Dispersion kann die Kolloidkonzentration so hoch sein, dass sich eine mehrlagige Kolloidschicht bildet. Dies ist bei der Rotationsbeschichtung nicht so, da

die in Dispersion befindlichen Kolloide nach Außen getrieben und von der Probe weg geschleudert werden. Nur der an der Grenzfläche adsorbierte Kristall bleibt erhalten und gewährleistet somit eine konstante Kolloiddichte auf dem Substrat.

Um das Konzept der scherkraftinduzierten Auflösung von Kristallgrenzen weiter zu testen, wurde zudem ein oszillierender Gasstrom eingesetzt (im Gegensatz zum konstanten Luftstrom der Rotationsbeschichtung). Hierzu wurde die Probenoberfläche dem gepulsten Gasstrom einer N<sub>2</sub>-Pistole ausgesetzt. Im Anschluss daran wurde die Probe im Rotationsbeschichter getrocknet (um die oben erwähnte konstante Kolloiddichte zu gewährleisten). Dieses kombinierte Verfahren führte zu einer beachtlichen Verbesserung der Ordnung, wie die REM-Aufnahme in Abb. 2.9 belegt. Die Ordnung konnte dabei so dramatisch erhöht werden, dass innerhalb des maximalen Abbildungsbereichs des REMs von 0,06 mm<sup>2</sup> keine Kristallgrenzen zu finden sind.

Die beobachtete Fernordnung ist noch aus einem weiteren Grund beachtlich. Eine genauere Untersuchung des Gitters zeigt, dass eine Vielzahl von Punktdefekten zu finden sind. Diese scheinen jedoch keinen Effekt auf die Fernordnung des Gitters zu haben (Abb. 2.7-a), da die Defektenergie über das Gitter dissipiert werden kann[148].

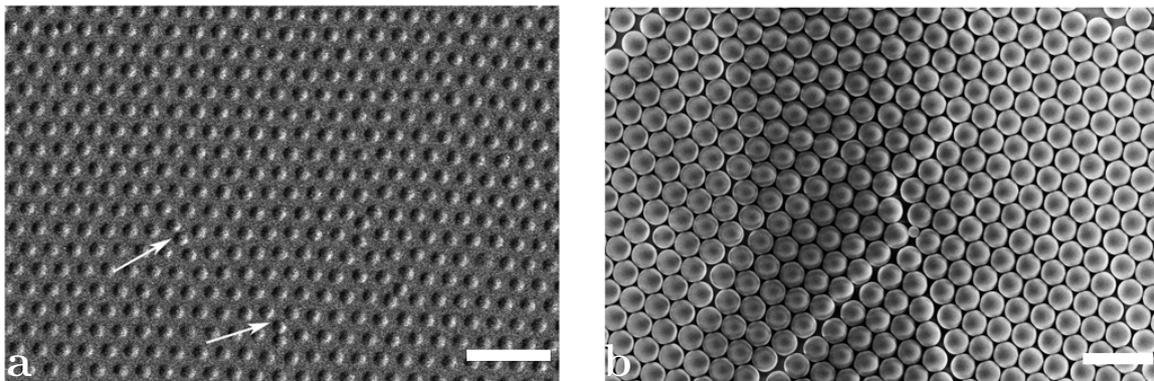


Abbildung 2.7: Einfluss von Punktdefekten in kolloidalen Kristallen (REM-Bilder). (a) Kristall aus PolyNIPAM-Kolloiden. Die Einschlüsse im Kristall bewirken eine lokale Verzerrung des Gitters, haben aber keinen Einfluss auf die Fernordnung. (b) Kristall aus Polystyrol-Kolloiden. Ein kleiner Einschluss bewirkt eine lokale und langreichweitige Störung des Gitters. Die Aufnahme wurde von Dr. Purwaningsih zur Verfügung gestellt. Maßstab: 3  $\mu\text{m}$ .

Kolloide aus harten Materialien, wie beispielsweise Polystyrol, zeigen dieses Verhal-

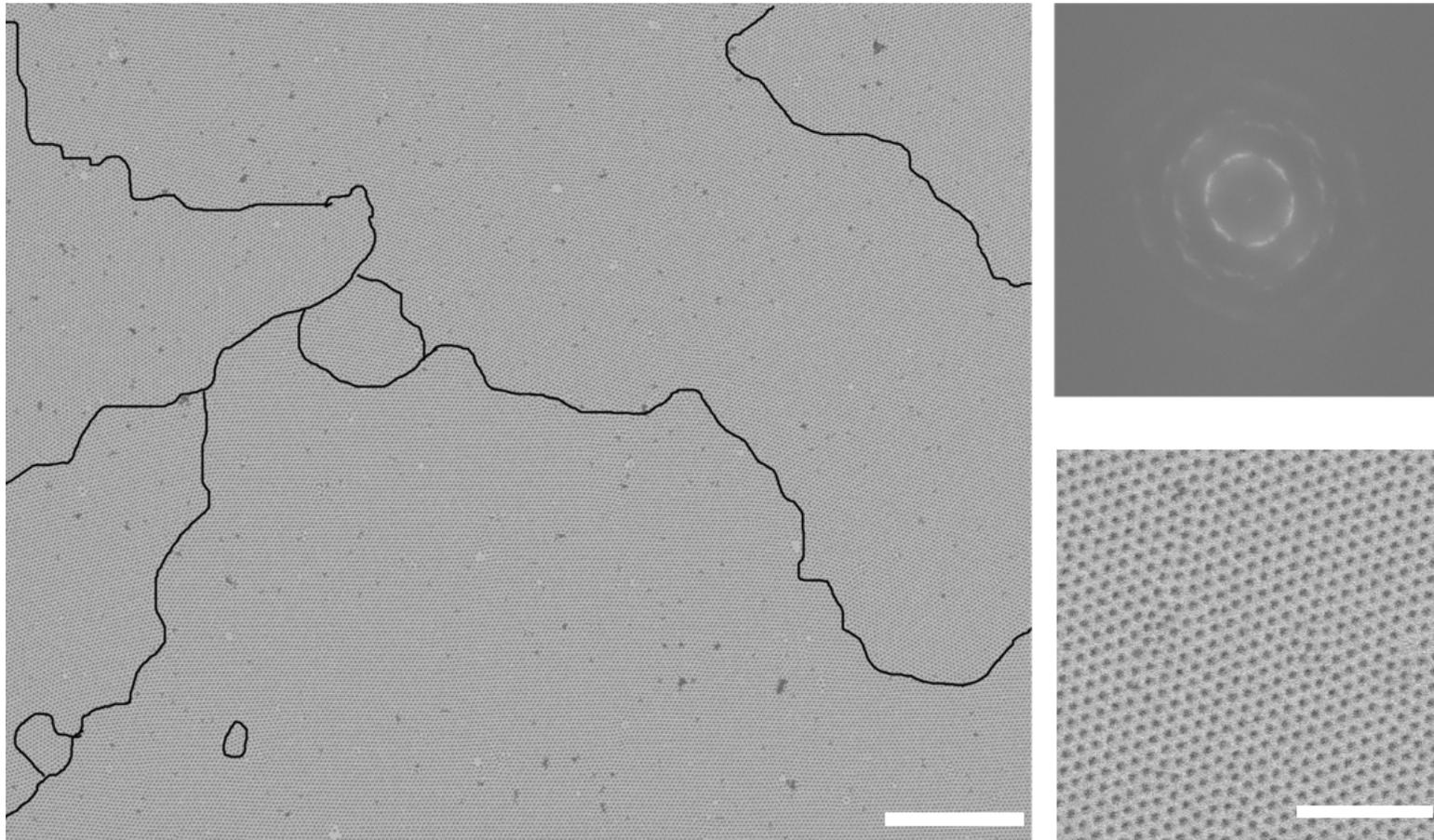


Abbildung 2.8: 2D Kristall hergestellt durch EtOH-Zugabe und Rotationsbeschichtung. Die Zahl der Kristallgrenzen (schwarze Linien) hat abgenommen. Die FFT zeigt die verbesserte Ordnung gegenüber Abb. 2.3. Maßstäbe:  $30\ \mu\text{m}$  im großen Bild und  $10\ \mu\text{m}$  im vergrößerten Ausschnitt.

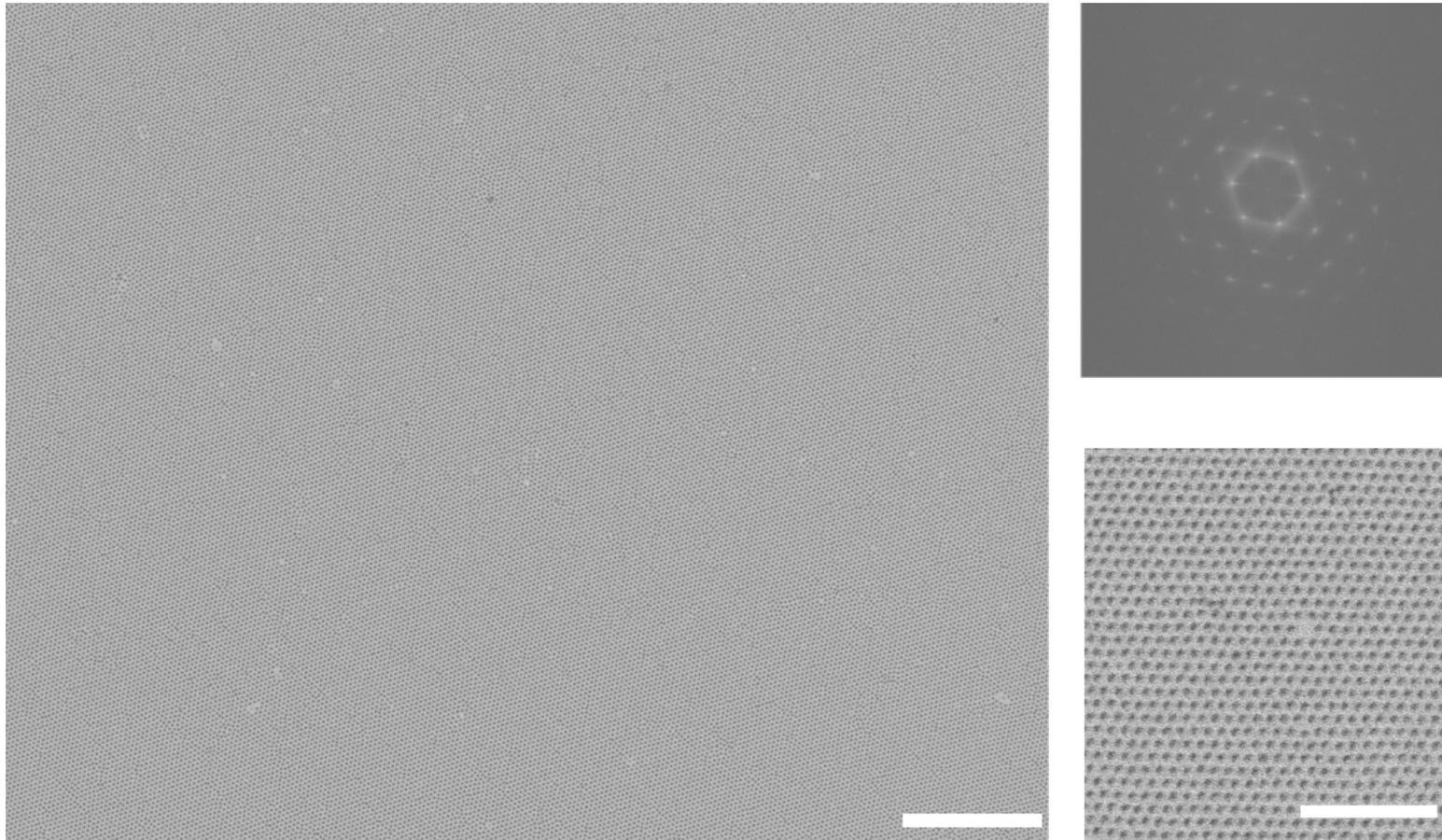


Abbildung 2.9: 2D Kristall hergestellt durch EtOH-Zugabe, Anwendung eines oszillierenden Gasstroms und Rotationsbeschichtung. Innerhalb des maximalen Abbildungsbereichs des REMs von  $0.06 \text{ mm}^2$  sind keine Kristallgrenzen zu beobachten. In Folge der hohen Ordnung ist ein hexagonales Punktgitter in der FFT deutlich zu erkennen. Maßstäbe:  $30 \mu\text{m}$  im großen Bild und  $10 \mu\text{m}$  im vergrößerten Ausschnitt.

ten nicht. Hier bewirkt ein Einschluss die Ausbildung einer Dislokation und hat somit einen direkten Effekt auf die Fernordnung (Abb. 2.7-b). Das Beispiel zeigt deutlich, dass die selbstheilenden Eigenschaften von Hydrogelen die Ausbildung hoher Fernordnung stark begünstigen.

### 2.3.4 Quantifizierung der Ordnung

Die gezeigten Fourier-Transformationen der 2D-Kristalle geben einen guten visuellen Eindruck über die erhaltene Ordnung der Kristalle. Um ein quantitatives Maß für die Ordnung zu erhalten, wurde darüber hinaus die radiale Verteilungsfunktion der Kristalle berechnet. Hierzu wurden REM-Bilder der Kristalle bei 500 facher Vergrößerung aufgenommen. Die Bilder enthielten dabei etwa 35000 Kolloide, deren Positionen in kartesischen Koordinaten mit Hilfe von ImageJ ausgelesen wurden. Zu diesem Zweck wurde ein REM-Bild zunächst in ein Binärbild überführt und die Koordinaten der Kolloide über die Funktion *analyze particles* erhalten.

In einem zweiten Schritt wurden die Koordinaten von einem selbstgeschriebenen Computerprogramm (basierend auf der Skriptsprache AWK) eingelesen. Mit diesem wurde der paarweise Abstand  $r_{ij}$  aller Kolloide und anschließend die radiale Verteilungsdichte  $g(r)$  wie folgt berechnet:

$$g(r) = \frac{1}{2\pi r \Delta r \rho} \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \chi(r_{ij} - r) \quad (2.1)$$

Darin ist  $N$  die Gesamtzahl der Kolloide im Bild,  $\rho$  die Dichte pro  $\mu\text{m}^2$ ,  $\Delta r$  ist die Schrittweite und  $r$  der betrachtete Kolloidabstand.  $\chi$  definieren wir als:

$$\chi(r_{ij} - r) := \begin{cases} 1, & \text{wenn } |r_{ij} - r| \leq \Delta r \\ 0, & \text{wenn } |r_{ij} - r| > \Delta r \end{cases} \quad (2.2)$$

Die Funktion  $g(r)$  beschreibt damit die mittlere Anzahl der Kolloide, die im Abstand  $r + \Delta r$  von einem beliebigen Kolloid gefunden wird.

Die radiale Verteilungsfunktion weist Maxima bei Abständen auf, welche sich aus Linearkombinationen der Gittervektoren des Kristalls ergeben. Für einen perfekten Kristall ergeben sich an diesen Positionen Delta-Verteilungen. Im realen Kristall sind die Maxima verbreitert und lassen sich mit einer Gaußfunktion beschreiben. Dabei

ist die Breite der Gaußfunktion ein direktes Maß für die Ordnung im Kristall.

Abb. 2.10 zeigt die radialen Verteilungsfunktionen für Kristalle, welche durch einfache Lufttrocknung bzw. durch das in diesem Kapitel entwickelte Verfahren hergestellt wurden. Wie in der Abbildung deutlich wird, sind die Maxima schärfer, wenn mecha-

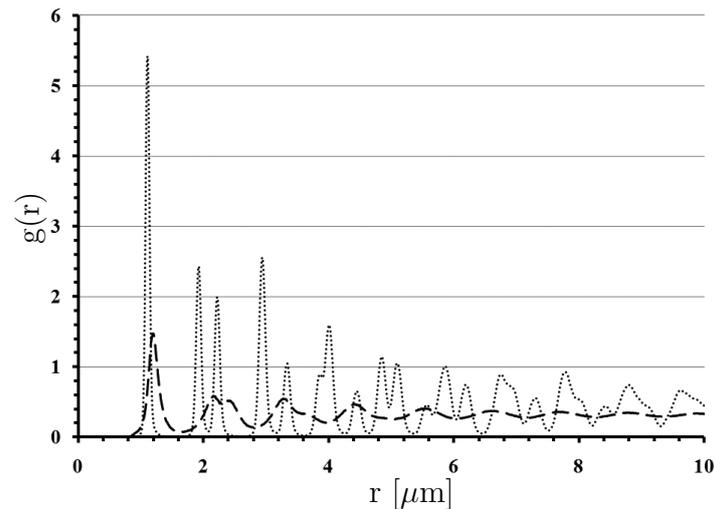


Abbildung 2.10: Radiale Verteilungsfunktion kolloidaler Kristalle. Beim Einsatz des mechanischen Temperns (gepunktete Linie) zeigt  $g(r)$  klar abgegrenzte Maxima mit einer Peakbreite des ersten Maximums von  $\sigma_1 = 31 \pm 1,0$  nm. Bei einfacher Lufttrocknung (gestrichelte Linie) sind die Maxima nicht mehr separiert und es ergibt sich  $\sigma_1 = 89 \pm 1,8$  nm.

nisches Tempern eingesetzt wird. Die Breite des ersten Maximums von  $g(r)$  kann damit als Maß für die Ordnung des Kristalls herangezogen werden.

Um die Breite der Maxima zu ermitteln, wurde in das erste Maximum von  $g(r)$  eine Gaußfunktion angepasst. Als Maß für die Peakbreite wurde dabei die Standardabweichung  $\sigma_1$  ermittelt. Dabei ergab sich für die in diesem Kapitel gezeigten Beispiele  $\sigma_1 = 31 \pm 1,0$  nm für mechanisches Tempern,  $\sigma_1 = 40 \pm 1,2$  nm beim Einsatz der Rotationsbeschichtung und  $\sigma_1 = 89 \pm 1,8$  nm bei einfacher Lufttrocknung. Durch das mechanische Tempern konnte die Güte der erhaltenen Kristalle also nahezu verdreifacht werden.

In diesem wurde erfolgreich ein simples Verfahren entwickelt, um ndp Kristalle herzustellen. Dabei wurden drei bemerkenswerte Eigenschaften von PolyNIPAM-Kolloiden ausgenutzt: der reversible Volumenphasenübergang, die induzierte Oberflächenaktivität und die intrinsische Defekttoleranz aufgrund der selbstheilenden Eigenschaften. Zusätzlich konnten durch mechanisches Tempern die Korngrenzen im Kristall erfolgreich aufgelöst werden. Dies führte zur Bildung von ndp Einkristallen mit außergewöhnlicher Fernordnung. In der Literatur konnte keine Kolloid-Kristalle auf der Basis von PolyNIPAM mit annähernd hoher Fernordnung gefunden werden. Die entwickelte Methode ist damit ein wichtiger Schritt um die Verwendbarkeit der kolloidalen Lithographie auf Bereiche auszuweiten, bei denen Standardverfahren bisher überlegen waren.

Die experimentellen Ergebnisse wurden in diesem Kapitel anhand von Kolloiden mit einem Durchmesser von  $\sim 1 \mu\text{m}$  dargestellt. Die Erkenntnisse sind jedoch für PolyNIPAM-Kolloide mit Durchmessern bis  $\sim 0,4 \mu\text{m}$  direkt übertragbar. Im folgenden Kapitel wird dies bei der Herstellung von Lochgittern unterschiedlicher Gitterkonstante ausgenutzt.



# 3 Ein chemischer Ansatz zur Herstellung von Lochgittern in Goldfilmen

Die in Kapitel 2 beschriebenen zweidimensionalen Kristalle aus PolyNIPAM-Kolloiden wurden als lithographische Maske für die Herstellung von Lochgittern in Goldfilmen eingesetzt. Die unmaskierten Bereiche des Glassubstrats werden zunächst mit Amino- oder Thiolgruppen funktionalisiert. Dies ermöglicht die Anbindung von Goldnanopartikeln (AuNP) an das Glassubstrat. Nach dem Ablösen der Kolloidmaske werden die AuNP mittels stromloser Goldabscheidung vergrößert. Das Partikelwachstum führt schließlich zur Bildung eines homogenen Goldfilms, der an den ursprünglichen Kolloidpositionen perforiert ist. Der hierbei entstandene Goldfilm weist in der Regel eine hohe Oberflächenrauheit auf. Diese kann durch Tempern in einer Bunsenbrenner-Flamme drastisch reduziert werden.

Die Gitterkonstante des Lochgitters kann über den Durchmesser der eingesetzten Kolloide variiert werden. Bei Kolloiden mit Durchmessern unter  $\sim 1000$  nm darf die Kolloidmaske erst nach der stromlosen Goldabscheidung entfernt werden, um ein Verschluss der Löcher beim Goldwachstum zu vermeiden. Bei diesem Vorgehen verbleiben Goldreste in den Löchern, welche in einer KI/I<sub>2</sub>-Lösung aufgelöst werden können.

## 3.1 Einleitung

In den letzten Jahrzehnten haben nanostrukturierte Metalle aufgrund ihrer ungewöhnlichen optischen Eigenschaften viel Aufmerksamkeit erregt. Wie in Kapitel 1.1 bereits ausführlich erläutert wurde, lassen sich diese Eigenschaften auf die Anregung

von Oberflächenplasmonen (OP) zurückführen.

In diesem Zusammenhang wurden auch die ungewöhnlichen Transmissionsspektren von Lochgittern in metallischen Filmen angesprochen. Bei bestimmten Wellenlängen zeigen diese Strukturen eine Transmission, die um ein Vielfaches höher ist, als nach der klassischen Aperturen-Theorie zu erwarten wäre[51]. Dieser sogenannte EOT-Effekt<sup>1</sup> eröffnet dabei eine Reihe interessanter Anwendungsfelder, welche in Kapitel 4 noch genauer diskutiert werden.

Lochgitter in metallischen Filmen wurden bislang vor allem mittels *Top-Down*-Verfahren, wie Ionenstrahl- und Elektronenstrahl-Lithographie hergestellt[159–161]. Diese Techniken sind zeitaufwendig und erlauben daher nur einen geringen Durchsatz. Eine alternative Hochdurchsatz-Methode ist die Photolithographie (PL). Aufgrund des erheblichen apparativen Aufwands und der Erfordernis im Reinraum zu arbeiten, ist die PL jedoch mit hohen Kosten verbunden[162–164].

Die kolloidale Lithographie (KL), als simple und kosteneffiziente Hochdurchsatz-Methode, wurde trotz ihrer stetigen Weiterentwicklung in diesem Zusammenhang kaum angewendet[107, 165–168]. Die wenigen Arbeiten auf diesem Gebiet involvieren zudem aufwendige Prozessschritte wie beispielsweise reaktives Ionenätzen[169, 170] und untergraben damit die Vorteile der KL gegenüber alternativen Verfahren.

Ein interessantes KL-Verfahren zur Herstellung poröser Goldfilme wurde von Bartlett et al entwickelt[171]. Sie erzeugten einen hexagonal-dichtest gepackten Kristall aus Polystyrol-Kolloiden auf einer Goldelektrode. Durch elektrochemische Abscheidung wurden die Zwischenräume der Kolloide mit Gold gefüllt um einen porösen Goldfilm zu erhalten. Diese Methode eignet sich allerdings nicht zur Herstellung eines transparenten Lochgitters, da die Goldelektrode als Substrat benötigt wird.

In diesem Kapitel soll nun ein neuartiges KL-Verfahren vorgestellt werden, mit dem sich submikroskopische Lochgitter in Goldfilmen auf einem Glassubstrat herstellen lassen. Eine Besonderheit des entwickelten Verfahrens ist, dass es ausschließlich auf chemischen Methoden basiert. Dies macht es zu einem vergleichsweise simplen und günstigen Ansatz zur Herstellung submikroskopischer Lochgitter in Goldfilmen und nutzt damit die Vorteile der KL gegenüber alternativen Methoden.

---

<sup>1</sup>EOT: Englische Abkürzung für Extraordinary Transmission

## 3.2 Material und Methoden

3-Aminopropyltriethoxysilan wurde von Acros Organics bezogen. Die Reagenzien  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$  und Natriumcitrat-Dihydrat wurden von Sigma Aldrich bezogen. Von der Firma Roth verwendeten wir Ethanol,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und  $\text{HCl}$ .  $\text{HNO}_3$  und  $\text{H}_2\text{O}_2$  wurden von Merck und Methanol von der Firma BASF bezogen. Wasser wurde in einem Reinstwasser-System (Ultra pure water system, TKA) deionisiert und anschließend durch ein  $0,2 \mu\text{m}$  Filter gefiltert. Der Widerstand des verwendeten Wassers betrug mindestens  $18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ .

### 3.2.1 Bestimmung der Goldfilmdicke und Rauheit

Die Dicke des Goldfilms und die quadratische Rauheit wurde mit Hilfe eines AFM (MFP-3D-BIO, Asylum Research) mit kommerziell erhältlichem Si *Cantilever* (Olympus, Federkonstante  $0.02 \text{ N/m}$ , Resonanzfrequenz  $11 \text{ KHz}$ ) bestimmt. Dabei wurden die Bilder im *tapping mode* aufgenommen. Zusätzlich wurde die Schichtdicke im REM verifiziert, indem die Probe gebrochen und anschließend die Schnittfläche abgebildet wurde. Tab. 3.1 zeigt die mittleren Schichtdicken und Gitterkonstanten der hergestellten Lochgitter (bei  $0,8 \text{ mM}$  Hydroxylaminhydrochlorid).

Tabelle 3.1: Goldfilmdicke bei verschiedenen Gitterkonstanten.

Bezeichnung	Gitterkonstante [nm]	Schichtdicke [nm]
R13	$441 \pm 24$	$122 \pm 7$
SP13	$1204 \pm 64$	$143 \pm 18$
SP73	$623 \pm 35$	$134 \pm 6$
VV53	$1153 \pm 40$	$138 \pm 21$

### 3.2.2 Entfernung der PolyNIPAM-Kolloide

Es stehen prinzipiell zwei Wege zur Entfernung der PolyNIPAM-Kolloide zur Verfügung. Kolloide mit Durchmessern  $\gtrsim 1000 \text{ nm}$  wurden direkt nach Anbindung

der AuNP abgelöst. Hierzu wurden die Proben in einer MeOH/H<sub>2</sub>O Lösung (95:5, v/v) 20-30 min im Ultraschallbad behandelt.

Kleinere PolyNIPAM-Kolloide wurden erst nach dem Goldwachstum entfernt, um ein Zuwachsen der Löcher zu vermeiden. Hierzu wurden die Proben zunächst mehrfach durch eine Butan/Propan Bunsenbrenner-Flamme geführt und die Kolloide damit abgebrannt. Anschließend wurden die Proben für 20 min in einer verdünnten wässrigen KI/I<sub>2</sub>-Lösung (0,58 mg/mL I<sub>2</sub>, 1,18 mg/mL KI) inkubiert. Dies löst Goldreste, welche in den Löchern zurückbleiben, vollständig auf.

### **3.2.3 Stromlose Goldabscheidung**

Die mit AuNP dekorierten Proben wurden in 3 mL eine wässrige Lösung mit typischerweise 0,8 mM Hydroxylaminhydrochlorid und 0,5% (w/v) HAuCl<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O eingetaucht. Die Proben wurden dann auf einem rotierenden Schüttler (Rotamax 120) bei 30 rpm für 1 h inkubiert, um eine homogene Durchmischung zu gewährleisten. Die Proben wurden anschließend mit deionisiertem Wasser gewaschen und an Luft getrocknet.

### **3.2.4 Substratbindung von Goldnanopartikeln**

Auf die silanisierten Glassubstrate wurden 80  $\mu$ L einer 12 nM AuNP-Lösung getropft und dann 20 min bei 40°C inkubiert. Anschließend wurde mit deionisiertem Wasser gewaschen.

### **3.2.5 Goldnanopartikel-Synthese**

Goldnanopartikel (AuNP) wurden mittels Citratreduktion präpariert[172–174]. 50 mL einer wässrigen 1 mM HAuCl<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O Lösung wurde unter heftigem Rühren auf 100°C erhitzt. Anschließend wurden 5 mL einer 38,8 mM Natriumcitrat-Lösung zügig zugegeben und für weitere 30 min gekocht. Das Heizbad wurde anschließend entfernt und die Lösung wurde für 1 h unter Rühren auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Lösung wurde bis zur Verwendung bei 4 °C gelagert.

### 3.2.6 Silanisierung der Glassubstrate

Glassubstrate mit Kolloid-Kristallen wurden durch Gasphasenabscheidung von 3-Aminopropyltriethoxysilan oder (3-Mercaptopropyl)-Trimethoxysilan silanisiert. Hierzu wurden die Proben zusammen mit 30  $\mu\text{L}$  des flüssigen Silans auf einem Epideckel in einen Exsikkator gelegt. Der Exsikkator wurde danach evakuiert bis ein Druck von 0,3 mbar erreicht wurde. Die Proben wurden unter diesen Bedingungen für 30 min inkubiert und danach für 1 h bei 80 °C im Trockenschrank inkubiert.

## 3.3 Ergebnisse und Diskussion

### 3.3.1 Der Lithographie-Ansatz

Bevor die Prozessschritte im Detail erläutert werden, soll hier ein kurzer Überblick über das entwickelte Lithographie-Verfahren gegeben werden. Wie in Abb. 3.1 gezeigt, dient ein Kristall aus PolyNIPAM-Kolloiden als lithographische Maske bei der Erzeugung eines Lochgitters in einem dünnen Goldfilm (120-150 nm). Im ersten Schritt werden dabei Goldnanopartikel (AuNP) an die Glasoberfläche gebunden. Anschließend wird der kolloidale Kristall entfernt, wobei eine strukturierte Monolage aus AuNP zurückbleibt. Im letzten Schritt werden die AuNP durch stromlose Goldabscheidung (SG) vergrößert. Bei diesem Prozess wachsen die AuNP zusammen und bilden somit einen homogenen Goldfilm. Der erste Prozessschritt in Abb. 3.1 ist bereits in Kapitel 2 ausführlich beschrieben worden. Im Folgenden werden nun die weiteren Prozessschritte des Verfahrens behandelt.

### 3.3.2 Bindung von Goldnanopartikeln an das Glassubstrat

Nachdem ein Kristall aus PolyNIPAM-Kolloiden auf dem Glassubstrat erzeugt wurde, ist der nächste Schritt die Bindung von AuNP an die Glasoberfläche. Da Gold nur eine geringe Affinität zu  $\text{SiO}_2$  aufweist, muss zunächst die Oberfläche chemisch modifiziert werden. Thiole und Aminogruppen sind dafür bekannt an Goldoberflächen stark zu binden[175]. So kann die durch Chemisorption zustande kommende Bindung von Alkanthiolen an Gold eine Bindungsenergie um 160 kJ/mol aufweisen[176].

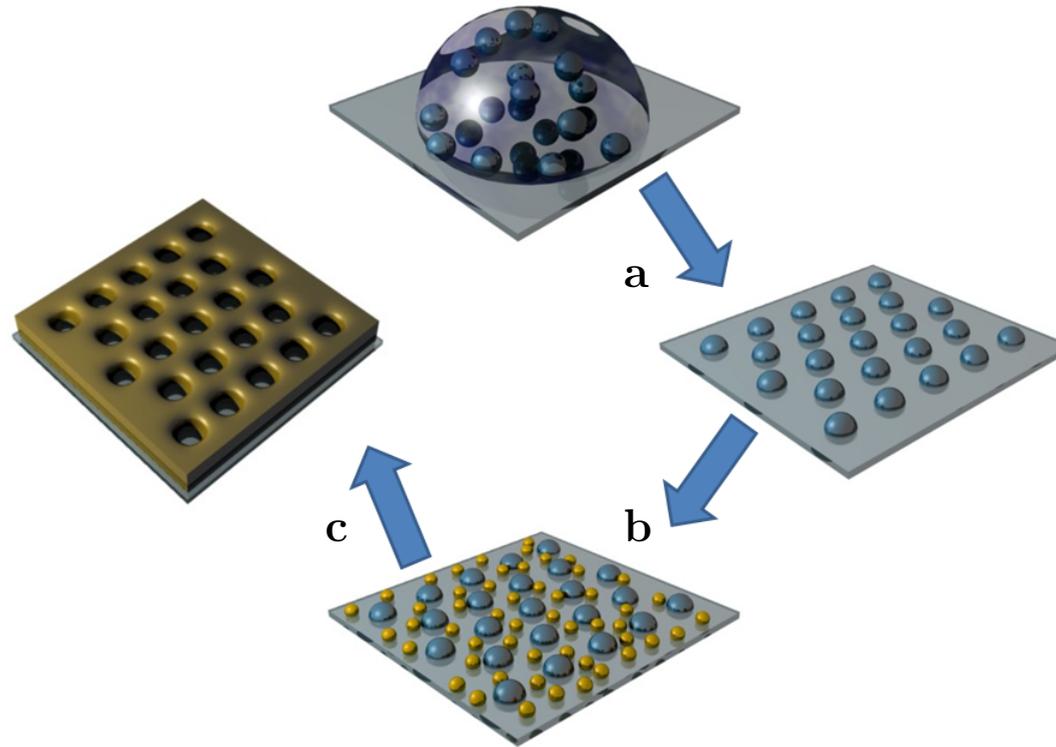


Abbildung 3.1: Herstellungsprozess sub-mikroskopischer Lochgitter in Goldfilmen. (a) Eine verdünnte Dispersion von PolyNIPAM-Kolloiden (große Kugeln) dient zur Erzeugung eines zweidimensionalen, kolloidalen Kristalls (b) Das Substrat wird mit Mercapto- oder Aminosilanen funktionalisiert und mit AuNP (kleine Kugeln) dekoriert (c) Die Kolloide werden entfernt und die AuNP werden durch stromlose Goldabscheidung vergrößert um einen homogenen Goldfilm zu erhalten.

Amino- oder Thiolgruppen können durch Silanisierung der Glasoberfläche mit entsprechend funktionalisierten Silanderivaten an der Oberfläche eingeführt werden. Das Silan kann dabei beispielsweise über die Gasphase an der Oberfläche abgeschieden werden. Um dies zu erreichen, wurden die mit Kolloiden strukturierten Glassubstrate

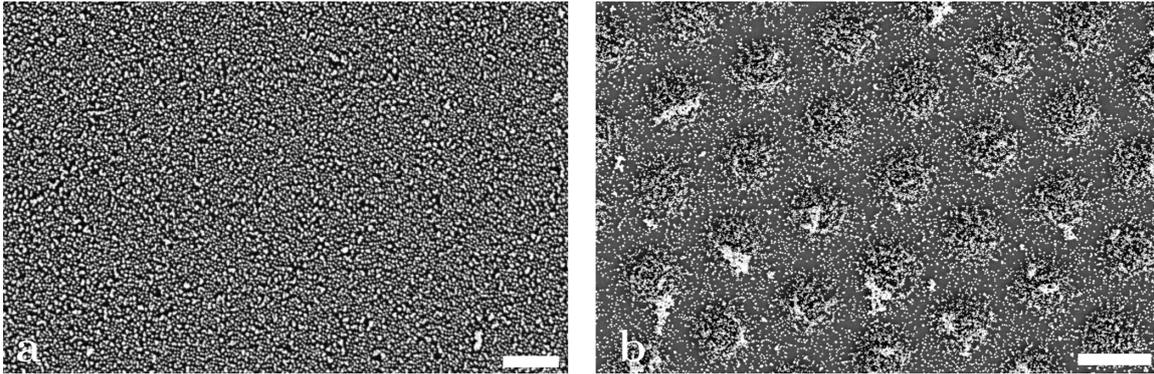


Abbildung 3.2: (a) REM-Bild einer freien Glasoberfläche nach Silanisierung mit APTES und Inkubation in einer wässrigen AuNP-Lösung. Die homogene Bedeckung der Oberfläche mit Goldnanopartikeln (helle Punkte) zeigt die erfolgreiche Funktionalisierung. Maßstab:  $0,6 \mu\text{m}$  (b) Bei gleicher Behandlung zeigt eine Glasoberfläche mit PolyNIPAM-Kolloiden (dunkle Kreise) eine deutlich schwächere Bedeckung. Maßstab:  $1 \mu\text{m}$ .

in einem Exsikkator mit einer kleinen Menge flüssigen Silans eingeschlossen. Anschließend wurde der Exsikkator evakuiert, um das Silan in die Gasphase zu bringen. Nach einer halbstündigen Inkubation wurden die Proben entnommen und im Ofen zur Stabilisierung der Silanbindung erhitzt. Das Verfahren wurde im Rahmen dieser Arbeit für die Silane 3-Aminopropyltrimethoxysilan (APTES) und (3-Mercaptopropyl)-Trimethoxysilan angewendet.

Um den Erfolg der Silanisierung zu überprüfen, wurden zudem unstrukturierte Glassubstrate silanisiert, 30 min in einer wässrigen Goldnanopartikel-Lösung inkubiert und anschließend in deionisiertem Wasser gespült. Abb. 3.2-a zeigt das Ergebnis einer solchen Behandlung nach Silanisierung mit APTES. Offensichtlich hat sich eine dichte Monolage auf der Glasoberfläche gebildet. In einem Vergleichsexperiment mit Glassubstraten, die nicht silanisiert wurden, zeigt sich nach dem Spülen in Wasser hingegen keine Oberflächenbedeckung mit AuNP. Die homogene Bedeckung der Gla-

soberfläche mit AuNP wurde daher als Beweis für den Erfolg der Funktionalisierung gewertet.

Die Silanisierung erwies sich im Allgemeinen als gut reproduzierbar. Es ist jedoch auf die Verwendung sorgfältig gereinigter Glasgeräte (einschließlich Exsikkator), sowie die Einhaltung der in Abschn. 3.2.6 genannten Prozessparameter zu achten. Andernfalls konnte eine inhomogene Bedeckung und die Bildung von Partikel-Aggregaten beobachtet werden. Ersteres ist vermutlich auf die unzureichende Silanisierung der Oberfläche zurückzuführen und letzteres ein Hinweis auf freie Amino- bzw. Mercaptosilane oder Verunreinigungen, die eine Aggregation der AuNP bewirken[177–179]. Bei den mit PolyNIPAM-Kolloiden strukturierten Glassubstraten wurden die AuNP in gleicher Weise an die Oberfläche angebunden. Im Gegensatz zum unstrukturierten Glassubstrat konnte jedoch zu Meist nur eine geringe Oberflächenbedeckung mit AuNP beobachtet werden, wie Abb. 3.2-b zeigt. Hierfür könnte das Schwellverhalten der PolyNIPAM-Kolloide ursächlich sein. In Abb. 3.3 sind Höhenprofile von PolyNIPAM-Kolloiden in Wasser und Luft und gezeigt, welche durch eine AFM-

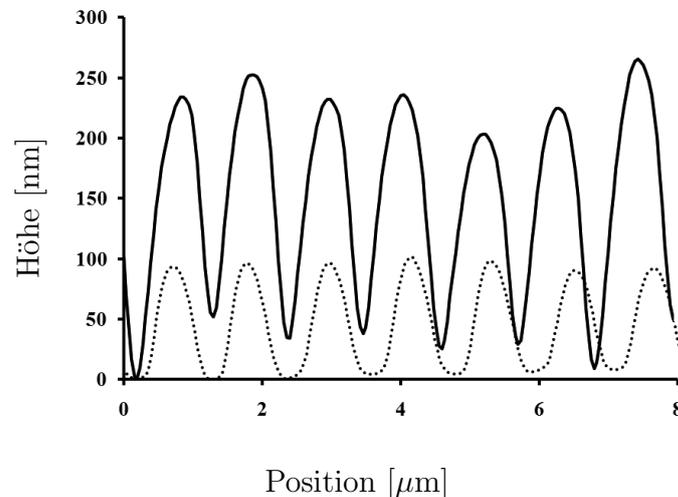


Abbildung 3.3: Höhenprofile von PolyNIPAM-Kolloiden. Der Durchmesser der PolyNIPAM-Kolloide nimmt in wässriger Lösung (durchgezogene Linie) im Vergleich zur Luft (gestrichelte Linie) um einen Faktor  $\sim 2,5$  zu. Es ist anzunehmen, dass damit das Substrat für die AuNP schlechter zugänglich wird und dies die verringerte Oberflächenbedeckung bewirkt.

Messung erhalten wurden. Wie man deutlich erkennt, nimmt der Durchmesser der Kolloide in wässriger Lösung drastisch zu. Es ist sehr wahrscheinlich, dass dadurch der Zugang der AuNP zur Glasoberfläche eingeschränkt wird. Folglich wird eine verringerte Bedeckung des Substrats mit AuNP beobachtet.

Für den folgenden Schritt, die stromlose Goldabscheidung, ist eine hohe Bedeckung der Oberfläche mit AuNP wünschenswert. Um die Bedeckung zu erhöhen, wurde daher zunächst versucht die Proben über einen längeren Zeitraum in der AuNP-Lösung zu inkubieren.

Dieser Weg ist allerdings nicht praktikabel, da bereits bei Inkubationszeiten um 1 h eine deutliche Zunahme der Gitterfehler zu beobachten war. Dabei kam es zum Zusammenballen der PolyNIPAM-Kolloide, wie in Abb. 3.4-a gezeigt. Dieses Verhalten ist vermutlich auf die entropischen Kräfte (*depletion forces*) zurückzuführen, welche durch die AuNP erzeugt werden[180, 181].

Um die Bedeckung der Oberfläche mit AuNP zu erhöhen, ohne die Gitterordnung zu verschlechtern, konnte daher die Inkubationszeit nicht erhöht werden. Aus diesem

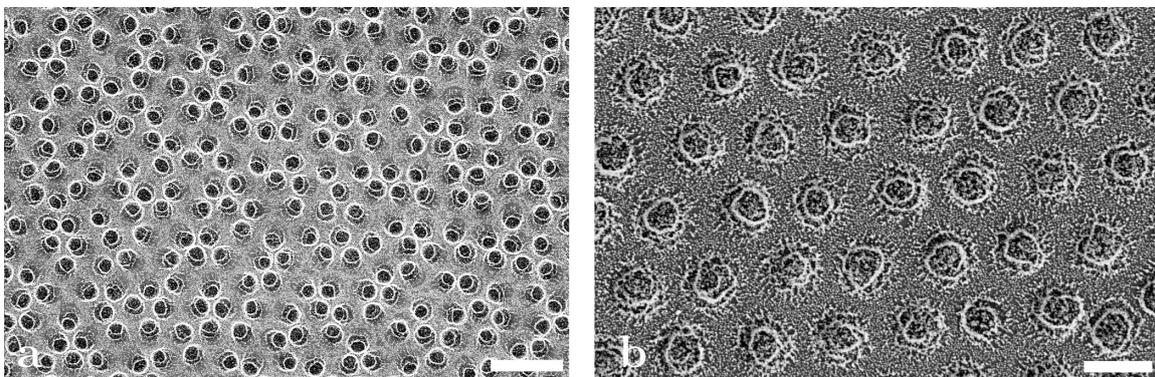


Abbildung 3.4: REM-Bilder von Glasoberflächen mit PolyNIPAM-Kolloiden und AuNP. (a) Nach 1 h Inkubation in einer wässrigen AuNP-Lösung bei Raumtemperatur kommt es zur Störung der Gitterordnung. Maßstab:  $4 \mu\text{m}$  (b) Bei einer Temperatur von  $40^\circ\text{C}$  zeigt sich bereits nach 20 min Inkubation eine hohe Bedeckung ohne Verschlechterung der Ordnung. Maßstab:  $1 \mu\text{m}$

Grund wurde versucht das temperaturabhängige Schwellverhalten von PolyNIPAM auszunutzen. Bei einer kritischen Temperatur von etwa  $32^\circ\text{C}$  weist PolyNIPAM einen Volumen-Phasenübergang auf, so dass die Kolloide oberhalb dieser Temperatur trotz

der wässrigen Umgebung kollabieren. Dieser Zustand ist vergleichbar mit dem trockener Partikel in Luft (vgl. Abb. 3.3). Die Glasoberfläche wird damit für die Anbindung von AuNP besser zugänglich und der diffusive Transport zur Oberfläche wird beschleunigt. Wie in Abb. 3.4-b gezeigt, reicht in diesem Fall eine Inkubationszeit von 20 min aus um eine hohe Bedeckung der Oberfläche mit AuNP zu erzielen.

### 3.3.3 Ablösen der PolyNIPAM-Kolloide

Im Anschluss an die AuNP-Anbindung kann der als Maske fungierende kolloidale Kristall entfernt werden. Hierbei zeigte sich, dass die Kolloide relativ fest an der Oberfläche adhären. Unter Ultraschall und/oder Erwärmen (30 - 100 °C) wurde versucht eine Ablösung der Kolloide herbeizuführen. Dabei kamen verschiedene wässrige Lösungen<sup>2</sup> und verschiedene organische Lösungsmittel<sup>3</sup> zum Einsatz. Überraschenderweise wur-

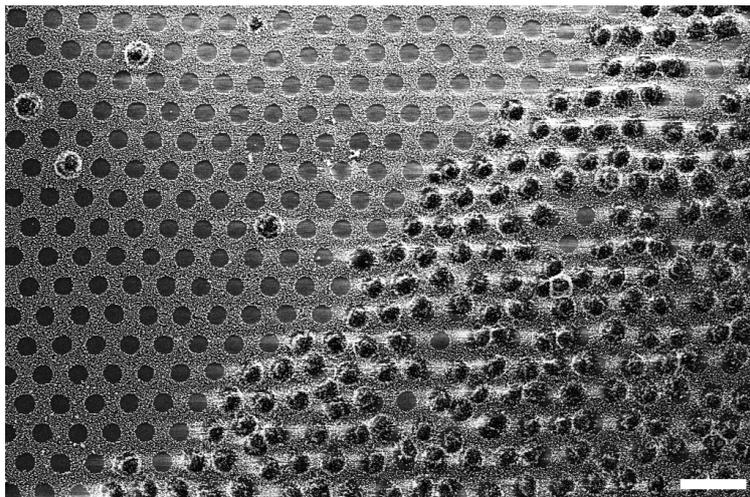


Abbildung 3.5: REM-Bild der Oberfläche nach 30 min Ultraschall im Wasserbad. Die Kolloide sind nur in begrenzten Arealen abgelöst. Maßstab: 2 µm.

de dabei praktisch keine Ablösung der Kolloide beobachtet. Nur im Ultraschallbad konnte in Methanol, Ethanol und Wasser eine Ablösung der Kolloide in begrenzten Arealen erreicht werden, wie Abb. 3.5 zeigt.

<sup>2</sup>Natriumdodecylsulfat, verschiedene Salze und verdünnte Säuren und Basen, wie H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> oder KOH

<sup>3</sup>Methanol, Ethanol, Isopropanol, Aceton, Diethylether, Chloroform, Cyclohexan und n-Hexan

Bei längeren Verweildauern ( $\sim 1$  h) im Ultraschallbad konnte die Ablösung verstärkt werden. Auf Glassubstraten mit einer AuNP-Monolage konnte allerdings auch gezeigt werden, dass sich AuNP unter extensiven Ultraschall ablösen. Erste deutlich Effekte treten nach etwa 1 h Ultraschall auf, wie in Abb. 3.6 gezeigt ist. Somit sollten die Proben nach Möglichkeit für einen deutlich kürzeren Zeitraum dem Ultraschallbad ausgesetzt werden.

Schließlich zeigte sich, dass in einer binären Mischung aus Methanol und Wasser (95:5 (v/v)) eine vollständige Ablösung der Kollodie bereits nach 20 min Ultraschall erreicht werden kann, wie in Abb. 3.8-a gezeigt ist. Auf diese Weise kann eine Ablösung der Kollodie bei intakter AuNP-Monolage gewährleistet werden.

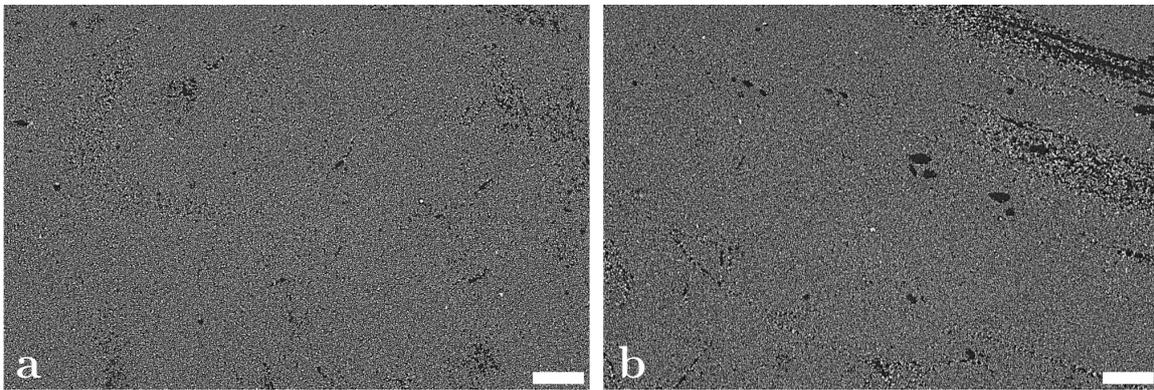


Abbildung 3.6: REM-Bilder von AuNP-Monolagen nach Ultraschall im Wasserbad. (a) Nach 1 h Ultraschall kommt es in kleinen Bereichen zur Ablösung der Partikel (dunkelgraue Bereiche im Bild). (b) Nach 2 h sind die Bereiche in denen sich Partikel abgelöst haben deutlich größer geworden. Maßstäbe: 1  $\mu\text{m}$

### 3.3.4 Stromlose Goldabscheidung und Filmglättung

Die in Abb. 3.8-a gezeigten AuNP können als Nukleationskeime für die chemische Abscheidung von Gold dienen. Bei diesem chemischen Prozess katalysiert elementares Gold die Reduktion einer in Lösung befindlichen oxidierten Gold-Spezies, wohingegen die Reduktion in der Lösung kinetisch gehemmt ist. Auf diese Weise können die Nanopartikel selektiv vergrößert werden, so dass sich ein homogener Goldfilm bildet.

Zu diesem Zweck wurden die Proben in einer wässrigen Lösung mit dem Reduktionsmittel  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  und dem Goldsalz  $\text{HAuCl}_4\cdot 3\text{xH}_2\text{O}$  inkubiert. Dabei war das Goldsalz im Überschuss vorhanden, so dass die Dicke des Goldfilms über die Stoffmenge des eingesetzten Reduktionsmittels eingestellt werden konnte. Um den Zusammenhang zwischen Schichtdicke und eingesetztem Reduktionsmittel zu quantifizieren, wurden mit AuNP dekorierte Glassubstrate für 1 h bei unterschiedlichen Stoffmengen  $n$  an  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  inkubiert. Anschließend wurde der gebildete Goldfilm mit einem Skalpell geritzt und die Schichtdicke  $h$  im AFM bestimmt. Wie aus Abb. 3.7 hängt  $h$  linear mit  $n$  zusammen. Die lineare Abhängigkeit wird mit folgender Funktion gut wiedergegeben ( $R^2 = 0.9975$ ):

$$h = \left( 39,6 \pm 0,9 \frac{\text{nm}}{\text{mol}} \right) n - (5 \pm 5 \text{ nm}) \quad (3.1)$$

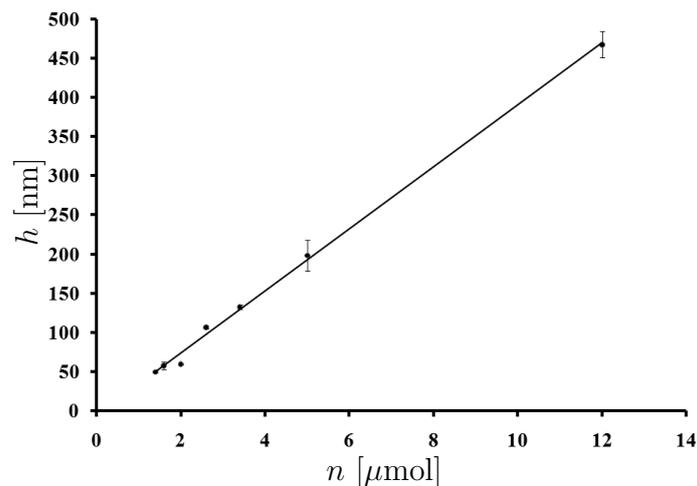


Abbildung 3.7: Zusammenhang zwischen Filmdicke  $h$  und eingesetzter Stoffmenge  $n$  des Reduktionsmittels Hydroxylaminhydrochlorid. Jeder Datenpunkt zeigt den Mittelwert von 6 unabhängigen AFM-Messungen. Wie erwartet hängen  $h$  und  $n$  linear zusammen (siehe Text für Details).

Mit Hilfe der aus Abb. 3.7 gewonnenen Erkenntnisse wurden die AuNP vergrößert, so dass ein Lochgitter in einem Goldfilm mit definierter Schichtdicke erhalten wurde. Abb. 3.8 zeigt REM-Bilder des Gitters vor und nach der stromlosen Goldabscheidung. In der Abbildung wird auch deutlich, dass der Goldfilm eine hohe Oberflächenrauheit

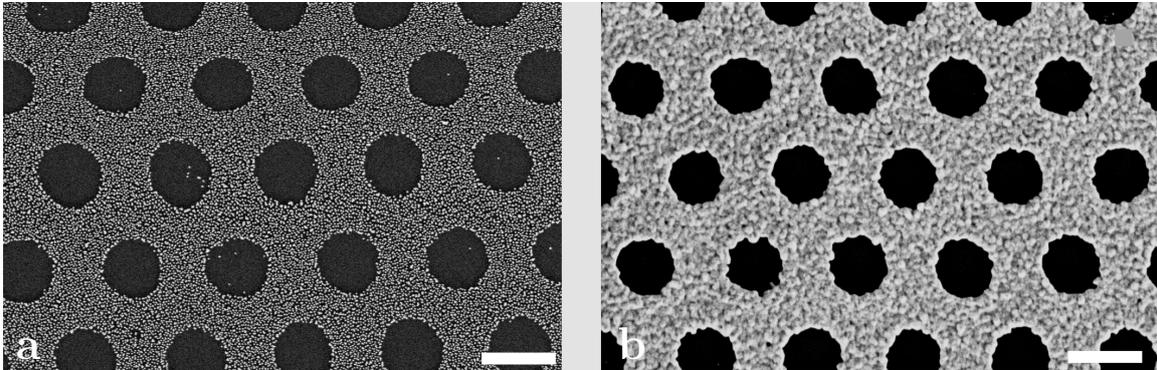


Abbildung 3.8: REM-Bilder der erhaltenen Lochgitter im Goldfilm. (a) Oberfläche nach 20 min im Ultraschallbad, in einer binären 95:5 (v/v) Mischung aus Methanol und Wasser. Die PolyNIPAM-Kolloide sind vollständig abgelöst. Die zurückbleibende Struktur (eine periodisch perforierte AuNP-Monolage) dient als Substrat für die SG. (b) Nach der SG hat sich ein konfluenter Goldfilm gebildet, der an den ursprünglichen Positionen der PolyNIPAM-Kolloide perforiert ist. Maßstäbe:  $0,8 \mu\text{m}$ .

aufweist. Dies folgt notwendigerweise aus der Tatsache, dass der Film durch Vergrößerung einer Monolage aus AuNP entstanden ist, welche die körnige Struktur des Films bestimmen. Der Film kann durch Tempern auf einfache Weise geglättet werden. Dabei wird der Goldfilm mehrmals für kurze Zeit durch eine Bunsenbrennerflamme gezogen. Die hohe Oberflächenrauheit des Goldfilms stellt einen energetisch ungünstigen Zustand dar. Durch das Erhitzen der Oberfläche wird die nötige Energie bereitgestellt, um den körnigen Film in einen glatten Film zu überführen. Abb. 3.9 zeigt den Goldfilm vor und nach dem Tempern in einer Bunsenbrenner-Flamme. Dabei ist auch die quadratische Rauheit angegeben, welche aus AFM-Messungen erhalten wurde. Offensichtlich kann durch das Tempern die Oberflächenrauheit drastisch reduziert werden.

Um die Handhabung und den Durchsatz dieser Behandlung zu verbessern, wurde auch das Tempern im Ofen angedacht. Bei Ofentemperaturen  $< 400^\circ\text{C}$  und Inkubationszeiten von bis zu 24 h zeigte sich allerdings keine signifikante Änderung der Körnigkeit des Films.

Eine deutliche Veränderung der Oberflächenrauheit kann erst bei höheren Temperatu-

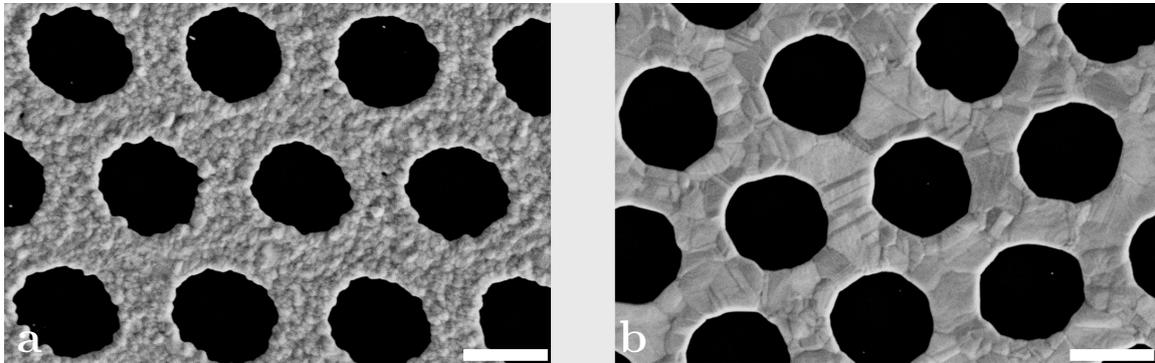


Abbildung 3.9: REM-Bilder des Goldfilms vor und nach Tempern in einer Bunsenbrenner-Flamme. (a) Vor dem Tempern ist die grobe Körnung des Films deutlich zu erkennen. Die quadratische Rauheit beträgt  $9 \pm 2$  nm (b) Nach dem Tempern erscheint der Film deutlich glatter und weniger körnig. AFM-Messungen bestätigen eine Abnahme der quadratischen Rauheit auf  $5 \pm 1$  nm. Maßstäbe:  $0,6 \mu\text{m}$ .

ren beobachtet werden. Diese geht allerdings mit einer Entnetzung des Goldfilms, wie in Abb. 3.10 gezeigt ist. Ein Grund für die Entnetzung ist vermutlich die Zerstörung der C-C Bindungen des APTES bei hohen Temperaturen. Damit geht die Aminofunktionalisierung des Glassubstrats verloren und der Goldfilm kann nicht mehr am Glas haften. Der Vorteil des Temperns in einer Bunsenbrenner-Flamme ist möglicherweise, dass sich die Erhitzung des Films vor allem auf die Oberfläche beschränkt und damit die Funktionalisierung erhalten bleibt. Der Nachteil dieser Methode ist allerdings der geringe Durchsatz, da immer nur eine Probe allein behandelt werden kann.

### 3.3.5 Einstellung der Gitterkonstante

Das Herstellungsverfahren der Lochgitter wurde bis zu diesem Punkt am Beispiel von PolyNIPAM-Kolloiden mit einem Durchmesser von  $d \simeq 1200$  nm vorgestellt. Da der Kolloid-Durchmesser und die Gitterkonstante  $L$  des erhaltenen Lochgitters identisch sind, war daher auch  $L \simeq 1200$  nm. Somit lassen sich kleinere Gitterkonstanten erreichen, indem kleinere Kolloide eingesetzt werden. Die in diesem Kapitel beschriebenen Schritte lassen sich dabei prinzipiell übertragbar. Zu beachten ist allerdings, dass es im Verlauf der SG aufgrund des Wachstums der AuNP zur Verkleinerung der Loch-

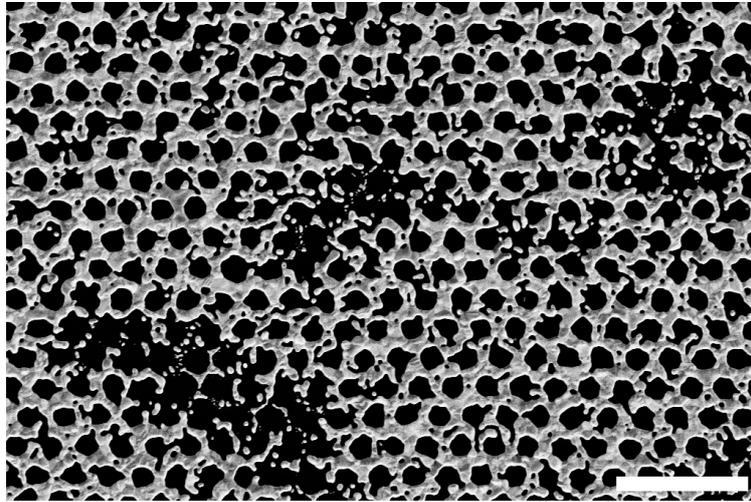


Abbildung 3.10: REM-Bilder des Goldfilms nach dem Tempern im Ofen. Bei einer Ofentemperatur von 400 °C wird die Oberflächenrauheit zwar reduziert, allerdings entnetzt der Goldfilm, wodurch die Struktur des Lochgitters verloren geht. Maßstab: 4  $\mu\text{m}$ .

durchmesser kommt. So nimmt die Lochfläche in Abb. 3.8 zum Beispiel von  $\sim 0,4 \mu\text{m}^2$  auf  $\sim 0,28 \mu\text{m}^2$  ab. Somit sind  $\sim 0,12 \mu\text{m}^2$  im Verlauf der SG zugewachsen.

Das Zuwachsen der Löcher eröffnet die Möglichkeit die Lochgröße im Verlauf der SG zu steuern. Bei kleineren PolyNIPAM-Kolloiden kann es allerdings auch zu einem kompletten Verschluss der Löcher kommen. So führen die nächst kleineren PolyNIPAM-Kolloide, welche in dieser Arbeit verwendet wurden, auf ein Lochgitter in einer AuNP-Monolage mit  $L = 695 \text{ nm}$  und einer Lochfläche von  $\sim 0,126 \mu\text{m}^2$ . Damit sind die Löcher so klein, dass sie im Verlauf der SG zuwachsen.

Um dies zu vermeiden, können die PolyNIPAM-Kolloide auch erst nach der SG entfernt werden. Dies ist allerdings nicht mehr mittels Ultraschall möglich, da die Kolloide im Goldfilm integriert sind. Ein alternativer Weg ist die Pyrolyse der Kolloide. Hierzu wird die Probe mehrfach durch eine Bunsenbrenner-Flamme geführt, wodurch das organische Material verbrannt wird. Damit kombiniert dieser Schritt das Entfernen der PolyNIPAM-Kolloide und die Filmglättung.

Das Entfernen der Kolloide nach der SG bringt allerdings einen Nachteil mit sich. Wie wir in Abb. 3.4-b sehen können, binden die AuNP auch an die Oberfläche der

PolyNIPAM-Kolloide. Wie in Abb. 3.11-a gezeigt, bleiben dadurch Goldreste nach der Pyrolyse in den Löchern zurück. Da dies eine Verschlechterung der Transmittivität

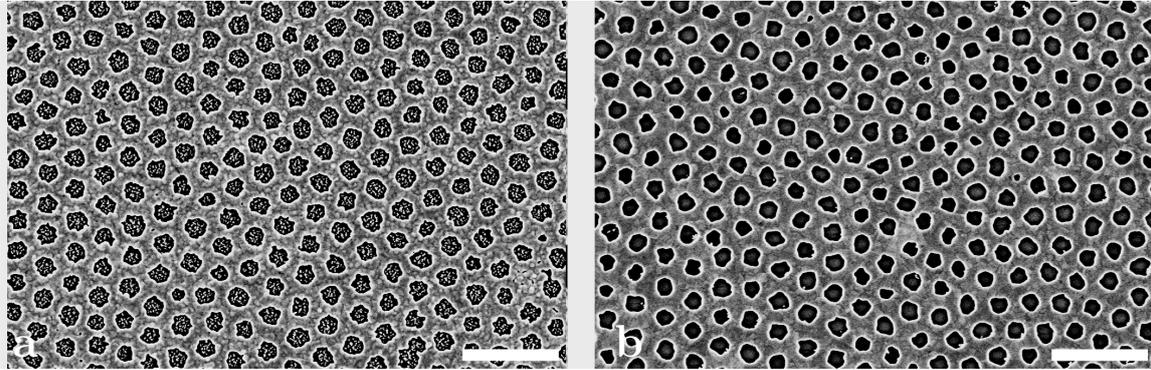


Abbildung 3.11: REM-Bilder eines Lochgitters mit  $L \simeq 623$  nm. (a) Direkt nach der SG und Pyrolyse der Kolloide in einer Bunsenbrennerflamme. Die Goldreste in den Löchern sind als helle Punkte zu erkennen. (b) Nach Inkubation in einer verdünnten, wässrigen KI/I<sub>2</sub>-Lösung. Die Löcher sind nun frei von Goldresten. Maßstäbe: 2  $\mu$ m.

des Lochgitters nach sich zieht, müssen die Goldreste entfernt werden.

Wie sich zeigte, ist es schwierig das unerwünschte Gold aus den Löchern herauszulösen. Eine Behandlung der Probe im Ultraschallbad, *Cup-Horn-Sonifier* und Erhitzen in Gegenwart von Thiolen zeigte keine Wirkung. In einem anderen Ansatz wurde daher versucht die Goldreste durch chemisches Ätzen aufzulösen. Um möglichst milde Ätzbedingungen zu erzeugen, welche den Goldfilm nicht schädigen, wurde die Oberfläche in einer verdünnten, wässrigen KI/I<sub>2</sub>-Lösung inkubiert. In Abb. 3.11-b ist gezeigt, dass hierdurch die Goldreste in den Löchern vollständig aufgelöst werden können. Der Goldfilm bleibt dabei intakt.

Mit Hilfe dieses leicht abgewandelten Verfahrens wurden Lochgitter mit verschiedenen Gitterkonstanten hergestellt, wie Abb. 3.12 zeigt. Der Lochdurchmesser ist dabei nicht unabhängig von der Gitterkonstanten  $L$  und wird durch die Schwellrate  $SR$  des Kolloids vorgegeben.  $SR$  ist durch das Verhältnis des Kolloid-Durchmesser in Wasser  $D_{Wasser}$  zum Durchmesser in Luft  $D_{Luft}$  gegeben. Unter der Annahme, dass  $SR$  unabhängig vom Durchmesser der PolyNIPAM-Kolloide ist und darüber hinaus für die Gitterkonstante  $L$  und den Lochdurchmesser  $d$  gilt:  $L \simeq D_{Wasser}$  und  $d \simeq D_{Luft}$ ,

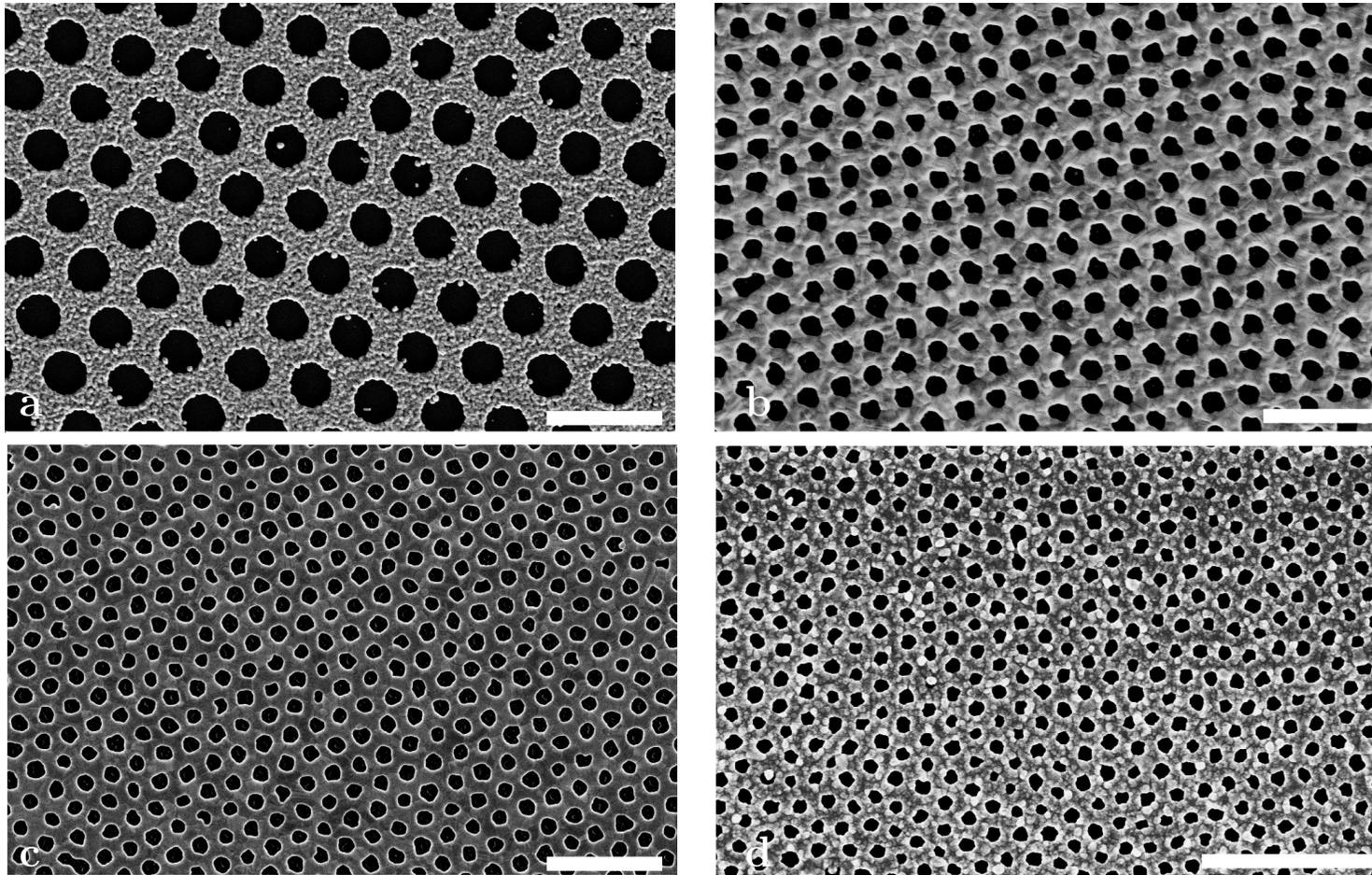


Abbildung 3.12: REM-Bilder von Lochgittern mit verschiedenen Gitterkonstanten. (a)  $L = 1153 \pm 40$  nm,  $d = 728 \pm 72$  nm (b)  $L = 623 \pm 35$  nm,  $d = 334 \pm 27$  nm (c)  $L = 441 \pm 24$  nm,  $d = 246 \pm 44$  nm (d)  $L = 312 \pm 26$  nm,  $d = 146 \pm 26$  nm. Die Gitterkonstante  $L$  wurde mittels Bildanalyse bestimmt (vgl. 2). Maßstäbe:  $2 \mu\text{m}$ .

ergibt sich für den Lochdurchmesser  $d = \frac{L}{SR}$ . Das heißt, dass man kleinere Lochdurchmesser bei kleineren Gitterkonstanten erhält. Darüber hinaus fällt auf, dass sich die Zirkularität der Löcher mit abnehmendem Durchmesser verringert. Dies kann mit der endlichen Größe der AuNP erklärt werden. Bei großen PolyNIPAM-Kolloiden können die AuNP die Kontur der Kolloide gut nachbilden. Je ähnlicher die Durchmesser der AuNP und der PolyNIPAM-Kolloide werden, desto schlechter wird die Auflösung mit der die Kontur nachgebildet wird.

In diesem Kapitel wurden zweidimensionale Kristalle aus PolyNIPAM-Kolloiden als lithographische Maske für die Herstellung von Lochgittern in Goldfilmen erfolgreich eingesetzt. Die dabei erzeugten Lochgitter haben Gitterkonstanten zwischen  $\sim 300 - 1200$  nm, mit Lochdurchmessern zwischen  $\sim 150 - 730$  nm. Die Dimensionen des Gitters werden dabei hauptsächlich durch die Dimensionen der eingesetzten PolyNIPAM-Kolloide festgelegt.

Mit geeigneten Nachbehandlungs-Schritten konnte die Qualität der erzeugten Strukturen weiter verbessert werden. So wurde die Oberflächenrauheit durch Tempern in einer Bunsenbrenner-Flamme verringert und metallische Einschlüsse in den Löchern durch chemisches Ätzen selektiv entfernt. Der hier entwickelte Herstellungsprozess basiert gemäß der Zielsetzung ausschließlich auf chemischen Methoden. Das Verfahren stellt damit eine besonders kostengünstige Hochdurchsatz-Methode dar und die Prozessschritte können in jedem Standard Chemie-Labor durchgeführt werden.

## 4 Optische Eigenschaften von Lochgittern in Goldfilmen

Die optischen Eigenschaften der in Kapitel 3 gezeigten Lochgitter wurden untersucht. Die Lochgitter zeigen in Abhängigkeit von der Gitterkonstante Resonanzen im sichtbaren Wellenlängenbereich bis hin zum nahen Infrarot mit Transmissionseffizienzen von 1,5 - 2.

Wie sich zeigte, ist die Transmission der Lochgitter von der Ordnung abhängig. So führt eine Abnahme der Ordnung zu einer Rotverschiebung der Transmissionsmaxima, einer Abnahme der Transmissionseffizienz und einer verminderten Auflösung spektraler Signaturen. Überraschenderweise tritt eine Transmissionsverstärkung aber selbst dann noch auf, wenn keine langreichweitige Ordnung mehr vorliegt. Eine niedrige Ordnung führt zudem zu einer stärkeren Variation der Spektren in Abhängigkeit vom Messpunkt auf der Probe.

Zudem wurde die Sensitivität der Lochgitter untersucht, welche je nach der betrachteten spektralen Signatur und der Gitterkonstante des Lochgitters zwischen 300 - 800 nm/RIU liegt. Somit ist die Sensitivität der erzeugten Lochgitter vergleichbar mit Lochgittern, welche mit Standard-Lithographieverfahren hergestellt wurden.

Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die Sensitivität der Transmissionsmaxima nicht von der Ordnung des Gitters abhängt. Allerdings zeigen Transmissionsminima eine etwas höhere Sensitivität. Da die Minima nur bei hoch geordneten Lochgittern gut aufgelöst sind, ist mit hoch geordneten Gittern insgesamt eine höhere Brechungsindex-Sensitivität gegeben.

## 4.1 Einleitung

Wie in Kapitel 1.1.1 erläutert, zeigen Lochgitter in Metallfilmen überraschende Transmissionspektren. Diese können durch Variation der strukturellen Parameter des Lochgitters gezielt beeinflusst werden.

Eine der wichtigsten Größe ist dabei die Gitterkonstante  $L$ , da diese nach Gl. 1.6 linear mit der Position der Transmissionsmaxima zusammenhängt:

$$\lambda_{OPP} = \frac{L}{\sqrt{n^2 + m^2}} \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d}} \quad (4.1)$$

Darin sind  $\epsilon_m$  und  $\epsilon_d$  die Permittivitäten des Metalls bzw. des Dielektrikums und  $n$ ,  $m$  sind ganzzahlige Variablen. Durch eine geeignete Wahl von  $L$  können somit die Transmissionsmaxima in dem gewünschten Wellenlängenbereich positioniert werden. So wurden je nach Anwendung Lochgitter mit Resonanzen im sichtbaren Wellenlängenbereich[51], mittleren Infrarot[182] bis hin zum fernen Infrarot[183] hergestellt.

Auch die Wahl des Metalls beeinflusst die Transmissionseigenschaften. Dabei nimmt mit zunehmender Absorption des Metalls (gegeben durch den Imaginärteil der Permittivität des Metalls) die Intensität der Transmissions-Peaks ab und die Linienbreite zu[169, 184–188]. So zeigen Metalle mit hohen Ohm'schen Verlusten, wie Ni oder Cr, deutlich niedrigere Peaks als bspw. Au, Ag oder Cu.

Auch die Schichtdicke des Metallfilms beeinflusst die Transmission wie Degiron et al. zeigten[189]. Hierbei wurde die Transmission von Lochgittern in optisch dicken Ag-Filmen im nahen Infrarot untersucht. Dabei zeigte sich, dass die Transmission mit abnehmender Schichtdicke exponentiell zunimmt. Dies wurde mit dem exponentiellen Abfall der Intensität der Wellenleitermode erklärt (Licht muss durch die Löcher tunneln). Für Schichtdicken  $< 200$  nm nimmt die Transmission weniger stark zu und es kommt zu einer Verbreiterung der Peaks. Als Ursache hierfür wurde die Kopplung der OPP-Moden an den beiden Grenzflächen angeführt. Die Kopplung bewirkt eine Aufspaltung der Peaks, die im Transmissionsspektrum allerdings nicht aufgelöst werden kann und somit zur beobachteten Verbreiterung führt.

Daneben spielt auch die Lochform und -größe eine Rolle. Bei einer Vergrößerung der Löcher kommt es zu einer Zunahme der Höhe und der Linienbreite der Transmissions-Peaks[190, 191]. Diese Beobachtung lässt sich erklären, wenn man an-

nimmt, dass die Strahlungsdämpfung der OPP-Moden durch Streuung an den Löchern stattfindet[192, 193]. Wie van der Molen et al. zeigen konnten, beeinflusst die Lochgröße auch die spektrale Position der Transmissions-Peaks[194]. So zeigte sich bei einer Reduktion der Lochgröße von 286 auf 148 nm eine Blauverschiebung des ersten Resonanz-Peaks um  $\Delta\lambda \sim 30$  nm.

Die Rolle der Lochform wird deutlich, wenn man von quadratischen oder zirkulären Löchern zu rechteckigen Löchern übergeht. Hierbei konnte eine Erhöhung der normierten Transmission um eine Größenordnung und eine starke Rotverschiebung des ersten (1,0)-Peaks beobachtet werden[195, 196]. Zudem entsteht eine starke Polarisationsanisotropie zwischen der Polarisation entlang der langen Achse der Löcher und der Polarisation senkrecht dazu. Diese Anisotropie ist auch bei elliptischen Löchern beobachtet worden[197]. Auch exotischere Lochformen wurden untersucht. Dazu gehören beispielsweise H- und kreuzförmige Löcher, bei denen die *cut-off* Wellenlänge rotverschoben ist[198, 199]. Außerdem wurden Gitter aus Doppel-Löchern hergestellt, welche gerade überlappen. In den entstehenden Scheitelpunkten führt dies zu einer zusätzlichen Feldverstärkung[200], welche zum Beispiel zur Verstärkung nicht linearer optischer Effekte genutzt werden kann.

Die Transmission wird darüber hinaus auch durch die Gittersymmetrie beeinflusst. Bei periodischen Gittern folgt, wie auch in Kapitel 1.1.1 gezeigt, die Position der Resonanzen aus der Impulserhaltung für ein OPP in einem zweidimensionalen Gitter[201]. Doch auch quasi-periodische Gitter, welche keine Translationssymmetrie aufweisen, können eine verstärkte Transmission zeigen[202, 203]. Die spektralen Positionen der Transmissionsmaxima korrelieren dabei mit Peaks im Beugungsmuster des quasiperiodischen Gitters.

Es gibt eine Reihe von Anwendungsfeldern für Lochgitter in metallischen Filmen. Ein wichtiges Beispiel ist dabei die Polarisationskontrolle. Wie oben bereits angesprochen, kann die Polarisation des transmittierten Lichts durch die Lochform beeinflusst werden. Daneben kann auch die Gitteranordnung die Polarisation beeinflussen, da die Oberflächenwellen in Richtung des E-Feldes der einfallenden Welle gestreut werden[204]. So konnte mit Hilfe von biaxialen Gittern unpolarisiertes Licht linear polarisiert werden[205]. Dabei wurde die Gitteranordnung so gewählt, dass eine Polarisationsrichtung resonant ist, während die dazu senkrechte Richtung keine Resonanz

zeigt. Darüber hinaus kann durch den Einsatz schraubenförmiger Löcher die Polarisation einer einfallenden linear polarisierten Welle gedreht oder elliptisch polarisiertes Licht erzeugt werden, wie im sub-THz-Bereich gezeigt wurde[206].

Daneben können mit Lochgittern verschiedene optische Prozesse verstärkt werden. Analog zu den in Kapitel 1.1.1 beschriebenen plasmonischen Materialien tritt bei Lochgittern in Metallfilmen eine resonante Verstärkung der optischen Felder auf. Bei Fluoreszenzmolekülen, welche in den Löchern adsorbiert wurden, konnte beispielsweise eine Verstärkung der Emission um den Faktor 40 beobachtet werden[207].

Auch die Ramanstreuung kann an Lochstrukturen erhöht werden. Von einer Verstärkung um einen Faktor 100-1000 wurde berichtet[208, 209].

Die Fähigkeit von Lochgittern die Absorption zu verstärken, wurde im Rahmen der Infrarotspektroskopie untersucht[210–213]. So konnte bei selbstassemblierten Monolagen auf einem Lochgitter aus Cu eine 300-fach verstärkte Absorption beobachtet werden. Die Verstärkung ist dabei auf die Felderhöhung und die vergrößerte Pfadlänge (durch die parallel zur Oberfläche laufenden OPP) zurückzuführen[213].

Lochgitter in Metallfilmen lassen sich auch als Filter für elektromagnetische Strahlung einsetzen. In solaren Absorbern kann man Lochgitter nutzen, um thermische Verluste durch Schwarzkörperstrahlung zu vermindern. Dabei wird ein Lochgitter, welches für sichtbares Licht transparent ist, vor eine Absorberschicht platziert. Der durch die Absorption von Licht aufgeheizte Absorber kann die Wärmeenergie nicht abstrahlen, da das Lochgitter für infrarote Strahlung nicht transparent ist[214–216]. In ähnlicher Weise eignen sich die Lochgitter auch als Farbfilter für sichtbares Licht[217] oder zur Selektion eines gewünschten Wellenlängenbereichs bei thermischen Emittoren[218, 219]. Außerdem ist es möglich, die gefilterte Wellenlänge zu kontrollieren. So wurden im THz-Bereich nematische Flüssigkristalle eingesetzt, um mit Hilfe eines magnetischen Feldes den Brechungsindex und damit die Position der Transmissionsmaxima zu schalten[220]. Auch ein optisches Schalten ist möglich, beispielsweise durch den Einsatz eines Photoisomers. Dabei bewirkt die Änderung der Absorption und des Brechungsindex der isomerisierten Moleküle eine Änderung der Transmission[221].

Ein wichtiger Anwendungsbereich ist auch der Einsatz von Lochgittern in metallischen Filmen als Oberflächenplasmonen-Resonanz-Sensor. Wie Krishnan et al. zuerst demonstrierte, hängt die Position der Transmissionsmaxima des Lochgitters vom

Brechungsindex des umgebenden Mediums ab und macht die Lochgitter damit zu einem guten Kandidaten für den Einsatz als chemische Sensoren[217, 222]. Der Einsatz von planaren Goldfilmen als Oberflächenplasmonen-Resonanz-Sensor ist eine lang etablierte Methode in der Chemie, Biochemie und Biomedizin[223]. Die Sensitivität typischer Aufbauten liegt dabei im Bereich von 3100 - 8000 nm/RIU[64]. Dieser Technologie gegenüber weisen Lochgitter eine Reihe von Vorteilen auf. Vor allem die Möglichkeit in Transmission zu messen ist beim Design von Oberflächenplasmonen-Resonanz-Geräten von Vorteil[224]. In den ersten Arbeiten konnte mit Lochgittern nur eine Sensitivität von 400 - 800 nm/RIU erreicht werden[70, 225].

Durch einen veränderten optischen Aufbau konnte die Sensitivität jedoch drastisch verbessert werden. Hierbei wurden gekreuzte Polarisatoren eingesetzt. Dadurch lässt sich die Oberflächen-medierte Transmission von der direkten Transmission isolieren, wodurch schärfere und höher symmetrische Transmission-Peaks erhalten werden[226–228]. Die Sensitivität der Methode wird dabei mit der Oberflächenplasmonen-Resonanz auf planaren Goldfilmen vergleichbar. Die Sensitivität kann weiter erhöht werden, indem die Antwort auf ein Bindeereignis verstärkt wird. So wurden in *Sandwich-Assays* die Detektionsantikörper an Goldnanopartikel gekoppelt und die Sensitivität beim Nachweis von Proteinen damit um einen Faktor 3 erhöht[160].

Neben einer Verschiebung der Transmissionsmaxima kann auch die Intensitätsvariation eines monochromatischen Strahls detektiert werden[229]. Die Wellenlänge des Strahls liegt dabei vorzugsweise innerhalb der steilsten Kante des Resonanzpeaks. Durch Störeffekte welche ebenfalls die Intensität beeinflussen, wie beispielsweise die Streuung von Partikeln in der Lösung, wird dieser Ansatz allerdings limitiert. Durch den Einsatz von biaxialen Gittern mit verschiedenen Resonanzpeaks für verschiedene Polarisationsrichtungen und eine entsprechende Analyse der Signale ist es jedoch möglich, die Störsignale von dem eigentlichen Bindesignal zu trennen[230].

Darüber hinaus können Lochgitter ein verbessertes Detektionslimit bieten, da das Signal von einer kleinen Fläche herrührt. Dabei konnten attomolare Detektionslimits ( $10^{-18}$  mol/L) gezeigt werden[231]. Um dies zu erreichen, wurde beispielsweise die Oberfläche des Lochgitters mit einer dielektrischen Schicht ( $\text{SiO}_x$ ) beschichtet, so dass nur innerhalb der Löcher eine Bindung stattfinden konnte [232].

In diesem Kapitel sollen nun die optischen Eigenschaften der in Kapitel 3 gezeigten Lochgitter untersucht werden. Da zur Herstellung ein kolloidaler Lithographie-Ansatz gewählt wurde, sind die Gitter in der Regel einer gewissen Unordnung unterworfen. Ein besonderer Fokus dieses Kapitels liegt daher auf der Untersuchung des Einfluss der Ordnung auf die Transmission des Gitters. Außerdem soll die Sensitivität der Lochgitter bestimmt werden. Dies ermöglicht es die Leistungsfähigkeit des Herstellungsverfahrens im Vergleich zu Standard-Lithographie-Verfahren einordnen zu können.

## 4.2 Material und Methoden

### 4.2.1 Messung der Transmission von Lochgittern

Alle Transmissionsspektren wurden mit Hilfe eines Cary 5000 UV-VIS-NIR Spektrometer (Varian, USA) aufgezeichnet. Hierzu wurde die Probe vor eine Lochblende mit einer Apertur von 1 mm Durchmesser montiert. Die Oberfläche der Probe war dabei senkrecht zum Strahlengang ausgerichtet (normaler Lichteinfall). Die Messung wurde im *double-beam-mode* mit einer Abtastrate von 600 nm/min, Datenintervall 1 nm, Integrationszeit 0,1 s und SBW 2,0 nm durchgeführt. Hierbei wurde zunächst ein Glassubstrat in beiden Strahlengängen als Nulllinie vermessen. Anschließend wurde die Probe im vorderen Strahlengang positioniert und die Transmission relativ zum Glassubstrat gemessen.

Bei Messungen in Lösung wurden die Glassubstrate bzw. die Probe zunächst in eine 2 mL Küvette mit 2 cm Länge montiert. Die Küvette wurde dann vor einer Blende positioniert und die Transmission in unterschiedlichen Lösungen gemessen.

### 4.2.2 Bestimmung des offenen Flächenanteils und der Ordnung

Um die Transmissionseffizienz berechnen zu können, muss der offene Flächenanteil des Lochgitters bekannt sein. Der offene Flächenanteil der Lochgitter wurde mit Hilfe der Funktion *analyze particles* in ImageJ aus REM-Bilder bestimmt. Die Ordnung wurde analog zu dem in Kapitel 2 beschriebenen Vorgehen bestimmt.

Eine akkurate Bestimmung setzt allerdings voraus, dass die Transmissionsmessung

und die Bestimmung des Flächenanteils bzw. der Ordnung an der gleichen Position auf der Probe erfolgen. Um dies zu gewährleisten, wurden die Proben nach der Transmissionsmessung zusammen mit der Blende in die Probenkammer des Elektronenmikroskops eingeschleust. So wurde sichergestellt, dass die REM-Aufnahmen nur aus dem Bereich der Probe stammen, welcher für das Transmissionsspektrum ausschlaggebend ist. Die erzeugten Bilder entsprachen dabei etwa 5% der Gesamtfläche an zufälligen Positionen.

### 4.2.3 Bestimmung des Brechungsindex

Um die Abhängigkeit der Transmission der Lochgitter vom Brechungsindex zu untersuchen, wurde die Transmission bei senkrechtem Lichteinfall in verschiedenen Lösungsmitteln gemessen. Bei Lochgittern mit Resonanzen im sichtbaren Wellenlängenbereich, wurden dabei wässrige Glucose-Lösungen eingesetzt. Die entsprechenden Brechungsindizes wurden in einem Abbe-Refraktometer direkt bestimmt.

Für Lochgitter mit Resonanzen im nahen Infrarot mussten Lösungsmittel eingesetzt werden, die in diesem Spektralbereich wenig absorbieren. Hierbei kamen verschiedene organische Lösungsmittel zum Einsatz. Dabei waren die Brechungsindizes von 1,1,2-Trichloro-Trifluoro-Ethan und Toluol in der Literatur für einen weiten Wellenlängenbereich tabelliert und konnten direkt übernommen werden[233, 234]. Für die Lösungsmittel Aceton, Tetrachlorethen und Cyclohexan waren die Brechungsindizes nicht direkt für den gewünschten Bereich bekannt. Sie wurden daher mit Hilfe der Sellmeier-Dispersionsformel berechnet:

$$n^2(\lambda) = 1 + \frac{B_1\lambda^2}{\lambda^2 - C_1} + \frac{B_2\lambda^2}{\lambda^2 - C_2} + \frac{B_3\lambda^2}{\lambda^2 - C_3} \quad (4.2)$$

Darin sind  $n$  der Brechungsindex,  $\lambda$  die Wellenlänge und  $B_i$  bzw.  $C_i$  freie Koeffizienten, die durch Kurvenanpassung an experimentelle Messwerte bestimmt werden müssen. Tabelle 4.1 zeigt eine Übersicht über die erhaltenen Koeffizienten.

Für den Fit wurden 6000 Datenpunkte zwischen 1350 - 2300 nm (Cyclohexan), 8 Datenpunkte zwischen 546 - 1970 nm (Tetrachlorethen) bzw. 4 Datenpunkte zwischen 539 - 1510 nm (Aceton) eingesetzt.

Tabelle 4.1: Koeffizienten der Sellmeier-Dispersionsformel für verschiedene organische Lösungsmittel. Die Koeffizienten wurden durch Kurvenanpassung bestimmt.

Koeffizient	Aceton[235, 236]	Tetrachlorethen[237]	Cyclohexan[238]
$B_1$	0.581743	0.563173	0.787167
$B_2$	0.231764	0.64834	0.200856
$B_3$	0.210562	0.356356	0.280435
$C_1$	10154.8 nm <sup>2</sup>	10154.8 nm <sup>2</sup>	5999.74 nm <sup>2</sup>
$C_2$	20017.9 nm <sup>2</sup>	20017.9 nm <sup>2</sup>	20000 nm <sup>2</sup>
$C_3$	1.62092·10 <sup>8</sup> nm <sup>2</sup>	1.62092·10 <sup>8</sup> nm <sup>2</sup>	1.62092·10 <sup>8</sup> nm <sup>2</sup>

#### 4.2.4 RSA-Anbindung

Lochgitter wurden in einer 100  $\mu$ M wässrigen Lösung mit Rinderserum-Albumin Fraktion V (RSA) der Firma Serva für 24 h inkubiert und danach mit deionisiertem Wasser gespült. RSA bindet hierbei unspezifisch an der Sensoroberfläche.

## 4.3 Ergebnisse und Diskussion

### 4.3.1 Kontrolle der Position der Transmissionsmaxima

Gemäß Gl. 1.6 hängt die Position der EOT-Resonanzen bei gegebenen Permittivitäten  $\epsilon_m$  und  $\epsilon_d$  linear mit der Gitterkonstante  $L$  des Lochgitters zusammen. Damit ist die Gitterkonstante der wichtigste Parameter mit dem sich die Transmission des Lochgitters steuern lässt. Die Gleichung wurde in Kapitel 1.1 für ein quadratisches Gitter abgeleitet. Für ein hexagonales Gitter ergibt sich eine analoge Gleichung:

$$\lambda_{OPP} = \frac{L}{\sqrt{\frac{4}{3}(n^2 + nm + m^2)}} \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d}} \quad (4.3)$$

Abb. 4.1 zeigt die Transmissionsspektren von Lochgittern mit verschiedenen  $L$ , welche mit Hilfe des in Kapitel 3 beschriebenen Verfahrens hergestellt wurden<sup>1</sup>. Wie erwartet ist die Transmission größer als der offene Flächenanteil des Gitters und die Position der Maxima verschiebt sich für kleiner werdende  $L$  in Richtung kürzerer Wellenlängen. Mit Hilfe von Gl. 4.3 lassen sich die Peaks im Spektrum den jeweiligen Resonanz-Moden zuordnen. Für die Berechnung benötigt man die frequenzabhängige, komplexe Permittivität von Gold:

$$\epsilon_m = \epsilon_{Au} = \epsilon'_{Au} + i\epsilon''_{Au} \quad (4.4)$$

Darin sind  $i = \sqrt{-1}$ ,  $\epsilon'_{Au}$  der Realteil der Permittivität und  $\epsilon''_{Au}$  der Imaginärteil. Entsprechend tabellierte Werte lassen sich in der Literatur finden[239, 240].

Für den Fall  $L = 1104$  nm in Abb. 4.1 ergibt sich für die (1,0)-Mode an der Gold/Glas-Grenzfläche  $\lambda_{max} = 1450$  nm. Dabei wurde  $\epsilon_{Au} = -100,47 + 7,02i$  und  $\epsilon_d = 2,25$  eingesetzt[239, 240]. Diese Resonanz entspricht dem höchsten Peak in Abb. 4.1. Der etwas kleinere Peak links von dieser Mode entspricht der (1,0)-Mode an der Luft/Gold-Grenzfläche. Für diesen ergibt sich  $\lambda_{max} = 968$  nm, wobei nun  $\epsilon_m = -39,9 + 2,53i$  und  $\epsilon_d = 1$  verwendet wurde.

Die Resonanzmoden der anderen Lochgitter können in analoger Weise berechnet werden. Die (1,0)-Moden an der Gold/Glas-Grenzfläche ergeben sich dabei zu 940 nm und 703 nm für die Gitterkonstanten  $L = 701$  nm und 502 nm.

---

<sup>1</sup>Vergleiche Abb. 3.12 für REM-Aufnahmen der entsprechenden Lochgitter.

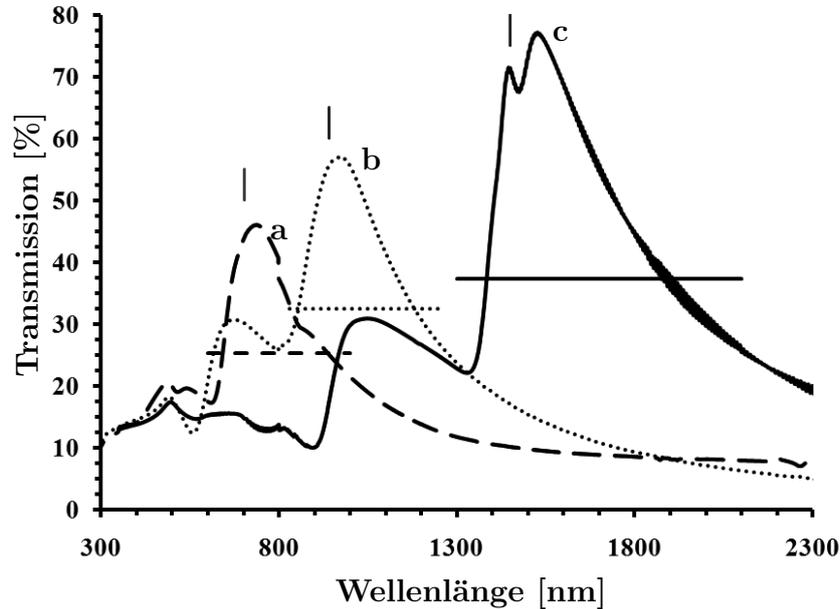


Abbildung 4.1: Transmissionsspektren von Lochgittern mit verschiedenen Gitterkonstanten  $L$  und Lochdurchmessern  $d$ . (a)  $L = 1104 \pm 33$  nm,  $d = 714 \pm 13$  nm (b)  $L = 701 \pm 54$  nm,  $d = 424 \pm 75$  nm (c)  $L = 502 \pm 26$  nm,  $d = 266 \pm 26$  nm. Der höchste Peak in den jeweiligen Spektren entspricht der (1,0)-Mode an der Gold/Glas-Grenzfläche. Die berechneten Positionen dieser Moden sind als vertikale Linien in der Abbildung gekennzeichnet. Die Transmission der Gitter ist deutlich größer als sein offener Flächenanteil (horizontale Linien).

Die berechneten Positionen der (1,0)-Moden an der Gold/Glas-Grenzfläche sind in Abb. 4.1 als vertikale Linien gekennzeichnet. Wie man erkennt, treten die tatsächlichen Peaks bei etwas längeren Wellenlängen auf, als es mit Gl. 4.3 vorhergesagt wird. Die Ursache hierfür ist die vereinfachte Betrachtungsweise zu der Gl. 4.3 geführt hat[241]. So werden beispielsweise der Einfluss der Löcher auf die Dispersion der OPP und verschiedene Interferenzeffekte nicht berücksichtigt.

Wie in der Abbildung ebenfalls zu sehen ist, haben die Lochgitter auch verschiedene Lochdurchmesser  $d$ . Wie in der Einleitung dieses Kapitels erläutert, beeinflusst auch der Lochdurchmesser die Peakposition und -form. Der Einfluss auf die Peakposition ist allerdings deutlich kleiner als der Einfluss der Gitterkonstante.

### 4.3.2 Einfluss der Gitterordnung auf die Transmissionsspektren

Abb. 4.1 zeigt die Transmissionsspektren von Lochgittern, bei denen die in Kapitel 2 vorgestellte Methode zur Herstellung hochgeordneter Kristalle zur Anwendung kam. In diesem Fall kann die Position der Transmissionsmaxima über den Durchmesser der eingesetzten Kolloide gesteuert werden. Dieser Zusammenhang gilt jedoch nicht mehr, wenn die Ordnung des Gitters schlecht ist. Der Abstand der Löcher entspricht dann nicht mehr dem Durchmesser der eingesetzten Kolloide und ist zudem einer höheren Varianz unterworfen.

Wie in Kapitel 2 diskutiert, lässt sich eine hohe Fernordnung mit konventionellen kolloidalen Lithographie-Verfahren nicht einfach gewährleisten. Der Einfluss der Ordnung auf die optischen Eigenschaften eines Lochgitters ist damit eine wichtige Fragestellung für die kolloidale Lithographie, die in der Literatur bislang nur wenig adressiert wurde.

Um den Einfluss der Ordnung genauer zu untersuchen, wurden Lochgitter auf der Grundlage von Kolloiden mit 1100 nm Durchmesser hergestellt. Durch eine unterschiedliche Dauer des mechanischen Temperns bei der Kristall-Herstellung wurden dabei Lochgitter mit verschiedenen Ordnungsgraden erzeugt.

Bei den Überlegungen, die zu Gl. 1.5 geführt haben, wird die Existenz der Maxima im Transmissionsspektrum des Lochgitters auf die Wellenlängen-spezifische Anregung von OPP zurückgeführt. Dabei erfolgt die Kopplung des Anregungslichts in das OPP über einen reziproken Gittervektor des Lochgitters. Diese Kopplungsbedingung setzt daher eine periodische Gitterstruktur voraus. Naiver Weise würde man daher erwarten, dass mit abnehmender Ordnung die Transmissionsverstärkung abnimmt und die ausgeprägten Maxima und Minima im Spektrum verschwinden.

Tatsächlich wird allerdings ein völlig anderes Verhalten beobachtet. In Abb. 4.2 sind die Transmissionsspektren von Lochgittern mit unterschiedlichen Ordnungsgraden gezeigt. Um die verschiedenen Lochgitter vergleichen zu können, ist hierbei die Transmissionseffizienz, definiert als  $\eta = \frac{T}{A}$ , angegeben. Darin ist  $T$  die absolute Transmission und  $A$  der offene Flächenanteil des Lochgitters.

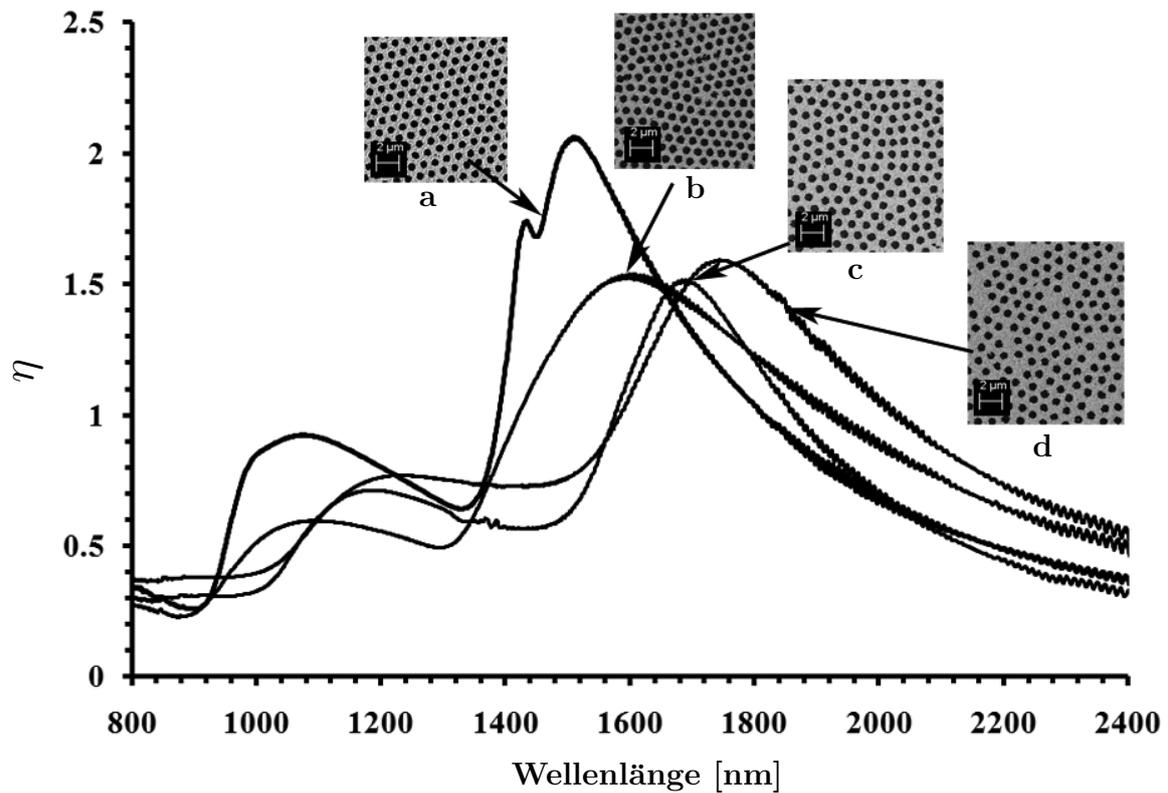


Abbildung 4.2: Transmissionseffizienz  $\eta$  von Lochgittern mit unterschiedlicher Ordnung. In der Abbildung sind REM-Bilder der entsprechenden Lochgitter gezeigt. Offensichtlich führt eine Verschlechterung der Ordnung (von a nach d) zu einer Rotverschiebung der Resonanzpositionen. Als Ordnungsparameter ergab sich  $\sigma_1 = 31 \pm 1,0$  nm (a),  $\sigma_1 = 55 \pm 1,5$  nm (b),  $\sigma_1 = 80 \pm 2,4$  nm (c) und  $\sigma_1 = 89 \pm 1,8$  nm (d). Wie ebenfalls zu erkennen ist, kommt es zu einer Abnahme von  $\eta$  - ein Wert von  $\sim 1,5$  wird dabei allerdings nicht unterschritten. Überraschenderweise tritt damit auch bei niedriger Ordnung noch eine Transmissionsverstärkung auf.

Es ergeben sich mehrere Auffälligkeiten in den gezeigten Spektren. Zum einen zeigt sich, dass die Transmissionseffizienz  $\eta$  trotz der niedrigen Ordnung nicht unter einen Wert von 1,5 abfällt. So beträgt bei Spektrum a die Standardabweichung des ersten Maximums der radialen Verteilungsdichte<sup>2</sup>  $\sigma_1 = 32 \pm 1,0$  nm und  $\eta = 2$ . Bei Spektrum b mit  $\sigma_1 = 55 \pm 1,5$  nm ergibt sich  $\eta = 1,5$ . Für weiter abnehmende Ordnung bleibt  $\eta$  auf dem gleichen Niveau.

Um diese Beobachtung zu quantifizieren, wurde in Abb. 4.3 die Standardabweichung  $\sigma_1$  der Gitterkonstante verschiedener Lochgitter gegen die Transmissionseffizienz aufgetragen. Wie man dabei sieht, bleibt  $\eta$  über einen weiten Bereich von Ordnungsgraden konstant. Dieses Ergebnis ist umso mehr überraschend, wenn man die 2D

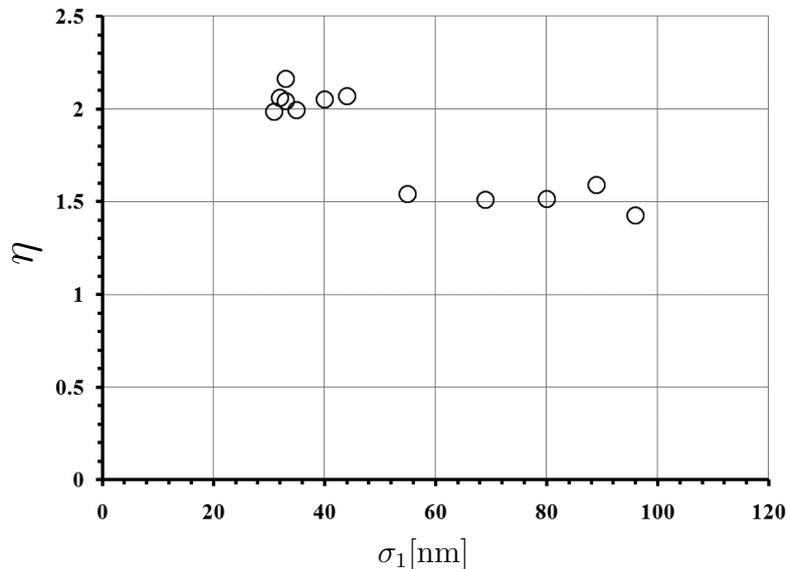


Abbildung 4.3: Zusammenhang zwischen der Transmissionseffizienz  $\eta$  und der Ordnung. Für  $\sigma_1 \geq 55$  nm fällt  $\eta$  von 2 auf 1,5 ab und bleibt anschließend trotz weiter abnehmender Ordnung konstant.

Fouriertransformationen der in Abb. 4.2 gezeigten Lochgitter betrachtet, welche in Abb. 4.4 zu sehen sind. Für die schlecht geordneten Strukturen ergeben sich dabei diffuse Beugungsringe. Helle Beugungspunkte denen reziproke Gittervektoren zugewiesen werden könnten, sind hingegen nicht zu erkennen. Diese Beobachtung lässt

<sup>2</sup>Die Bestimmung der Ordnung über die radiale Verteilungsdichte ist in Kapitel 2 ausführlich erläutert.

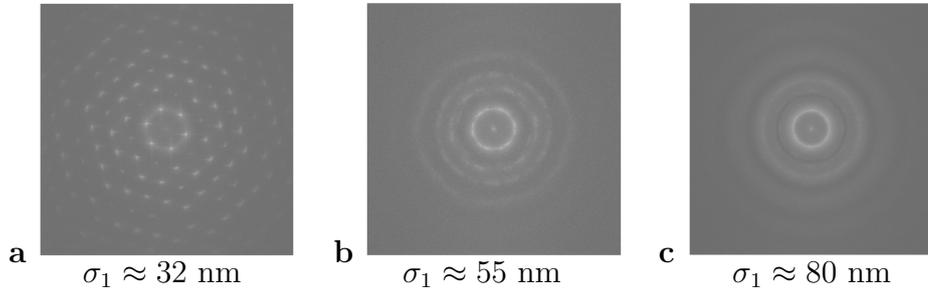


Abbildung 4.4: 2D Fouriertransformationen von Gittern mit unterschiedlicher Ordnung. Die Abbildungen a bis c sind die korrespondierenden Fouriertransformationen zu den in Abb. 4.2-a bis c gezeigten Gittern. (a) Bei hoher Ordnung zeigen sich wohl definierte Beugungspunkte. (b) Mit abnehmender Ordnung verschmieren die Beugungspunkte. (c) Bei niedriger Ordnung erscheinen diffuse Beugungsringe. Die Abwesenheit heller Beugungspunkte zeigt, dass sich den Lochgittern keine definierten reziproken Gittervektoren zuweisen lassen.

sich nicht mit den Annahmen in Übereinstimmung bringen, die zu Gl. 4.3 geführt haben. Des Weiteren kommt es zu einer Rotverschiebung der Spektren mit abnehmender Ordnung. Eine genaue Untersuchung der Spektren ergab dabei einen linearen Trend für die Position der Transmissionsmaxima in Abhängigkeit von der mittleren Gitterkonstante. Dieser Zusammenhang ist in Abb. 4.5 gezeigt. Auch diese Beobachtung kann im Bild der Gitterkopplung nicht erklärt werden.

Nun wurde in neueren Arbeiten gezeigt, dass auch quasiperiodische Gitter eine verstärkte Transmission zeigen, obwohl sie keine Translationssymmetrie aufweisen[202, 203, 242]. Die Spektren wurden über die Quasiperiodizität des Gitters erklärt, welche zu punktierten Beugungsmustern in der Fouriertransformation führen. In dieser Vorstellung koppelt das Licht über einen effektiven reziproken Gittervektor in das OPP, welcher durch die langreichweitige Ordnung des quasiperiodischen Gitters zustande kommt[203]. In Abb. 4.2 haben wir allerdings gesehen, dass keine Beugungspunkte in den 2D Fouriertransformationen der betrachteten Gitter auftreten. Damit lässt sich auch diese Erklärung nicht im vorliegenden Fall anwenden.

Die gemachten Beobachtungen decken sich vielmehr mit denen von Pacifici et al.[243]. In einer kürzlich veröffentlichten Arbeit untersuchten sie die Transmission von dodeca-

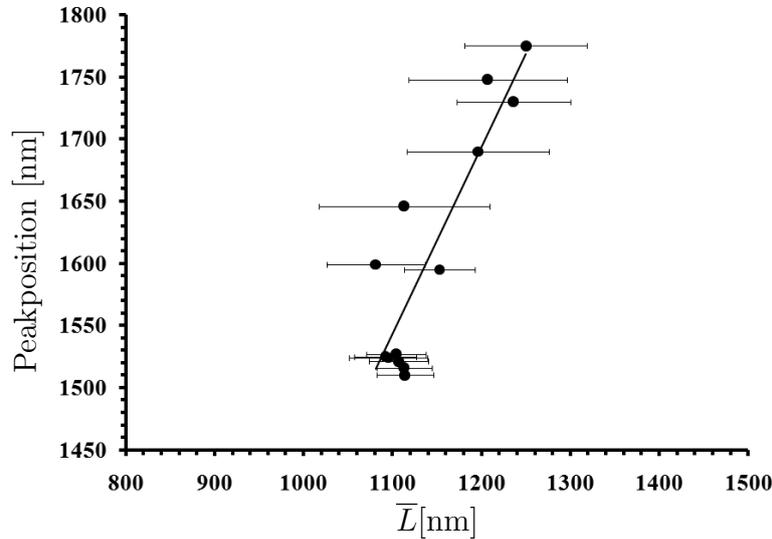


Abbildung 4.5: Plot der Position der (1,0)-Mode an der Gold/Glas-Grenzfläche gegen die mittlere Gitterkonstante  $\bar{L}$  des Lochgitters. Die Datenpunkte scheinen einem linearen Trend zu folgen (Das Bestimmtheitsmaß des linearen Fits beträgt dabei  $R^2 = 0.795$ ).

gonalen Lochgittern in Ag-Filmen, welche keine langreichweitige Ordnung und damit diffuse erste Beugungsringe aufwiesen. Auch sie konnten trotz dessen eine verstärkte Transmission beobachten. In ihren theoretischen Überlegungen schlagen sie ein Modell vor, in dem nicht die Beugung an einem periodischen Gitter zur Anregung der OPP beiträgt, sondern die Beugung an den Löchern selbst. Die spezifische Form des Spektrums kommt dann durch konstruktive und destruktive Interferenz der OPP und der ein- und ausgehenden Lichtwellen an den Löchern zustande. Eine genauere theoretische Analyse der vorliegenden Daten wird noch zeigen müssen, ob sich die gemachten Beobachtungen im Rahmen dieses Modells beschreiben lassen.

### 4.3.3 Spektrale Reproduzierbarkeit

Wie im vorangehenden Abschnitt besprochen, hängt die Position und die Höhe der Transmission auch von der Ordnung der Probe ab. Um reproduzierbare Spektren zu erhalten, ist eine hohe Ordnung des Lochgitters von Vorteil, da dann die Strukturparameter des Gitters lokal wenig variieren.

Dieser Zusammenhang ist in Abb. 4.6 veranschaulicht. Aufgrund der lokalen Unterschiede in der Struktur des Lochgitters hängt bei niedriger Ordnung die Form des Spektrums stark vom Messpunkt auf der Probe ab. Im Falle hoher Ordnung ist die strukturelle Varianz geringer und die spektrale Form hängt deutlich weniger von der Position auf der Probe ab<sup>3</sup>. Eine weitere wichtige Einflussgröße auf die Form der Spek-

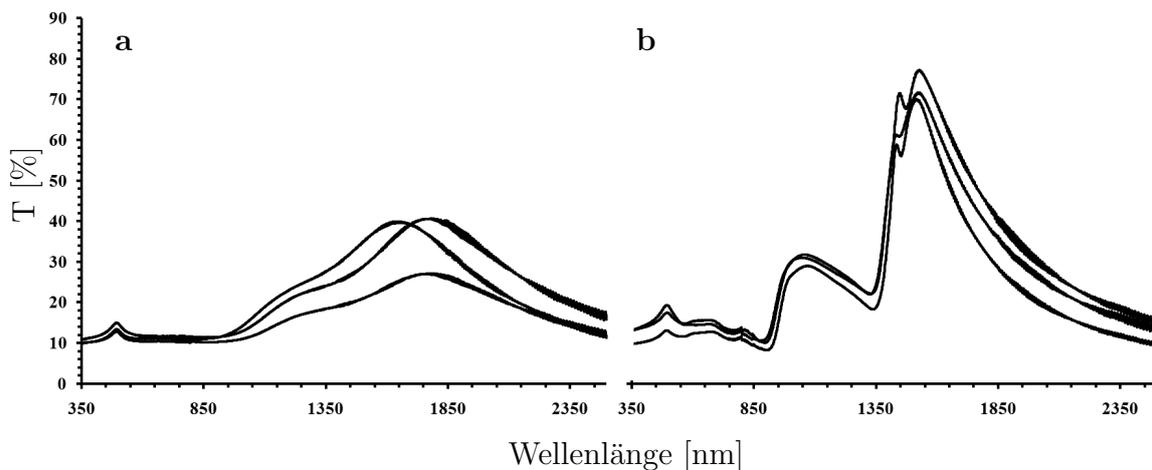


Abbildung 4.6: Transmissionsspektren von Lochgittern mit unterschiedlicher Ordnung. (a) Für eine Probe mit niedrigem Ordnungsgrad ( $\sigma_1 \simeq 60$  nm) ist die Resonanzwellenlänge und die Peakhöhe stark von der Position des Messpunktes auf der Probe abhängig. (b) Eine hoch geordnete Probe zeigt eine gute Übereinstimmung der Spektrenform bei verschiedenen Positionen auf der Probe.

tren ist die Schichtdicke. Wie in Abb. 4.7 gezeigt, führt eine Erhöhung der Schichtdicke zu einer starken Abnahme der Transmission. Dabei nimmt die Transmission der (1,0)-Mode an der Gold/Glas-Grenzfläche deutlich stärker ab als an der Luft/Gold-Grenzfläche. Diese Abnahme der Transmission ist mit der reduzierten Tunnelwahrscheinlichkeit der Lichtfelder zu erklären, welche exponentiell mit der Schichtdicke abfällt[195]. Bei der Herstellung der Lochgitter ist es daher wichtig, für die Bildung eines Goldfilms mit möglichst homogener Schichtdicke zu sorgen (vgl. Kapitel 3).

<sup>3</sup>In diesen Spektren ist die absolute Transmission und nicht die auf den offenen Flächenanteil normierte Transmissionseffizienz gezeigt. Aus diesem Grunde ist die Höhe der Maxima der ungeordneten Lochgitter nicht, wie in Abb. 4.2, konstant.

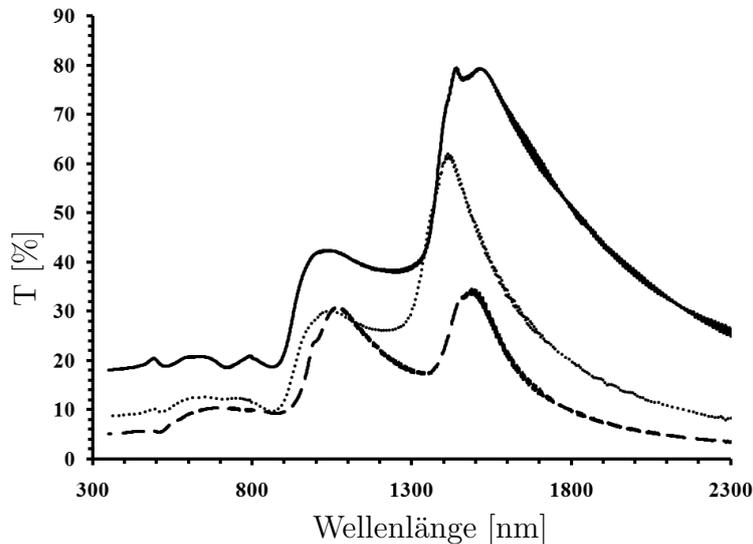


Abbildung 4.7: Transmission bei verschiedenen Filmdicken. Die Schichtdicken betragen  $180 \pm 3$  nm (durchgezogene Linie),  $226 \pm 14$  nm (gepunktete Linie) und  $300 \pm 7$  nm (gestrichelte Linie). Die Transmission nimmt mit zunehmender Schichtdicke ab. Die Abnahme betrifft hauptsächlich die (1,0)-Mode an der Gold/Glas-Grenzfläche.

#### 4.3.4 Sensitivität von Lochgittern

Wie in der Einleitung erläutert, ist eine mögliche Anwendung von Lochgittern der Einsatz als Sensoren, welche auf Änderungen des Brechungsindex reagieren. Eine wichtige Größe mit der sich die Leistung des Sensors charakterisieren lässt, ist die Sensitivität  $S$  definiert als:

$$S = \frac{\Delta\lambda}{\Delta n} \quad (4.5)$$

Hierbei ist  $\Delta\lambda$  die Verschiebung einer spektralen Signatur und  $\Delta n$  die Änderung des Brechungsindex.  $S$  lässt sich bestimmen, indem die Transmission des Lochgitters in verschiedenen Medien mit unterschiedlichen  $n$  gemessen wird und anschließend die Verschiebung einer Struktur des Spektrums, bspw. des Transmissionsmaximums, gegen die Änderung  $n$  aufgetragen wird.

Hierzu wurde zunächst die Transmission der Lochgitter in Luft sowie in den Lösungsmitteln Aceton, Toluol, 1,1,2-Trichloro-1,2,2-Trifluoroethan, Cyclohexan und Tetrachlorethen gemessen. Abb. 4.8 zeigt die Veränderung der Transmissionspektren

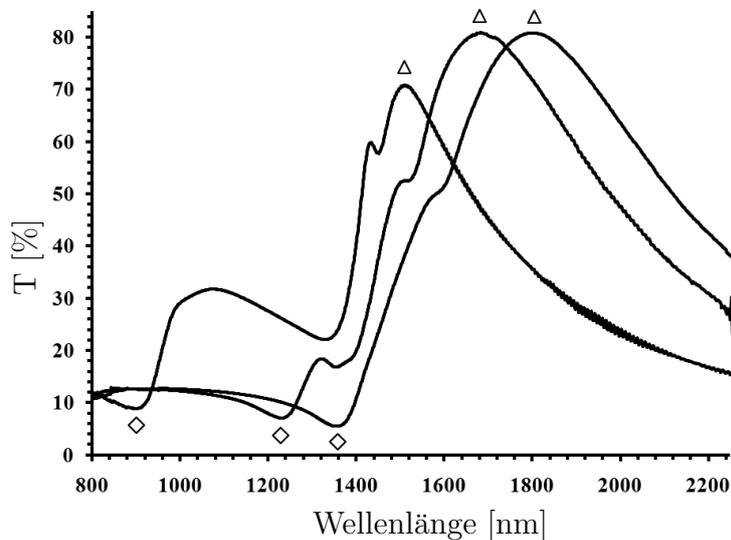


Abbildung 4.8: Transmissionsspektren eines Lochgitters mit  $L = 1104$  nm und  $\sigma_1 = 32 \pm 1,0$  nm in Luft (links), Aceton (Mitte) und Tetrachlorethen (rechts) mit den Brechungsindizes 1, 1,347 und 1,477. Eine Erhöhung des Brechungsindex führt zu einer Rotverschiebung der Spektren, wie es gemäß Gl. 1.5 erwartet wird. Das zur Bestimmung der Brechungsindex-Sensitivität verwendete Maximum und Minimum ist durch Dreiecke bzw. Rauten gekennzeichnet.

eines Lochgitters mit  $L = 1104$  nm in ausgewählten Medien. Wie aus der Abbildung ersichtlich ist, verschieben sich sowohl die Transmissionsminima als auch die Transmissionsmaxima im Spektrum. In Abb. 4.9 ist die Position des Transmissionsmaximums und -minimums gegen den Brechungsindex verschiedener Medien aufgetragen. Die Daten wurden dabei aus einem Transmissionsspektrum in Luft, Toluol, 1,1,2-Trichloro-Trifluoro-Ethan, Cyclohexan und Tetrachlorethan gewonnen. Wie man erkennt, ist die Position des Maximums eine lineare Funktion des Brechungsindex. Aus der Steigung der Regressionsgeraden ergibt sich die Sensitivität des Maximums in diesem Beispiel zu  $S_{Max} = 484 \pm 21$  nm/RIU.

Neben einer Verschiebung der Position des Maximums kann auch eine Zunahme der Transmission ( $\sim 10\%$  beim Wechsel von Luft zu Aceton) beobachtet werden. Dies kann damit erklärt werden, dass die Transmission am effektivsten verstärkt wird, wenn die OPPs an beiden Grenzflächen die gleiche Energie haben[222]. Dies ist ge-

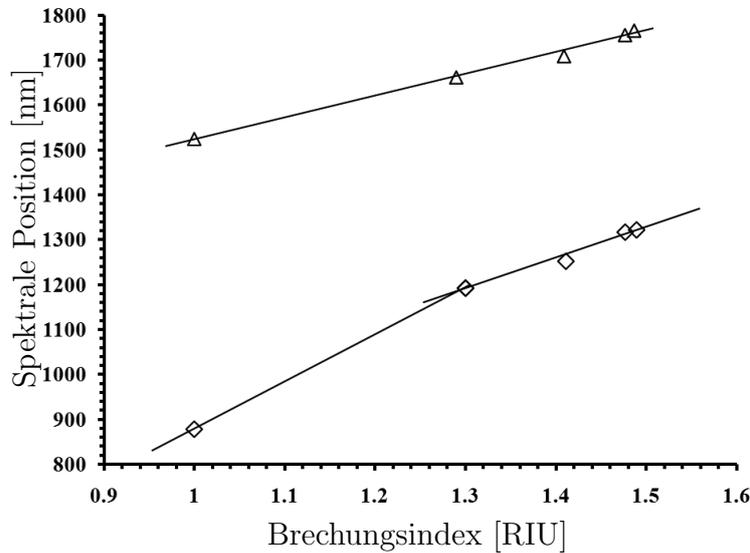


Abbildung 4.9: Sensitivität der Lochgitter auf Brechungsindexänderungen. Die Position des Maximums der (1,0)-Mode an der Gold/Glas-Grenzfläche (Dreiecke) und die Position des Minimums (Rauten) sind gegen den Brechungsindex aufgetragen. Die Daten können mit einer linearen Funktion gut beschreiben werden. Im Beispiel ergibt sich eine Sensitivität des Maximums von  $S_{Max} = 484 \pm 21$  nm/RIU und des Minimums von  $S_{Min} = 701 \pm 71$  nm/RIU. Im Falle des Minimums ist  $S$  nicht über den gesamten Brechungsindex-Bereich linear. Siehe Text für Details.

nau dann der Fall, wenn die Brechungsindizes der beiden Grenzflächen identisch sind. Da Glas einen Brechungsindex von  $\simeq 1,5$  aufweist und die untersuchten Medien einen Brechungsindex  $< 1,5$  aufweisen, ist daher eine Zunahme der Transmission mit steigendem Brechungsindex zu erwarten.

Auch das Verschwinden des kleineren Maximums links vom Hauptmaximum in Abb. 4.8 kann darüber erklärt werden. Dieses Maximum entspricht der (1,0)-Mode an der Au/Medium-Grenzschicht. Je mehr sich die Brechungsindizes von Glas und Medium angleichen, desto weniger unterscheiden sich die Resonanzwellenlängen der Moden an den beiden Grenzflächen. Für kleine Brechungsindex-Unterschiede an den Grenzflächen sind die korrespondierenden Maxima offensichtlich nicht mehr separiert. Des Weiteren kann die Sensitivität des Transmissionsminimums analog zum Vorge-

hen beim Transmissionsmaximum ermittelt werden. Wie ebenfalls in Abb. 4.9 gezeigt, scheint die Sensitivität allerdings nicht über den gesamten Brechungsindex-Bereich hinweg linear zu sein. So beobachtet man eine Verschiebung des Minimums um 314 nm bei Änderung des Brechungsindex von 1,0 auf 1,3. Dies entspricht einer Brechungsindex-Sensitivität von 1047 nm/RIU. Für den Bereich  $> 1,3$  ist die Verschiebung schwächer und liegt bei  $S_{Min} = 701 \pm 71$  nm/RIU, wie durch einen Fit mit einer linearen Funktion ermittelt wurde. Die Minima sind damit etwas sensitiver für Änderungen des Brechungsindex als die Maxima.

Die verschiedenen Empfindlichkeitsbereiche der Minima sind vermutlich Folge der unterschiedlichen Sensitivität der Maxima im Transmissionsspektrum. Wie man aus Abb.4.8 erkennt, ist das Minimum zunächst dem Maximum der (1,0)-Mode an der Gold/Medium-Grenzfläche benachbart (das kleinere Maximum links vom (1,0)-Peak der Glas/Gold-Grenzfläche). Offensichtlich reagiert dieses Maximum stärker auf Brechungsindex-Änderungen. So tritt beim Wechsel des Brechungsindex von 1,0 auf 1,3 eine Verschiebung von 280 nm auf. Dies entspricht einer Sensitivität von etwa 933 nm/RIU.

Bereits bei einem Brechungsindex von  $\sim 1,3$  kommt es jedoch zu einer deutlichen Überlappung der Maxima der beiden Grenzflächen. Für den Brechungsindex-Bereich  $\geq 1,3$  verfolgt man demnach ein Minimum, das im wesentlichen mit dem Maximum der (1,0)-Mode an der Glas/Gold-Grenzfläche assoziiert ist. Da diese Mode etwas weniger sensitiv auf Änderungen des Brechungsindex reagiert, scheint die verringerte Sensitivität des Minimums in diesem Bereich plausibel.

Um die mittlere Sensitivität der Lochgitter zu berechnen, die sich mit dem Herstellungsverfahren erzielen lässt, wurde die Bestimmung der Sensitivität für einen Satz von Lochgittern mit  $L \simeq 1100$  nm wiederholt. Dabei ergab sich für die Position des Maximums der (1,0)-Mode an der Gold/Glas-Grenzfläche  $S_{Max} = 539 \pm 47$  nm/RIU und für das Minimum  $S_{Min} = 692 \pm 88$  nm/RIU für den Bereich  $n \geq 1,3$ . Bei vergleichbaren Lochgittern, welche mit Standard-Lithographie-Verfahren erzeugt wurden, konnte eine Sensitivität von 400 - 800 nm/RIU erzielt werden[70, 225]. Dies zeigt die Wettbewerbsfähigkeit des in dieser Arbeit entwickelten Lithographie-Ansatzes.

### 4.3.5 Einfluss der Ordnung auf die Sensitivität von Lochgittern

In Abschn. 4.3.1 wurde gezeigt, dass die spektralen Eigenschaften der Lochgitter von strukturellen Faktoren abhängen. Es war daher naheliegend zu überprüfen, ob auch die Sensitivität von diesen Faktoren beeinflusst wird. Hierzu wurde zunächst der Einfluss der Ordnung untersucht. Um die Ergebnisse mit den bisherigen Erkenntnissen vergleichen zu können, wurden wieder Lochgitter auf der Grundlage von Kolloiden mit einem Durchmesser von 1100 nm hergestellt und dabei die Ordnung variiert. Anschließend wurde die Transmission in verschiedenen organischen Lösungsmitteln gemessen.

Abb. 4.10 zeigt die Veränderung der Transmissionsspektren eines Lochgitters mit

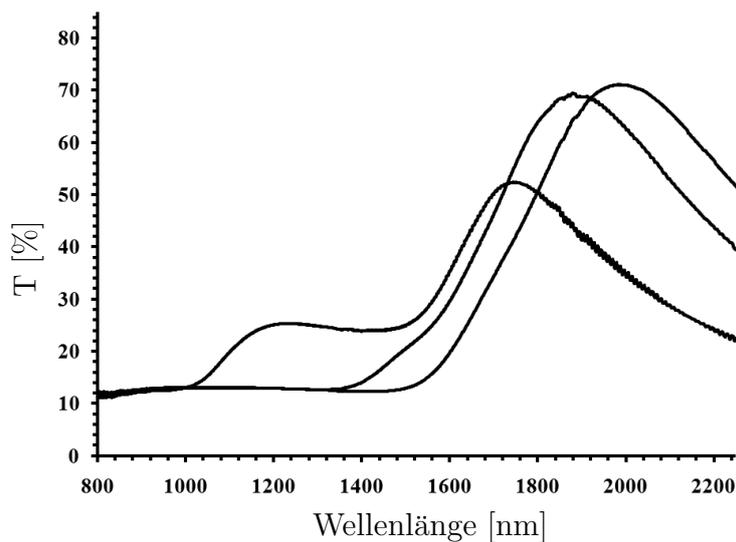


Abbildung 4.10: Transmissionsspektren eines Lochgitters mit  $L = 1200$  nm und  $\sigma_1 = 89 \pm 1,8$  nm in Luft (links), Trichloro-trifluoro-Ethan (Mitte) und Tetrachlorethen (rechts) mit den Brechungsindizes 1, 1,29 und 1,486. Wie im geordneten Fall führt eine Erhöhung des Brechungsindex zu einer Rotverschiebung der Spektren.

$\sigma_1 = 89 \pm 1,8$  nm in verschiedenen organischen Lösungsmitteln. Beim direkten Vergleich der Spektren aus Abb. 4.8 fällt zunächst auf, dass das Minimum neben dem Maximum der (1,0)-Mode an der Gold/Glas-Grenzfläche nicht zu erkennen ist. Diese spektrale Signatur lässt sich damit nicht als Signal verwenden, um eine Änderung

des Brechungsindex zu detektieren. Zudem ist die Zunahme der Transmission etwas stärker als beim geordneten Lochgitter ( $\sim 20\%$  beim Wechsel von Luft zu Trichlorotrifluoro-Ethan).

Analog zum oben besprochenen Vorgehen wurde die Sensitivität  $S_{Max}$  für die Position des Maximums der (1,0)-Mode an der Gold/Glas-Grenzfläche bei unterschiedlichen Ordnungsgraden bestimmt. In Abb. 4.11 ist die Sensitivität gegen  $\sigma_1$  aufgetragen. Wie man erkennt, scheint  $S_{Max}$  nicht von der Ordnung abzuhängen. Die Sensitivität

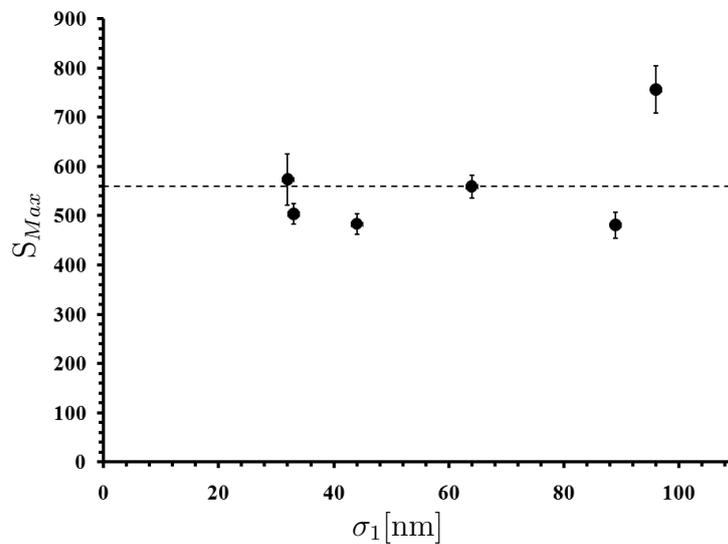


Abbildung 4.11: Sensitivität der (1,0)-Mode an der Gold/Glas-Grenzfläche auf Brechungsindexänderungen als Funktion der Ordnung. Die Sensitivität scheint nicht mit der Ordnung zu korrelieren und schwankt um einen Mittelwert von  $S_{Max} = 560 \pm 84$  nm/RIU.

eines OPP-Sensors wird vor allem durch die Eindringtiefe des evaneszenten Feldes des OPP in das umgebende Dielektrikum  $\delta_d$  und die Verteilung der elektromagnetischen Energie bestimmt[244]. Damit kann dieses Resultat indirekt als Hinweis gewertet werden, dass die Energieverteilung und die Eindringtiefe unabhängig von der Ordnung des Gitters sind.

Zu erwähnen bleibt noch, dass Lochgitter mit hoher Ordnung gut aufgelöste Transmissionsminima zeigen. Da diese eine höhere Sensitivität aufweisen als die Maxima, kann man insgesamt sagen, dass eine hohe Ordnung zur Verbesserung der Sensitivität

beiträgt.

Als nächstes wurde der Einfluss der Gitterkonstante auf die Sensitivität untersucht. Hierzu wurden Transmissionsspektren eines Lochgitters mit  $L = 502$  nm in Glucoselösungen mit unterschiedlichen Brechungsindizes gemessen. Hierbei wurden Lösungen mit den Konzentrationen 0 g/mL, 0,06 g/mL, 0,15 g/mL, 0,24 g/mL und 0,3 g/mL verwendet, wobei die entsprechenden Brechungsindizes 1,333, 1,341, 1,352, 1,365 und 1,374 betragen. Anschließend wurde analog zum obigen Vorgehen die Position des Maximums der (1,0)-Mode an der Gold/Glas-Grenzfläche gegen den Brechungsindex aufgetragen und  $S_{Max}$  bestimmt, wie in Abb. 4.12 gezeigt ist. Überraschenderweise ergab sich hierbei nur  $S_{Max} = 310 \pm 11$  nm/RIU. Damit geht

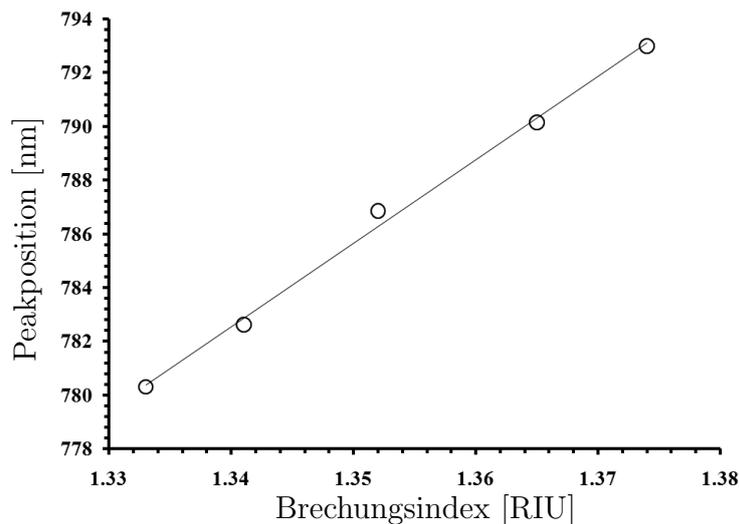


Abbildung 4.12: Sensitivität der Lochgitter auf Brechungsindexänderungen. Die Position des Maximums der (1,0)-Mode an der Gold/Glas-Grenzfläche ist gegen den Brechungsindex aufgetragen. Die Daten lassen sich mit einer linearen Funktion gut beschreiben. Für die Sensitivität ergibt sich  $S_{Max} = 310 \pm 11$  nm/RIU.

die Verkleinerung der Gitterkonstante mit einer Abnahme der Sensitivität einher. Die Ursache hierfür wird klar, wenn man die Eindringtiefe der OPPs bei den verschiedenen korrespondierenden Wellenlängen betrachtet.

Die Eindringtiefe  $\delta_d$  ins Dielektrikum bei der Vakuum-Wellenlänge  $\lambda_0$  ist dabei gegeben durch[2]:

$$\delta_d = \frac{\lambda_0}{2\pi} \sqrt{\frac{|\epsilon'_{Au}| + \epsilon_d}{\epsilon_d^2}} \quad (4.6)$$

Für die Eindringtiefe ins Metall ergibt sich eine analoge Gleichung:

$$\delta_{Au} = \frac{\lambda_0}{2\pi} \sqrt{\frac{|\epsilon'_{Au}| + \epsilon_d}{\epsilon_{Au}^2}} \quad (4.7)$$

Unter Verwendung von Gl. 4.6 und 4.7 berechnen sich die Eindringtiefen bei einer Wellenlänge von 1700 nm zu  $\delta_d = 1430$  nm und  $\delta_{Au} = 23$  nm und bei einer Wellenlänge von 800 nm zu  $\delta_d = 287$  nm und  $\delta_{Au} = 28$  nm. Offensichtlich dringt das OPP bei der längeren Wellenlänge deutlich weiter in das umgebende Medium ein. Da damit ein weitaus größerer Anteil der Feldenergie im Dielektrikum lokalisiert ist, sollte das OPP entsprechend sensitiver auf eine Änderung von  $\epsilon_d$  reagieren.

Ein Vorteil für praktische Zwecke ist allerdings, dass die beobachteten Maxima für  $L = 502$  nm im sichtbaren Bereich liegen. Zudem ist eine stärkere Lokalisierung der Feldenergie an der Grenzfläche wünschenswert, wenn man beispielsweise Bindungsereignisse an der Grenzfläche detektieren möchte[8]. So ist die Ausdehnung einer typischen Protein-Monolage nur  $\sim 4$  nm[245]. Eine Verkleinerung der Eindringtiefe führt in diesem Fall zu einer verbesserten Sensitivität.

### 4.3.6 Untersuchung molekularer Schichten

Wie wir im vorangehenden Abschnitt gesehen haben, führt eine Änderungen des Brechungsindex des umgebenden Mediums zu einer Änderung des Transmissionsspektrums des Lochgitters. In einem nächsten Schritt sollte überprüft werden, ob auch die Anbindung einer molekularen Schicht, wie beispielsweise eine adsorbierte Proteinschicht, zu einem messbaren Signal führt.

Hierzu wurde die Transmission eines Lochgitters an einer definierten Position gemessen. Anschließend wurde das Lochgitter in einer Lösung mit Rinderserum-Albumin (RSA) inkubiert, gewaschen und getrocknet. Das Protein RSA bindet unspezifisch an der Oberfläche des Lochgitters und bildet dabei eine Proteinschicht. Nach dem

Anbinden des RSA wurde die Transmission des Lochgitters an der identischen Position erneut gemessen. Abb. 4.13 zeigt die gemessenen Transmissionsspektren. Wie in

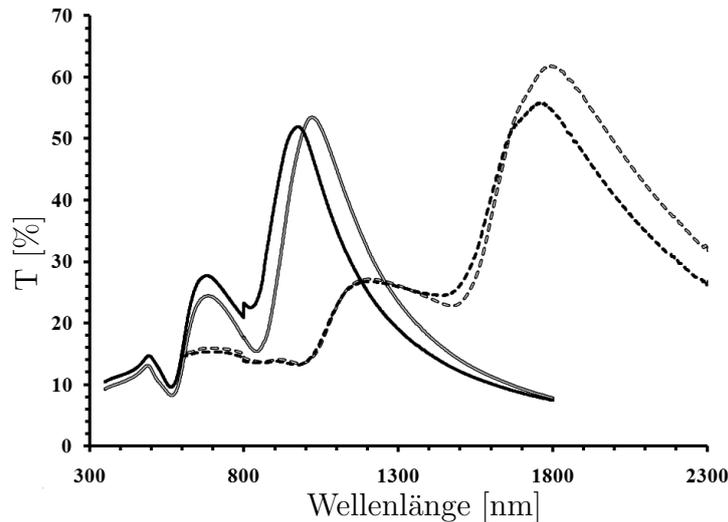


Abbildung 4.13: Sensortransmission vor und nach RSA Anbindung. Die beiden Spektren auf der linken Seite zeigen die Transmission eines Lochgitters mit Gitterkonstante  $L = 655$  nm und Lochdurchmesser  $d = 395$  nm vor (einfache durchgezogene Linie) und nach (doppelte durchgezogene Linie) Anbindung von RSA. Die (1,0)-Mode an der Gold/Glas-Grenzfläche erfährt eine Rotverschiebung von etwa 48 nm nach RSA Anbindung und eine leichte Intensitätszunahme. Die beiden Spektren auf der rechten Seite wurden für einen Lochgitter mit  $L = 1200$  nm und  $d = 860$  nm erhalten. Die Rotverschiebung bei RSA Anbindung beträgt hier etwa 38 nm.

der Abbildung näher erläutert, kommt es zu einer Rotverschiebung der (1,0)-Mode an der Gold/Glas-Grenzfläche aufgrund der Adsorption von RSA. Dies zeigt zum einen, dass auch eine diskrete Schicht zu einem messbaren Signal führt und deckt sich zum anderen mit der Diskussion über die Sensitivität im obigen Abschnitt. Da die Eindringtiefe des Lochgitters mit  $L = 655$  nm kleiner ist als beim Lochgitter mit  $L = 1200$  nm, hat die Anbindung einer Proteinlage einen stärkeren Effekt auf die Position des Transmissionsmaximums.

Nachdem in den vorangehenden Abschnitten die Sensitivität und die Eindringtiefe des OPPs bestimmt wurden, ist es prinzipiell auch möglich aus der Verschiebung der

Transmissionsmaxima die Schichtdicke zu bestimmen. Für planare Goldfilme ist die Verschiebung der Resonanz gegeben durch[244]:

$$\lambda_{max} = S_{Max}\Delta n \left(1 - e^{-\frac{2d}{\delta_d}}\right) \quad (4.8)$$

Wobei  $d$  die Schichtdicke ist und  $\Delta n$  die Änderung des Brechungsindex aufgrund der molekularen Adsorption. Umstellen nach  $d$  ergibt:

$$d = \frac{\delta_d}{2} \ln \left( \frac{S_{Max}\Delta n}{S_{Max}\Delta n - \Delta\lambda_{max}} \right) \quad (4.9)$$

Wenn man Gl. 4.9 als Näherung für die Schichtdicke bei einem Lochgitter mit  $L = 1200$  nm verwendet, ergibt sich mit  $S_{Max} \simeq 600$  nm/RIU und  $\Delta n \simeq 1,60$ [246] eine Schichtdicke von  $d \simeq 29$  nm. Bei einer Dicke einer RSA-Monolage von  $\sim 4$  nm[245] entspricht dies etwa 7 Lagen des Proteins.

In diesem Kapitel wurde gezeigt, dass die Transmission der hergestellten Lochgitter erwartungsgemäß vor allem durch die Gitterkonstante beeinflusst werden kann. Die Maxima der Lochgitter liegen dabei im sichtbaren Wellenlängenbereich bis hin zum nahen Infrarot. Die Sensitivität der Gitter deckt sich insgesamt mit den in der Literatur angegebenen Werten.

Wie außerdem gezeigt wurde, führt eine abnehmende Ordnung zu einer Abnahme der Transmissionseffizienz, einer verschlechterten Auflösung spektraler Signaturen und einer Rotverschiebung der Transmissionsmaxima. Anders als erwartet kommt es aber trotz niedriger Ordnung noch zu einer Verstärkung der Transmission. An dieser Stelle wird es nötig sein eine genauere theoretische Untersuchung durchzuführen, um die Beobachtungen zu erklären.

Mit einer verminderten Ordnung geht außerdem eine verschlechterte spektrale Reproduzierbarkeit. Aufgrund der nicht-aufgelösten Transmissionsminima ist zudem die Sensitivität vermindert. Hohe Ordnung ist demzufolge in vielerlei Hinsicht wünschenswert und zeigt damit die Relevanz des in Kapitel 2 vorgestellten Verfahrens zur Herstellung von Kristallen mit außergewöhnlicher Fernordnung.

# 5 Einsatz von Lochgittern zur Detektion des enzymatischen Gelatine-Abbaus

Um die extrazelluläre Matrix (EZM) nachzubilden, wurden mittels Rotationsbeschichtung Gelatinefilme auf Glassubstraten und Lochgittern erzeugt. Wie interferometrische Messungen zeigten, lässt sich die Dicke über die Konzentration der eingesetzten Gelatine präzise einstellen.

Unter Berücksichtigung der Schwellrate der Gelatine wurden Lochgitter mit einem etwa 60 nm dicken Gelatinefilm beschichtet. Dabei wurde die Filmdicke so gewählt, dass der enzymatische Abbau des Films möglichst sensitiv detektiert werden kann. Der Abbau der Gelatine konnte im Transmissionsspektrum der Lochgitter verfolgt werden. Dabei zeigte sich wie erwartet eine Blauverschiebung der Transmissionsmaxima beim Abbau der Gelatine durch humane und bakterielle Kollagenase. Der beobachtete Verlauf der Abbaukinetik deckt sich mit Ergebnissen, die aus interferometrischen Messungen des Schichtabbaus erhalten wurden.

## 5.1 Einleitung

Die Degradation der extrazellulären Matrix (EZM) ist bei vielen physiologischen Prozessen im menschlichen Organismus, wie z.B. Angiogenese, Wundheilung oder Zellmigration, ein zentraler Vorgang[247].

Daneben spielt die Degradation der EZM auch bei einer Reihe von pathologischen Prozessen eine wichtige Rolle, insbesondere bei dem invasiven Wachstum aggressiver Tumore und der Entstehung von Metastasen[248, 249]. Dabei sezernieren die Tumorzellen Proteasen, wie etwa Matrix-Metalloproteinasen (MMP), und führen damit den

Abbau der EZM herbei[250]. Die Barriere-Funktion der EZM wird damit aufgehoben und ermöglicht es den Krebszellen ungehindert in das umgebende Gewebe zu migrieren oder zu expandieren.

Diese Aktivität der Tumorzellen führt dazu, dass sich bei krebserkrankten Patienten hohe Level der MMP Subtypen 2 und 9 im Plasma und Urin nachweisen lassen[251]. Die Bestimmung der MMP-Level kann daher für die Krebsdiagnose, die Prognose und die Kontrolle des Therapieverlaufs von großem Nutzen sein. Folglich wurden bereits verschiedene Assays entwickelt, um MMPs in Lösung direkt oder indirekt nachzuweisen. Unter anderem kamen hierbei die Oberflächenplasmonen-Resonanz an planaren Goldfilmen[252], Immunassay-Verfahren[253], photonische Kristalle aus porösen Silizium[254] und Zymographie[255] zum Einsatz.

Neben dem Nachweis krebsassoziiertes Enzyme ist aber auch ein tieferes Verständnis der zellulären Vorgänge von großem medizinischen Interesse, zumal die Metastasierung und aggressives Tumorwachstum die Mortalität einer Krebserkrankung drastisch erhöhen können[256].

Zur Untersuchung der zellulären Vorgänge sind *in vitro*-Studien und der Einsatz bildgebender Verfahren notwendig. In diesem Zusammenhang konnte bei Tumorzelllinien auf EZM-Substraten, wie Laminin, Gelatine, Kollagen oder Fibronectin das Eindringen von Membranfortsätzen in die EZM beobachtet werden[257]. Diese sogenannten Invadopodia werden aktiv von den invasiven Tumorzellen gebildet und sezernieren MMPs. Durch die Aktivität der Enzyme werden die Proteine der EZM abgebaut und die Matrix damit zerstört[258].

Bislang kamen dabei relativ aufwendige Modellsysteme zur Untersuchung von Invadopodia *in vitro* zum Einsatz. In einem dieser Modelle werden Tumorzellen auf einer quervernetzten, mit einem Fluorophor konjugierten Gelatinematrix kultiviert[259]. Im Bereich hoch invasiver, Protease sezernierender Zellen kommt es zum Abbau der Gelatine und dabei zur Bildung schwarzer, nicht fluoreszierender Areale. In einer manuellen Analyse von Mikroskopiebildern müssen diese Areale auffindig gemacht und vermessen werden, um dann auf das invasive Potential der einzelnen Zellen zu schließen.

In einem anderen von Mueller & Thou entwickelten Ansatz werden die Tumorzellen auf quervernetzten Gelatine-Kugeln kultiviert. Invasive Zellen bilden dabei Invadopodia und zerstören die Oberfläche der Kugeln. Durch eine morphologische Untersu-

chung der Kugeln im Tunnel-Elektronen-Mikroskop oder bei Fluoreszenz-markierten Kugeln im Fluoreszenz-Mikroskop kann dadurch das Auftreten von Invadopodia indirekt nachgewiesen werden[260].

Die genannten Methoden haben den Nachteil, dass sie eine aufwendige Probenvorbereitung bzw. Analyse erfordern und zudem keine quantitativen Daten über den Abbau der EZM liefern. Wünschenswert wäre ein Verfahren, dass die Degradation der EZM quantitativ verfolgen kann ohne dabei die Bildgebung der Zellen im Mikroskop zu erschweren.

Nun haben die Vorarbeiten in Abschn. 4 gezeigt, dass sich mit Hilfe von Lochgittern in metallischen Filmen kleine Änderungen des Brechungsindex sichtbar machen lassen. Darüber hinaus können die Lochgitter im visuellen Spektrum transparent gemacht werden, wodurch die Mikroskopie in einem gewöhnlichen Durchlichtmikroskop möglich würde. Dies macht die Lochgitter zu idealen Kandidaten für die Untersuchung invasiver Tumorzellen *in vitro*.

In diesem Kapitel soll daher anhand eines Modellsystems der Abbau eines EZM-Substrats auf einem Lochgitter quantitativ untersucht werden. Um die EZM nachzubilden, sollen die Lochgitter dabei mit einem dünnen Gelatinefilm beschichtet werden. Anschließend soll gezeigt werden, dass der enzymatische Abbau der Gelatine im Transmissionspektrum der Lochgitter verfolgt werden kann.

## 5.2 Material und Methoden

### 5.2.1 Verwendete Materialien

Gelatine (Typ A aus Schweinehaut) und Glycerol wurde von Sigma-Aldrich bezogen. Humane Kollagenase (MMP-2) wurde von Dr. Angelika Haußer (Universität Stuttgart, Institut für Zellbiologie und Immunologie) zur Verfügung gestellt. Es wurde bakterielle Kollagenase Typ I von *Clostridium Histolyticum* der Firma Gibco verwendet. Glutaraldehyd (25%) und  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  wurde von Merck bezogen. HEPES ( $\geq 99\%$ ) und HCl (37%) wurden von der Firma Roth erhalten. Zur Einstellung des pH-Wertes der Pufferlösung wurde 1M NaOH-Lösung von Fluka eingesetzt. Wasser wurde in einem Reinstwasser-System (Ultra pure water system, TKA) deionisiert und

anschließend durch ein  $0,2\mu\text{m}$  Filter gefiltert. Der Widerstand des verwendeten Wassers betrug mindestens  $18.2\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ . Die verwendeten Glassubstrate waren  $2 \times 2\text{ cm}$  Deckgläschen der Firma Carl Roth.

### 5.2.2 Weißlichtinterferometrie

Der Gelatinefilm auf einem Deckgläschen wurde mit einem Skalpell geritzt, so dass eine Furche unter dem Mikroskop zu erkennen war. Anschließend wurde im Weißlichtinterferometer (Zygo 5000) unter Verwendung eines  $50\times$  Mirau Objektivs das Profil der Furche vermessen und darüber die Filmdicke bestimmt.

### 5.2.3 AFM-Messungen

Der Gelatinefilm auf einem Deckgläschen wurde mit einem Skalpell geritzt, so dass im AFM (MFP-3D-BIO, Asylum Research) eine Stufe sichtbar war. Bei der AFM-Messung wurde ein kommerziell erhältlicher Si *cantilever* (Olympus, Federkonstante  $0.02\text{ N/m}$ , Resonanzfrequenz  $11\text{ kHz}$ ) verwendet. Über die Messung des Stufenprofils konnte die Filmdicke bestimmt werden.

Bei der Messung im wässrigen Medium wurde der *cantilever* und die Probe zunächst mit einem Tropfen Wasser benetzt. Die Messung wurde dann gemäß dem im Handbuch beschriebenen Vorgehen durchgeführt.

### 5.2.4 Rotationsbeschichtung

Die Rotationsbeschichtung wurde im Laurell WS-400A-6NPP Lite Rotationsbeschichter durchgeführt. Dabei wurden  $100\ \mu\text{L}$  der flüssigen,  $50\text{ }^\circ\text{C}$  warmen Gelatine auf ein rotierendes Deckgläschen ( $2\text{ cm} \times 2\text{ cm}$ ) bei einer Rotationsgeschwindigkeit von  $6000\text{ U/min}$  getropft. Das Deckgläschen wurde für eine weitere Minute rotiert, um die Gelatine vollständig zu trocknen.

Zur Quervernetzung wurde  $50\text{ }^\circ\text{C}$  warme Gelatine in Eppendorf-Cups vorgelegt, mit Glutaraldehyd ( $0,5\text{ wt}\%$  Endkonzentration) vermischt und dann sofort auf das rotierende Deckgläschen getropft. Die Konzentration der verwendeten Gelatine betrug  $2,5\text{ wt}\%$ .

### 5.2.5 Enzymatischer Verdau

Zum Verdau der Gelatinefilme wurde bakterielle Kollagenase und humane Kollagenase (MMP-2) eingesetzt. Die Gelatinefilme wurden in einer Pufferlösung (50mM HEPES, 10 mM CaCl<sub>2</sub>, 5 % Glycerin, pH 7.4) bei 37 °C mit 1 unit/mL Enzym inkubiert. Bei der interferometrischen Messung wurden die Deckgläschen vor jeder Messung mit deionisiertem Wasser sanft abgespült. Für die Transmissionsmessung wurden Gelatine beschichtete Lochgitter in einer 2 mL Küvette platziert und die Küvette mit Pufferlösung gefüllt. Anschließend wurde bei 37 °C äquilibriert, bis sich ein stabiles Transmissions-Signal eingestellt hatte (ca. 30 min). Erst dann wurde die Enzymstammlösung (100  $\mu$ L, 20 units/mL) zugefügt. Vor jeder Messung wurde die Lösung in der Küvette durchgemischt.

## 5.3 Ergebnisse und Diskussion

### 5.3.1 Herstellung dünner Gelatinefilme

Um die extrazelluläre Matrix (EZM) nachzubilden, sollte zunächst ein Gelatinefilm auf einem Lochgitter erzeugt werden. Die Abhängigkeit der Transmission des Lochgitters vom umgebenden Brechungsindex kann dann ausgenutzt werden, um den enzymatischen Abbau der EZM zu detektieren.

Da die Verschiebung der Transmissionsmaxima  $\Delta\lambda_{max}$  im Verlauf des Filmabbaus möglichst groß sein sollte, kann die Filmdicke nicht beliebig sein. Es ist instruktiv sich an dieser Stelle nochmal den funktionellen Zusammenhang ins Gedächtnis zu rufen, der die Verschiebung des Transmissionsmaximums bestimmt (vgl. Kapitel 4):

$$\Delta\lambda_{max} = S_{Max}\Delta n \left(1 - e^{-\frac{2d}{\delta_d}}\right) \quad (5.1)$$

Die Brechungsindex-Sensitivität  $S_{Max}$  und die Eindringtiefe  $\delta_d$  sind durch die strukturellen Eigenschaften des Lochgitters festgelegt. Wie man aber aus der Gleichung erkennt, hängt die Verschiebung des Transmissionsmaximums  $\Delta\lambda_{max}$  auch von der Filmdicke  $d$  der Gelatine und der Änderung des Brechungsindex  $\Delta n$  ab.

Dabei entspricht  $\Delta n$  der Differenz des Brechungsindex vor und nach Abbau der Gelatine:

$$\Delta n = n_{\text{Gelatine}} - n_{\text{H}_2\text{O}} \quad (5.2)$$

Wobei  $n_{\text{Gelatine}}$  und  $n_{\text{H}_2\text{O}}$  die Brechungsindizes von Gelatine und des umgebenden Wassers sind. Der Gelatinefilm sollte dabei möglichst dünn sein, so dass der vollständige enzymatische Abbau des Films stattfinden kann. Aufgrund des exponentiellen Faktors in Gl. 5.1 nimmt  $\Delta\lambda_{\text{max}}$  jedoch auch mit wachsender Filmdicke zu und wird maximal, wenn  $d \gg \delta_d$ . Ein vernünftiger Kompromiss kann erreicht werden, wenn die Filmdicke in etwa der halben Eindringtiefe des Plasmons  $\delta_d$  entspricht, da dann der exponentielle Term bereits sehr klein ist. Wie wir im weiteren Verlauf des Kapitels sehen werden, liegen die Resonanzen der in diesem Kapitel verwendeten Lochgitter bei  $\sim 700$  nm und die Eindringtiefe der Plasmonen damit bei  $\sim 200$  nm. Zur Optimierung von  $\Delta\lambda_{\text{max}}$  sollte demzufolge die Filmdicke mindestens 100 nm betragen.

Nach der Abschätzung der benötigten Filmdicke, musste ein Verfahren entwickelt werden, mit dem sich Gelatinefilme definierter Dicke reproduzierbar erzeugen lassen. Zu diesem Zweck wurde die Rotationsbeschichtung eingesetzt. Hierbei wurde die erwärmte, flüssige Gelatine auf ein rotierendes Deckgläschen getropft und unter Rotation getrocknet. Die Dicke des Gelatinefilms ergibt sich dabei aus den verschiedenen Prozessparametern wie Rotationsgeschwindigkeit, Temperatur, sowie Konzentration und Volumen der Gelatine.

Wie sich zeigte, kann die Filmdicke über die Konzentration der Gelatine besonders bequem eingestellt werden. Um den Zusammenhang zwischen Konzentration und Filmdicke zu quantifizieren, wurden Deckgläschen mit Gelatine variierender Konzentration beschichtet und die Filmdicke anschließend im Weißlichtinterferometer bestimmt. Dabei wurde die Rotationsgeschwindigkeit, die Temperatur und das Volumen der Gelatine konstant gehalten. Wie Abb. 5.1 zu entnehmen ist, können die Daten mit einer exponentiellen Funktion sehr gut beschrieben werden (das Bestimmtheitsmaß des Fits beträgt  $R^2 = 0,9992$ ).

Für den Zusammenhang zwischen der Konzentration  $c$  der Gelatine und der Filmdicke  $d$  ergibt sich:

$$d(c) = 0,87e^{\frac{0,59c}{\text{wt}\%}} \text{ nm} + 15,77 \text{ nm} \quad (5.3)$$

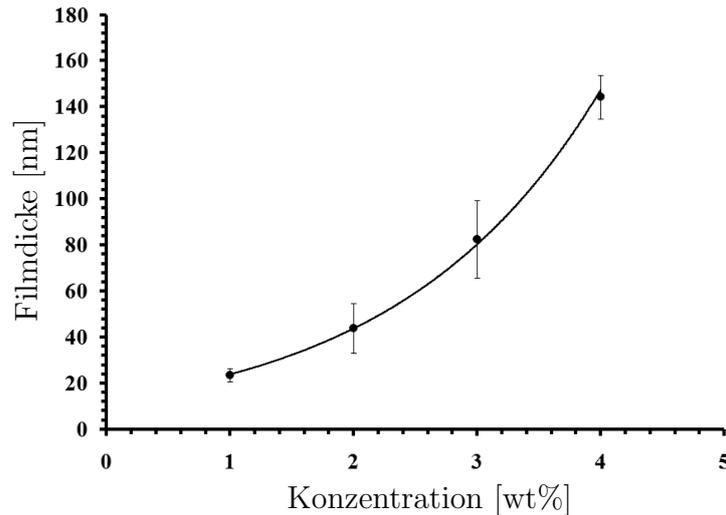


Abbildung 5.1: Filmdicke als Funktion der Gelatinekonzentration. Es ergibt sich ein exponentieller Zusammenhang zwischen der Konzentration  $c$  der Gelatine und der Filmdicke  $d$ . Erwartungsgemäß wächst die Filmdicke mit zunehmender Konzentration.

### 5.3.2 Untersuchung des Schwellverhaltens von Gelatine

Für die spätere Messung des enzymatischen Abbaus ist es zudem erforderlich, dass die Gelatinefilme in einer wässrigen Umgebung stabil bleiben. Wie sich jedoch herausstellte, lösen sich die so präparierten Filme im wässrigen Medium auf. Als Ursache für das Auflösen wurde vermutet, dass die Kollagenfasern der Matrix durch das Eindringen der Wassermoleküle auseinandergetrieben werden und die intermolekularen Wechselwirkungskräfte dann nicht mehr ausreichen, um das Fasernetzwerk zusammen zu halten.

Demzufolge sollte das Auflösen der Gelatine durch das Einführen von Quervernetzern, welche die Kollagenfasern untereinander verbinden, verhindert werden. Zur

Quervernetzung der Gelatine wurde Glutardaldehyd (GTA) im hohen Überschuss<sup>1</sup> der flüssigen Gelatine kurz vor der Rotationsbeschichtung zugegeben. Die beiden Aldehydgruppen des GTA reagieren mit den primären Aminen der Lysinreste der Kollagenmoleküle und führen dabei zur Quervernetzung der Proteinfilamente. Der funktionelle Zusammenhang zwischen Filmdicke und Konzentration aus Gl. 5.3 blieb dabei bestehen. Durch mehrtägige Inkubation in einer Pufferlösung bei 37 °C konnte gezeigt werden, dass sich die quervernetzte Gelatine in diesem Fall im wässrigen Medium nicht mehr auflöst.

Auch die vollständig quervernetzte Gelatine ist noch in der Lage durch Wasseraufnahme anzuschwellen. Dies führt dazu, dass die Filmdicke im trockenen Zustand nicht mit der Filmdicke im wässrigen Medium übereinstimmt. Die zuvor abgeschätzte optimale Filmdicke von  $\sim 100$  nm entspricht damit der Gelatine im wässrigen Medium und sollte für trockene Gelatine etwas kleiner sein.

Um die tatsächliche Filmdicke in wässriger Lösung aus der Filmdicke im trockenen Zustand einfach umrechnen zu können, muss die Schwellrate  $SR$  der Gelatine bestimmt werden. Diese gibt das Verhältnis der wässrigen (geschwollenen) Filmdicke zur trockenen (kollabierten) Filmdicke an:

$$SR = \frac{d_{H_2O}}{d_{Luft}} \quad (5.4)$$

Bei bekanntem  $SR$  ergibt sich die Filmdicke im wässrigen Medium aus dem Produkt von  $SR$  und  $d_{Luft}$ .

Um  $SR$  zu bestimmen, wurden quervernetzte Gelatinefilmen auf Deckgläschen hergestellt und die Filmdicke im AFM in wässriger Lösung bestimmt. In Abb. 5.2 sind Höhenprofile gezeigt, die aus AFM-Bildern eines trockenen und eines in Wasser geschwollenen, quervernetzten Gelatinefilms gewonnen wurden.

Die Schwellrate  $SR$  kann aus den Höhenprofilen in Wasser und Luft berechnet werden. Aus mehreren unabhängigen AFM-Messungen ergab sich hierbei eine Schwellrate von  $SR = 2,4 \pm 0,6$ . Diese direkt gemessene Schwellrate deckt sich mit Werten aus der Literatur die gravimetrisch bestimmt wurden. Hier liegt die Schwellrate querver-

---

<sup>1</sup>Die verwendete Endkonzentration betrug 0,5 wt%. Unter der Annahme, dass Gelatine etwa 4 % freie Lysine enthält und 1 Mol GTA 2 Mol Lysin quervernetzt, wären bereits 0,05 wt% zur vollständigen Quervernetzung ausreichend.

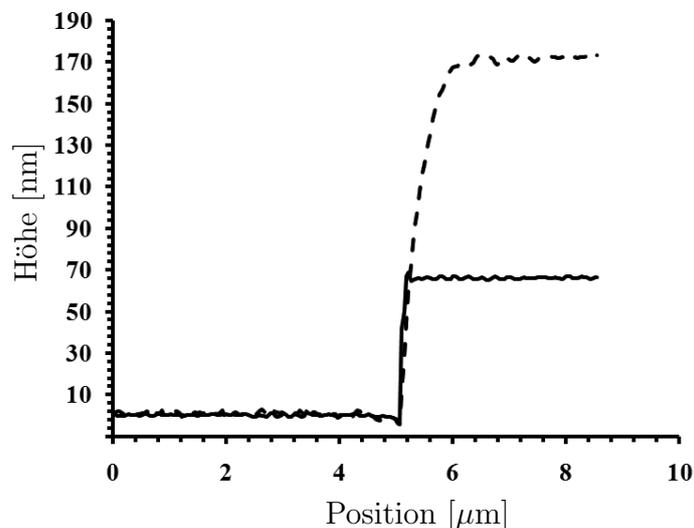


Abbildung 5.2: Höhenprofile quervernetzter Gelatine. Gezeigt ist das Höhenprofil in Luft (durchgezogene Linie) und nach eintauchen in Wasser (gestrichelte Linie). Im Beispiel ergibt sich  $SR = 2,6$ .

netzter Gelatine bei  $\sim 2$ [261].

Aus dem ermittelten Wert von  $SR$  und der oben abgeschätzten Filmdicke von  $\sim 100$  nm im wässrigen Medium, ergibt sich somit, dass die Filmdicke der trockenen Gelatine mindestens  $42 \pm 10$  nm betragen sollte. Um die Unsicherheit zu berücksichtigen und um zu gewährleisten, dass sich der Hauptteil des elektromagnetischen Feldes des Plasmons auf die Gelatine beschränkt, wurden im folgenden Gelatinefilme mit einer Filmdicke von  $\sim 60$  nm im trocknen Zustand hergestellt. Dies entspricht einer Konzentration der Gelatine von 2,5 wt%.

Die Kenntnis der Schwellrate des Gelatinefilms ist auch bei der Abschätzung der zu erwartenden Signaländerung wichtig. Durch die Wasseraufnahme des Gelatinefilms gleichen sich  $n_{Gelatine}$  und  $n_{H_2O}$  an. Dies führt aber zu einer Abnahme von  $\Delta n$  und damit von  $\Delta\lambda_{max}$ , wie man aus Gl. 5.1 sehen kann. In Abschn. 5.3.4 werden wir darauf zurückkommen.

### 5.3.3 Enzymatischer Verdau von Gelatinefilmen

Nach der allgemeinen Charakterisierung der Gelatinefilme sollte nun ihr enzymatischer Verdau untersucht werden. Dazu wurde zunächst mit einem alternativen Messsystem untersucht, ob sich der Gelatinefilm auch wie gewünscht abbauen lässt.

Hierzu wurde ein Deckgläschen mit einem Gelatinefilm beschichtet. Anschließend wurde mit einem Skalpell eine Furche in den Film geritzt. Die so präparierte Probe wurde in einer Calcium-Pufferlösung mit 1 unit/mL bakterieller Kollagenase bei 37 °C inkubiert. In gewissen Zeitabständen wurde die Probe aus der Lösung entnommen und die Filmdicke wurde interferometrisch bestimmt.

In Abb. 5.3 sind Bilder der Gelatinefilme vor und nach dem enzymatischen Verdau gezeigt. Dabei wurden die Probe nach gewissen Zeitabständen aus der Pufferlösung

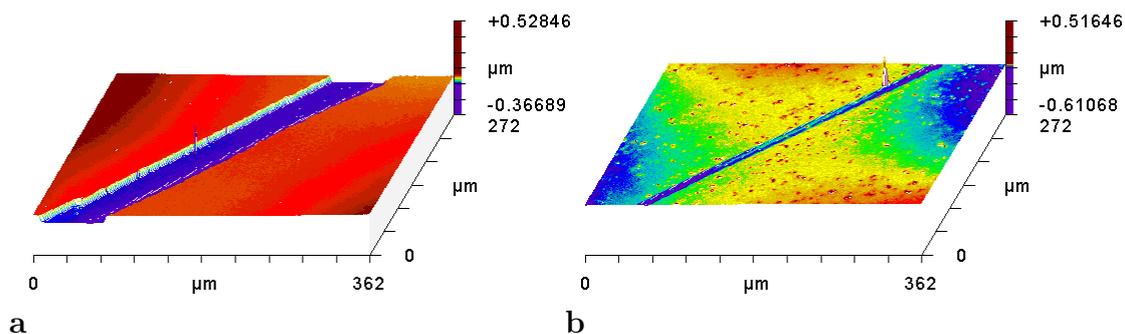


Abbildung 5.3: Gelatinefilme im Weißlichtinterferometer. (a) Die Gelatinefilm ist anfänglich 67 nm dick. Die mit dem Skalpell geritzte Furche ist deutlich zu erkennen. (b) Nach 5 h Inkubation ist die Gelatine vollständig abgebaut. Der noch sichtbare  $\sim 1$  nm tiefe Graben rührt vom Anritzen des Deckgläschens her.

entfernt und im Weißlichtinterferometer (WLI) untersucht. Aus den Höhenprofilen, die im WLI gemessen wurden kann analog zum Vorgehen im AFM die Filmdicke ermittelt werden. Der zeitlich Verlauf der Filmdicke bei Inkubation in einer Pufferlösung mit und ohne bakterielle Kollagenase ist in Abb. 5.4 zu sehen. Wie erwartet wurde der Gelatinefilm in Gegenwart des Enzyms innerhalb weniger Stunden abgebaut. Der Versuch wurde anschließend mit Gelatine beschichteten Lochgittern ( $L = 500$  nm) wiederholt, wobei diesmal die Transmission der Lochgitter in gewissen Zeitabständen

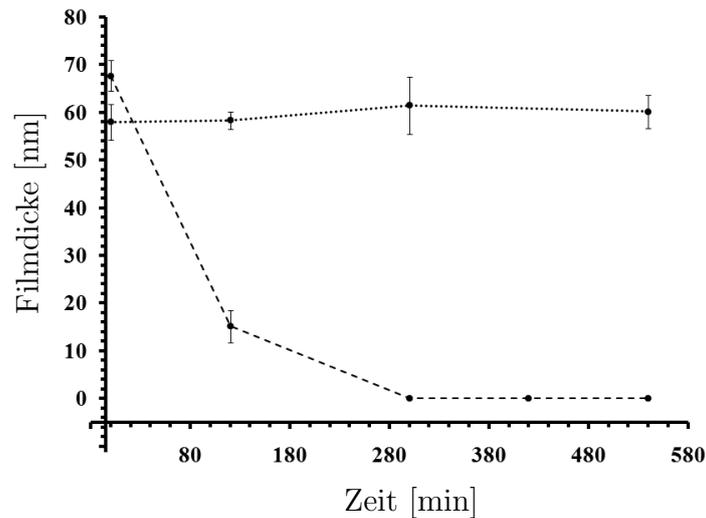


Abbildung 5.4: Zeitlicher Verlauf der im WLI gemessenen Filmdicke. Zu sehen ist die Filmdicke bei Inkubation mit Enzym (gestrichelte Linie) und bei Inkubation in einer Pufferlösung (durchgezogene Linie). In der Gegenwart des Enzyms nimmt die Filmdicke allmählich ab.

gemessen wurde. Die Ergebnisse sind für den Abbau durch humane Kollagenase in Abb. 5.5-a und durch bakterielle Kollagenase in Abb. 5.5-b gezeigt.

Wie erwartet kommt es durch den Abbau der Gelatine aufgrund der damit verbundenen Abnahme des Brechungsindex zu einer Blauverschiebung der Spektren. Zudem nimmt die Transmission etwas zu.

Die Transmissionszunahme ist zunächst überraschend, da eine maximale Transmission erwartet wird, wenn die Brechungsindizes des Glassubstrats und des umgebenden Mediums identisch sind (vgl. hierzu Kapitel 4). Da der Brechungsindex der Gelatine kleiner sein sollte als der des Glases und im Verlauf des Gelatine-Abbaus weiter abnimmt, sollte man eher eine Abnahme der Transmissionseffizienz erwarten. Die Zunahme der Transmission lässt sich vielmehr dadurch erklären, dass mit der Abnahme der Filmdicke der Gelatine auch die Streuung und Absorption abnimmt. Auf diese Weise kann die Transmission steigen, obwohl eine Zunahme der Transmissionseffizienz zu erwarten ist. Somit lassen sich zwei Signale aus den Spektren extrahieren, die direkt mit der Filmdicke der Gelatine zusammenhängen.

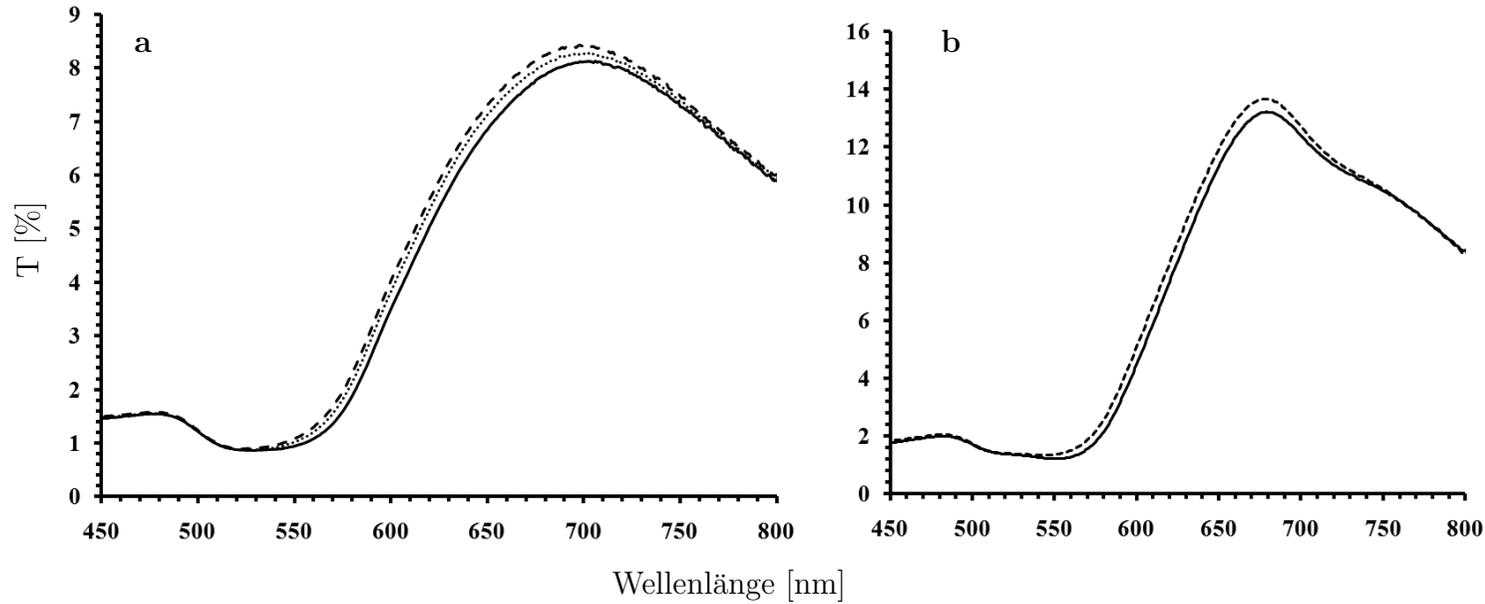


Abbildung 5.5: Transmissionsspektren eines Lochgitters im Verlauf des enzymatischen Gelatineabbaus. (a) Die Spektren entsprechen den Zeitpunkten 0 min (durchgezogene Linie), 105 min (gepunktete Linie) und 360 min (gestrichelte Linie) nach Zugabe humaner Kollagenase. Es kann eine leichte Blauverschiebung der Spektren um 4 nm, sowie eine leichte Zunahme der Transmission beobachtet werden. (b) Bei Zugabe von bakterieller Kollagenase zeigt sich ebenfalls eine Blauverschiebung um 4 nm vom Zeitpunkt 0 min (gepunktete Linie) zum Zeitpunkt 300 min (gestrichelte Linie).

Aus den Daten kann zudem die Abbaukinetik des Enzyms dargestellt werden. Hierbei wurde die Position des Maximums  $\lambda_{Max}$  gegen die Zeit aufgetragen, wie in Abb. 5.6 gezeigt ist. Die zeitliche Verschiebung von  $\lambda_{Max}$  deckt sich dabei qualitativ mit der zeitlichen Abnahme der Filmdicke aus der Interferometrischen Messung (vgl. Abb. 5.3).

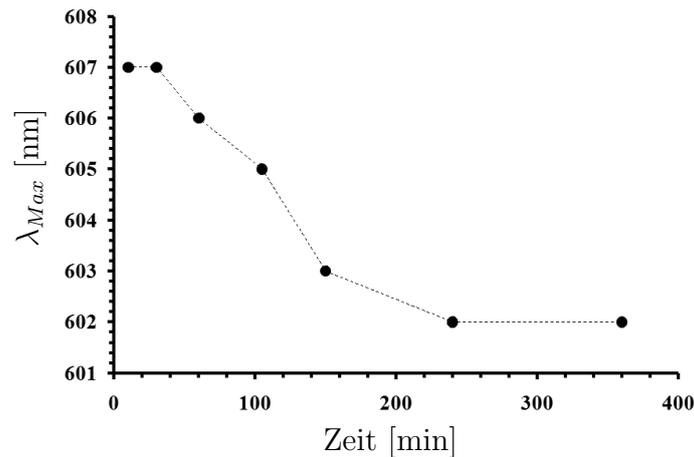


Abbildung 5.6: Zeitlicher Verlauf der Position des Transmissionsmaximums  $\lambda_{Max}$ . Der Verlauf deckt sich qualitativ mit der interferometrisch bestimmten zeitlichen Abnahme der Filmdicke.

### 5.3.4 Abschätzung des zu erwartenden $\Delta\lambda_{max}$

Die Verschiebung der Maxima ist mit  $\sim 4$  nm sehr gering. Die geringe Verschiebung kann mit Hilfe von Gl. 5.1 verstanden werden. Die Verschiebung des Signals ist zum einen proportional zur Änderung des Brechungsindex  $\Delta n$ . Der Brechungsindex trockener Gelatine wird in der Literatur mit  $n_{Gel} = 1,45 \pm 0,05$  angegeben. Wie wir gesehen haben, nimmt die Gelatine im wässrigen Medium Wasser auf und vergrößert dabei sein Volumen um einen Faktor  $2,4 \pm 0,6$ . Der Brechungsindex der geschwollenen Gelatine verschiebt sich dabei in Richtung des Brechungsindex von reinem Wasser. Diesen Brechungsindex des geschwollenen Films kann man mit Hilfe der Lorenz-Lorentz Gleichung für binäre Mischungen abschätzen:

$$\frac{n_{12}^2 - 1}{n_{12}^2 + 2} = \phi_1 \frac{n_1^2 - 1}{n_1^2 + 2} + \phi_2 \frac{n_2^2 - 1}{n_2^2 + 2} \quad (5.5)$$

Darin sind  $\phi_1$  und  $\phi_2$  die Volumenfraktionen der beiden reinen Komponenten,  $n_1$  und  $n_2$  sind ihre Brechungsindizes und  $n_{12}$  ist der Brechungsindex der Mischung. Wenn Wasser die Komponente mit dem Index 1 und Gelatine die Komponente mit dem Index 2 ist, dann ergibt sich mit  $SR \simeq 2,4$ ,  $n_1 = n_{H_2O} \simeq 1,33$  und  $n_2 = n_{Gel} \simeq 1,45$  der Brechungsindex des geschwollenen Films zu  $n_{12} \simeq 1,38$ . Daraus folgt für den vollständigen Abbau der Gelatine:  $\Delta n_{max} = n_{12} - n_{H_2O} = 0,05$ .

Unter Berücksichtigung des in Kapitel 4 ermittelten Wertes für  $S_{Max}$  von 310 nm/RIU ergibt sich damit  $\lambda_{Max} \simeq 10$  nm. Dies weicht immer noch um ein Vielfaches von der beobachteten Verschiebung ab.

Bei einer genauen Untersuchung der Lochgitter stellte sich allerdings heraus, dass die Ausgangstransmission vor der Beschichtung mit Gelatine durch den enzymatischen Verdau nicht wiederhergestellt wurde. Es ist daher davon auszugehen, dass eine dünne Schicht der Gelatine auf dem Lochgitter zurückbleibt. Es ist bekannt, dass Proteine unspezifisch an Gold adsorbieren können und die Aktivität der Enzyme führt offenbar nicht zu einer vollständigen Ablösung der Proteinketten von der Goldoberfläche. Unter Verwendung von Gl. 5.1 bedeutet die 4 nm Verschiebung, dass eine Schicht von  $\sim 47$  nm geschwollener bzw.  $\sim 20$  nm getrockneter Gelatine auf der Goldoberfläche zurückbleibt. Dieser Wert liegt sehr nah an dem in Kapitel 4 berechneten Wert für eine Rinderserum-Albumin Schicht von 29 nm. Dort wurde das Protein bewusst unspezifisch an die Oberfläche des Lochgitter gebunden. Es scheint damit wahrscheinlich, dass vor allem die Adhäsion der Gelatine an die Oberfläche des Lochgitters die drastische Verschlechterung der Signalantwort bewirkt.

Es ist schwierig, die unspezifische Adsorption der Gelatine an die Goldoberfläche zu verhindern. Um den Abbau der Gelatine sensitiver detektieren zu können, sollte daher in zukünftigen Experimenten versucht werden die Änderung des Brechungsindex  $\Delta n$  zu vergrößern. Hierbei wäre es denkbar der Gelatine ein Material mit hohem Brechungsindex, wie beispielsweise metallische Nanopartikel, zuzusetzen.

In diesem Kapitel wurde gezeigt, wie Lochgitter mit einem Gelatinefilm definierter Dicke beschichtet werden können. Bei der Abschätzung der benötigten Filmdicke wurde die Schwellrate der Gelatine und die Eindringtiefe des Plasmons berücksichtigt, um den Abbau der Gelatine möglichst sensitiv detektieren zu können.

Im Experiment konnte tatsächlich eine Verschiebung der Transmissionsmaxima im

Verlauf des enzymatischen Abbaus beobachtet werden. Mit 4 nm war die Verschiebung klein. Ursächlich hierfür ist der geringe Brechungsindex-Unterschied zwischen Wasser und geschwollener Gelatine, sowie die unvollständige Ablösung des Films von der Goldoberfläche. Eine Verbesserung der Signalantwort könnte beispielsweise durch den Zusatz eines Materials mit hohem Brechungsindex erreicht werden.

Die Ergebnisse zeigen insgesamt, dass sich Gelatine-beschichtete Lochgitter zur Untersuchung des enzymatischen Abbaus prinzipiell eignen. Das entwickelte System ist damit zur Untersuchung invasiver Tumorzellen sehr vielversprechend und sollte in zukünftigen Experimenten eingesetzt werden.



## 6 Zusammenfassung und Ausblick

Ziel dieser Arbeit war es, ein neuartiges lithographisches Verfahren zu entwickeln, mit dem sich Lochgitter in Metallfilmen mit rein chemischen Methoden herstellen lassen. Ferner sollten die optischen Eigenschaften der erhaltenen Lochgitter untersucht und vor allem hinsichtlich ihrer Sensitivität auf Brechungsindexänderungen charakterisiert werden. Ein weiteres Ziel war es, ein System zu entwickeln, mit dem sich der Abbau einer Proteinschicht verfolgen lässt, welche die extrazelluläre Matrix nachbildet. Insbesondere bei der Untersuchung von invasiven Tumorzellen hätte ein solches System große Vorteile gegenüber gegenwärtig verfügbaren Methoden.

Der erste Teil der Arbeit beschäftigt sich zunächst mit der Entwicklung eines Verfahrens zur Erzeugung zweidimensionaler Kolloidkristalle auf Glassubstraten. Die Kristalle, welche im zweiten Kapitel als lithographische Maske verwendet wurden, basieren auf Hydrogel-Mikrosphären aus Poly-(N-isopropylacrylamid) (PolyNIPAM). Diese Mikrosphären weisen eine Reihe vorteilhafter Eigenschaften auf, mit denen sie sich von Kolloiden auf der Basis harter Materialien, wie etwa  $\text{SiO}_2$  oder Polystyrol abheben.

Von wesentlicher Bedeutung ist dabei der reversible Volumenphasenübergang der Mikrosphären. Dieser bedingt eine Reduktion des Sphärendurchmessers beim Trocknungsprozess. Hierdurch können nicht-dichtest-gepackte Kristalle auf direktem Wege erhalten werden. Der Kristall ist damit ohne eine weitere Nachbehandlung als lithographische Maske zur Erzeugung von Lochgittern einsetzbar.

Daneben lässt sich bei Hydrogel-Mikrosphären aus PolyNIPAM eine Oberflächenaktivität durch Zugabe von aliphatischen Alkoholen induzieren. Dies ermöglicht die Erzeugung von Kristallen an der Grenzschicht zwischen Flüssigkeit und Luft. Wie sich zeigte, können diese "mobilen" Kristalle durch einen Prozess der dem thermischen Tempern in der Metallurgie entlehnt ist in ihrer Ordnung drastisch

verbessert werden. Dabei wird ein Luftstrom appliziert, welcher tangential zur Grenzfläche ausgerichtet ist. Die dabei auftretenden mechanischen Kräfte führen zu einer drastischen Reduktion der Anzahl der Korngrenzen im Kristall. Somit lassen sich Einkristalle erhalten, dessen Ausdehnung in der Größenordnung von  $\text{mm}^2$  liegt. Darüber hinaus zeigt PolyNIPAM eine intrinsische Toleranz gegenüber Punktdefekten. Anders als in Kristallen aus harten Materialien führten Einfügungen im Gitter nicht zu Dislokationen. Auch diese Eigenschaft schien eine wichtige Bedingung für die beobachtete außergewöhnliche Fernordnung zu sein. Insbesondere für die kolloidale Lithographie mögen diese Resultate von hoher Bedeutung sein. Vor allem die im Allgemeinen niedrige Ordnung kolloidaler Kristalle schränkt ihre Verwendbarkeit gegenwärtig ein. Zum anderen ist die Erzeugung nicht-dichtest-gepackter Kristalle bislang wenig untersucht worden bzw. nur mit aufwendigen Verfahren, wie etwa reaktives Ionenätzen, umzusetzen. Das hier entwickelte Verfahren bietet vor allem aufgrund seiner Simplität große Vorteile.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde dann ein Verfahren entwickelt, welches die erzeugten Kolloid-Kristalle als lithographische Maske bei der Herstellung von Lochgittern in Goldfilmen nutzt. Das Verfahren läuft in drei prinzipiellen Prozessschritten ab. Im ersten Schritt wird das Glassubstrat mit einem Amino- oder Mercaptosilanen funktionalisiert. Dies ermöglicht die Bindung von Goldnanopartikeln an der Glasoberfläche. Die Bindung der Goldnanopartikel muss dabei bei erhöhter Temperatur erfolgen, da somit ein Anschwellen der PolyNIPAM-Mikrosphären im wässrigen Medium verhindert werden kann.

Nach diesem Schritt können die Mikrosphären in einem Ultraschallbad entfernt werden. Anschließend werden die Goldnanopartikel mittels chemischer Goldabscheidung vergrößert und bilden dabei einen homogenen Goldfilm, der an den ursprünglichen Kolloidpositionen perforiert ist. Die Filmdicke kann über die Menge des eingesetzten Reduktionsmittels definiert werden. Hierbei wurden Strukturen mit Schichtdicken zwischen  $\sim 50 - 500$  nm erzeugt.

Die Lochgitter wiesen Gitterkonstanten zwischen  $\sim 300 - 1200$  nm, mit Lochdurchmessern zwischen  $\sim 150 - 730$  nm auf. Die Gitterkonstante konnte dabei über die Wahl des Durchmessers der eingesetzten Mikrosphären auf einfache Weise eingestellt werden.

Bei den Strukturen wurden zwei Defizite beobachtet, welche durch geeignete Nachbehandlungs-Schritte beseitigt werden können. Zum einen tritt eine hohe Oberflächenrauheit auf, welche ihren Ursprung in der rauen Struktur der Goldkolloid-Monolage hat. Durch thermisches Tempern in einer Bunsenbrenner-Flamme konnte die mittlere quadratische Rauheit drastisch reduziert werden.

Daneben können metallische Einschlüsse in den Löchern entstehen. Diese können durch eine Behandlung in einer Iodlösung selektiv entfernt werden.

Der gesamte Herstellungsprozess basiert gemäß der Zielsetzung ausschließlich auf chemischen Methoden. Damit ist das Verfahren eine besonders kostengünstige Hochdurchsatz-Methode zur Herstellung von Lochgittern in Goldfilmen. Anders als gegenwärtig eingesetzte Verfahren wie etwa die Photolithographie kann die Methode damit in jedem Standard Chemie-Labor angewendet werden und benötigt bspw. keinen Reinraum.

Die Transmission der erzeugten Lochgitter wurde im dritten Teil der Arbeit untersucht und wird erwartungsgemäß vor allem durch die Gitterkonstante bestimmt. Die Maxima und Minima der hergestellten Lochgitter liegen dabei im sichtbaren bis im nahen Infrarot. Die dabei erhaltene Transmissionseffizienz liegt zwischen 1,5-2.

Es wurde darüber hinaus die Transmission in unterschiedlichen organischen und wässrigen Lösungsmitteln untersucht. Aus den ermittelten Positionen der Transmissions-Maxima und Minima konnte die Sensitivität der Gitter auf Änderungen des Brechungsindex berechnet werden. Je nach betrachteter spektraler Signatur und Gitterkonstante ergab sich dabei die Sensitivität zu 300 - 800 nm/RIU. Sie liegt damit exakt im Bereich publizierter Werte mit dem Unterschied, dass die dabei verwendeten Lochgitter mit deutlich aufwendigeren Verfahren erzeugt wurden. Da die Ordnung des Lochgitters bei kolloidalen Lithographie-Verfahren nicht perfekt sein kann, wurde zudem der Einfluss der Ordnung auf die optischen Eigenschaften der Gitter untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass es mit abnehmender Ordnung zu einer Abnahme der Transmissionseffizienz, einer verschlechterten Auflösung spektraler Signaturen und einer Rotverschiebung der Transmissionsmaxima kommt. Anders als erwartet kann aber selbst bei niedriger Ordnung noch eine verstärkte Transmission beobachtet werden. Mit der verminderten Ordnung geht außerdem eine verschlechterte spektrale Reproduzierbarkeit und bei Betrachtung der Transmissionsminima eine

verschlechterte Sensitivität einher. Diese Ergebnisse unterstreichen die Relevanz des Verfahrens zur Herstellung kolloidaler Kristalle mit außergewöhnlicher Fernordnung, das im ersten Teil der Arbeit entwickelt wurde.

Das letzte Kapitel beschäftigte sich mit der Entwicklung eines Modellsystems, das künftig bei der Untersuchung des invasiven Potentials von Tumorzellen eingesetzt werden könnte. Das System basiert auf einem Lochgitter, welches mit einem Gelatinefilm definierter Dicke beschichtet wird. Gelatine bzw. Kollagen ist ein Hauptbestandteil der extrazellulären Matrix und wird bei pathologischen Prozessen wie etwa des invasiven Wachstums von Tumoren zerstört. Hierbei kommt es durch die Aktivität von Enzymen, welche von invasiven Tumorzellen sezerniert werden, zur Degradation der Gelatine.

In ersten Experimenten konnte gezeigt werden, dass der enzymatische Abbau eines mit Gelatine beschichteten Lochgitters zu einer sichtbaren Verschiebung der Transmissionsmaxima von etwa 4 nm führt. Zwar muss die Signalantwort in zukünftigen Experimenten optimiert werden, insgesamt zeigt sich jedoch, dass sich das entwickelte System zur Untersuchung solcher Abbau-Prozesse eignet.

Zur Verbesserung der Signalantwort wurde vorgeschlagen, die Gelatine mit metallischen Nanopartikeln anzureichern. Dies sollte die Änderung des Brechungsindex im Verlauf des Abbaus verstärken. In Zusammenarbeit mit der Gruppe Haüßer des Instituts für Zellbiologie und Immunologie an der Universität Stuttgart sollen das System künftig bei der Untersuchung invasiver Tumorzellen eingesetzt werden.

# Literaturverzeichnis

- [1] Heinz Raether. *Surface Plasmons on Smooth and Rough Surfaces and on Gratings*. Springer, December 1988.
- [2] William L. Barnes, Alain Dereux, and Thomas W. Ebbesen. Surface plasmon subwavelength optics. *Nature*, 424(6950):824–830, 2003.
- [3] E Kretschmann and H Raether. Radiative decay of nonradiative surface plasmons excited by light. *Z. Naturforsch. A*, 23:2135, 1968.
- [4] Andreas Otto. Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection. *Zeitschrift für Physik*, 216(4):398–410, 1968.
- [5] H. Ditlbacher, J. R. Krenn, N. Fálidj, B. Lamprecht, G. Schider, M. Salerno, A. Leitner, and F. R. Aussenegg. Fluorescence imaging of surface plasmon fields. *Applied Physics Letters*, 80(3):404, 2002.
- [6] B Hecht, H Bielefeldt, L Novotny, Y Inouye, and DW Pohl. Local excitation, scattering, and interference of surface plasmons. *Physical Review Letters*, 77(9):1889–1892, 1996.
- [7] Katherine A. Willets and Richard P. Van Duyne. Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing. *Annual Review of Physical Chemistry*, 58(1):267–297, 2007.
- [8] Stefan A. Maier. *Plasmonics: fundamentals and applications*. Springer, May 2007.

- [9] Junichi Takahara, Suguru Yamagishi, Hiroaki Taki, Akihiro Morimoto, and Tetsuro Kobayashi. Guiding of a one-dimensional optical beam with nanometer diameter. *Optics Letters*, 22(7):475–477, April 1997.
- [10] Robert M. Dickson and L. Andrew Lyon. Unidirectional plasmon propagation in metallic nanowires. *The Journal of Physical Chemistry B*, 104(26):6095–6098, July 2000.
- [11] J. R. Krenn, B. Lamprecht, H. Ditlbacher, G. Schider, M. Salerno, A. Leitner, and F. R. Aussenegg. Non-diffraction-limited light transport by gold nanowires. *Europhysics Letters*, 60(5):7, 2002.
- [12] John Pendry. Playing tricks with light. *Science*, 285(5434):1687–1688, 1999.
- [13] Ekmel Ozbay. Plasmonics: Merging photonics and electronics at nanoscale dimensions. *Science*, 311(5758):189–193, January 2006.
- [14] Andreas Hohenau, Joachim R. Krenn, Andrey L. Stepanov, Aurelien Drezet, Harald Ditlbacher, Bernhard Steinberger, Alfred Leitner, and Franz R. Aussenegg. Dielectric optical elements for surface plasmons. *Optics Letters*, 30(8):893–895, April 2005.
- [15] H. Ditlbacher, J. R. Krenn, G. Schider, A. Leitner, and F. R. Aussenegg. Two-dimensional optics with surface plasmon polaritons. *Applied Physics Letters*, 81(10):1762, 2002.
- [16] Sergey I Bozhevolnyi, Valentyn S Volkov, Eloïse Devaux, and Thomas W Ebbesen. Channel plasmon-polariton guiding by subwavelength metal grooves. *Physical Review Letters*, 95(4):046802, July 2005. PMID: 16090831.
- [17] Sergey I. Bozhevolnyi, Valentyn S. Volkov, Eloïse Devaux, Jean-Yves Laluet, and Thomas W. Ebbesen. Channel plasmon subwavelength waveguide components including interferometers and ring resonators. *Nature*, 440(7083):508–511, March 2006.
- [18] Carsten Marquart, Sergey Bozhevolnyi, and Kristjan Leosson. Near-field imaging of surface plasmon-polariton guiding in band gap structures at telecom wavelengths. *Optics Express*, 13(9):3303–3309, May 2005.

- [19] Sergey I. Bozhevolnyi, John Erland, Kristjan Leosson, Peter M. W. Skovgaard, and Jørn M. Hvam. Waveguiding in surface plasmon polariton band gap structures. *Physical Review Letters*, 86(14):3008, April 2001.
- [20] Leilei Yin, Vitali K. Vlasko-Vlasov, John Pearson, Jon M. Hiller, Jiong Hua, Ulrich Welp, Dennis E. Brown, and Clyde W. Kimball. Subwavelength focusing and guiding of surface plasmons. *Nano Letters*, 5(7):1399–1402, July 2005.
- [21] Zhaowei Liu, Jennifer M. Steele, Werayut Srituravanich, Yuri Pikus, Cheng Sun, and Xiang Zhang. Focusing surface plasmons with a plasmonic lens. *Nano Letters*, 5(9):1726–1729, 2005.
- [22] M. Quinten, A. Leitner, J. R. Krenn, and F. R. Aussenegg. Electromagnetic energy transport via linear chains of silver nanoparticles. *Optics Letters*, 23(17):1331–1333, 1998.
- [23] Mark L. Brongersma, John W. Hartman, and Harry A. Atwater. Electromagnetic energy transfer and switching in nanoparticle chain arrays below the diffraction limit. *Physical Review B*, 62(24):R16356, December 2000.
- [24] Sung Yong Park and David Stroud. Surface-plasmon dispersion relations in chains of metallic nanoparticles: An exact quasistatic calculation. *Physical Review B*, 69(12):125418, March 2004.
- [25] Stefan A Maier, Pieter G Kik, Harry A Atwater, Sheffer Meltzer, Elad Harel, Bruce E Koel, and Ari A G Requicha. Local detection of electromagnetic energy transport below the diffraction limit in metal nanoparticle plasmon waveguides. *Nature Materials*, 2(4):229–232, April 2003. PMID: 12690394.
- [26] Stefan A. Maier, Michelle D. Friedman, Paul E. Barclay, and Oskar Painter. Experimental demonstration of fiber-accessible metal nanoparticle plasmon waveguides for planar energy guiding and sensing. *Applied Physics Letters*, 86(7):071103, 2005.
- [27] Pierre Berini. Plasmon-polariton waves guided by thin lossy metal films of finite width: Bound modes of asymmetric structures. *Physical Review B*, 63(12):125417, March 2001.

- [28] Pierre Berini. Plasmon-polariton modes guided by a metal film of finite width bounded by different dielectrics. *Optics Express*, 7(10):329–335, November 2000.
- [29] D. S. Citrin. Plasmon-polariton transport in metal-nanoparticle chains embedded in a gain medium. *Optics Letters*, 31(1):98–100, January 2006.
- [30] Malte C. Gather, Klaus Meerholz, Norbert Danz, and Kristjan Leosson. Net optical gain in a plasmonic waveguide embedded in a fluorescent polymer. *Nat Photon*, 4(7):457–461, July 2010.
- [31] Pascal Anger, Palash Bharadwaj, and Lukas Novotny. Enhancement and quenching of single-molecule fluorescence. *Physical Review Letters*, 96(11):113002, March 2006. PMID: 16605818.
- [32] Hongxing Xu, Xue-Hua Wang, Martin P. Persson, H. Q. Xu, Mikael Käll, and Peter Johansson. Unified treatment of fluorescence and raman scattering processes near metal surfaces. *Physical Review Letters*, 93(24):243002, December 2004.
- [33] J. P. Wilcoxon, J. E. Martin, F. Parsapour, B. Wiedenman, and D. F. Kelley. Photoluminescence from nanosize gold clusters. *The Journal of Chemical Physics*, 108(21):9137, 1998.
- [34] E. Dulkeith, T. Niedereichholz, T. A. Klar, J. Feldmann, G. von Plessen, D. I. Gittins, K. S. Mayya, and F. Caruso. Plasmon emission in photoexcited gold nanoparticles. *Physical Review B*, 70(20):205424, November 2004.
- [35] H. J. Simon, D. E. Mitchell, and J. G. Watson. Optical Second-Harmonic generation with surface plasmons in silver films. *Physical Review Letters*, 33(26):1531, December 1974.
- [36] J. L. Coutaz, M. Neviere, E. Pic, and R. Reinisch. Experimental study of surface-enhanced second-harmonic generation on silver gratings. *Physical Review B*, 32(4):2227, 1985.
- [37] Vladimir M. Shalaev, E. Y. Poliakov, and V. A. Markel. Small-particle composites. II. nonlinear optical properties. *Physical Review B*, 53(5):2437, February 1996.

- [38] Sergey I. Bozhevolnyi, Jonas Beermann, and Victor Coello. Direct observation of localized Second-Harmonic enhancement in random metal nanostructures. *Physical Review Letters*, 90(19):197403, May 2003.
- [39] Katrin Kneipp, Yang Wang, Harald Kneipp, Lev T. Perelman, Irving Itzkan, Ramachandra R. Dasari, and Michael S. Feld. Single molecule detection using Surface-Enhanced raman scattering (SERS). *Physical Review Letters*, 78(9):1667, March 1997.
- [40] Shuming Nie and Steven R. Emory. Probing single molecules and single nanoparticles by Surface-Enhanced raman scattering. *Science*, 275(5303):1102–1106, February 1997.
- [41] Milton Kerker, Dau-Sing Wang, and H. Chew. Surface enhanced raman scattering (SERS) by molecules adsorbed at spherical particles: errata. *Applied Optics*, 19(24):4159–4174, December 1980.
- [42] D. A. Weitz. The enhancement of raman scattering, resonance raman scattering, and fluorescence from molecules adsorbed on a rough silver surface. *The Journal of Chemical Physics*, 78(9):5324, 1983.
- [43] Joel Gersten and Abraham Nitzan. Electromagnetic theory of enhanced raman scattering by molecules adsorbed on rough surfaces. *The Journal of Chemical Physics*, 73(7):3023, 1980.
- [44] N Fálidj, S Lau Truong, J Aubard, G Lávi, J R Krenn, A Hohenau, A Leitner, and F R Aussenegg. Gold particle interaction in regular arrays probed by surface enhanced raman scattering. *The Journal of Chemical Physics*, 120(15):7141–7146, April 2004. PMID: 15267619.
- [45] G Laurent, N Fálidj, S Lau Truong, J Aubard, G Lávi, J R Krenn, A Hohenau, A Leitner, and F R Aussenegg. Imaging surface plasmon of gold nanoparticle arrays by far-field raman scattering. *Nano Letters*, 5(2):253–258, February 2005. PMID: 15794606.
- [46] J. Grand, M. Lamy de la Chapelle, J.-L. Bijeon, P.-M. Adam, A. Vial, and P. Royer. Role of localized surface plasmons in surface-enhanced raman scat-

- tering of shape-controlled metallic particles in regular arrays. *Physical Review B*, 72(3):033407, July 2005.
- [47] Hongxing Xu. Theoretical study of coated spherical metallic nanoparticles for single-molecule surface-enhanced spectroscopy. *Applied Physics Letters*, 85(24):5980–5982, December 2004.
- [48] G. Sauer, G. Brehm, S. Schneider, H. Graener, G. Seifert, K. Nielsch, J. Choi, P. Göring, U. Gösele, P. Miclea, and R. B. Wehrspohn. In situ surface-enhanced raman spectroscopy of monodisperse silver nanowire arrays. *Journal of Applied Physics*, 97(2):024308, 2005.
- [49] Jeremy J Baumberg, Timothy A Kelf, Yoshihiro Sugawara, Suzanne Cintra, Mamdouh E Abdelsalam, Phillip N Bartlett, and Andrea E Russell. Angle-resolved surface-enhanced raman scattering on metallic nanostructured plasmonic crystals. *Nano Letters*, 5(11):2262–2267, November 2005. PMID: 16277465.
- [50] H. A. Bethe. Theory of diffraction by small holes. *Physical Review*, 66(7-8):163, October 1944.
- [51] T.W. Ebbesen, H.J. Lezec, H.F. Ghaemi, T. Thio, and P.A. Wolff. Extraordinary optical transmission through sub-wavelength hole arrays. *Nature*, 391:667–669, 1998.
- [52] H. F. Ghaemi, Tineke Thio, D. E. Grupp, T. W. Ebbesen, and H. J. Lezec. Surface plasmons enhance optical transmission through subwavelength holes. *Physical Review B*, 58(11):6779, 1998.
- [53] Daniel E Grupp, Henri J Lezec, Tineke Thio, and Thomas W Ebbesen. Beyond the bethe limit: Tunable enhanced light transmission through a single sub-wavelength aperture. *Advanced Materials*, 11(10):860–862, July 1999.
- [54] T Thio, K M Pellerin, R A Linke, H J Lezec, and T W Ebbesen. Enhanced light transmission through a single subwavelength aperture. *Optics Letters*, 26(24):1972–1974, December 2001. PMID: 18059749.

- [55] F. J. García-Vidal, H. J. Lezec, T. W. Ebbesen, and L. Martín-Moreno. Multiple paths to enhance optical transmission through a single subwavelength slit. *Physical Review Letters*, 90(21):213901, May 2003.
- [56] W. -C. Tan, T. W. Preist, and R. J. Sambles. Resonant tunneling of light through thin metal films via strongly localized surface plasmons. *Physical Review B*, 62(16):11134, October 2000.
- [57] H. J. Lezec, A. Degiron, E. Devaux, R. A. Linke, L. Martín-Moreno, F. J. García-Vidal, and T. W. Ebbesen. Beaming light from a subwavelength aperture. *Science*, 297(5582):820–822, 2002.
- [58] Claes Nylander, Bo Liedberg, and Tommy Lind. Gas detection by means of surface plasmon resonance. *Sensors and Actuators*, 3:79–88, 1982.
- [59] Bo Liedberg, Claes Nylander, and Ingemar Lundström. Surface plasmon resonance for gas detection and biosensing. *Sensors and Actuators*, 4:299–304, 1983.
- [60] L. M Zhang and D. Uttamchandani. Optical chemical sensing employing surface plasmon resonance. *Electronics Letters*, 24(23):1469–1470, November 1988.
- [61] P.S. Vukusic, G.P. Bryan-Brown, and J.R. Sambles. Surface plasmon resonance on gratings as a novel means for gas sensing. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 8(2):155–160, May 1992.
- [62] Koji Matsubara, Satoshi Kawata, and Shigeo Minami. Optical chemical sensor based on surface plasmon measurement. *Applied Optics*, 27(6):1160–1163, March 1988.
- [63] B. Liedberg, I. Lundström, and E. Stenberg. Principles of biosensing with an extended coupling matrix and surface plasmon resonance. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 11(1-3):63–72, March 1993.
- [64] Linda S. Jung, Charles T. Campbell, Timothy M. Chinowsky, Mimi N. Mar, and Sinclair S. Yee. Quantitative interpretation of the response of surface plasmon resonance sensors to adsorbed films. *Langmuir*, 14(19):5636–5648, 1998.

- [65] G.G. Nenninger, P. Tobiska, J. Homola, and S.S. Yee. Long-range surface plasmons for high-resolution surface plasmon resonance sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 74(1-3):145–151, April 2001.
- [66] J I Homola, R Slavík, and J I Tyroky. Interaction between fiber modes and surface plasmon waves: spectral properties. *Optics Letters*, 22(18):1403–1405, September 1997. PMID: 18188251.
- [67] Radan Slavik, Jiří Homola, and Jiří Ctyroky. Single-mode optical fiber surface plasmon resonance sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 54(1-2):74–79, January 1999.
- [68] Woo-Hu Tsai, Yu-Chia Tsao, Hong-Yu Lin, and Bor-Chiou Sheu. Cross-point analysis for a multimode fiber sensor based on surface plasmon resonance. *Optics Letters*, 30(17):2209–2211, September 2005. PMID: 16190420.
- [69] Jiří Homola, Sinclair S. Yee, and Günter Gauglitz. Surface plasmon resonance sensors: review. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 54(1-2):3–15, January 1999.
- [70] A.G. Brolo. Surface plasmon sensor based on the enhanced light transmission through arrays of nanoholes in gold films. *Langmuir*, 20:4813–4815, 2004.
- [71] C. Sönnichsen, S. Geier, N. E. Hecker, G. von Plessen, J. Feldmann, H. Ditlba-cher, B. Lamprecht, J. R. Krenn, F. R. Aussenegg, V. Z-H. Chan, J. P. Spatz, and M. Möller. Spectroscopy of single metallic nanoparticles using total internal reflection microscopy. *Applied Physics Letters*, 77(19):2949, 2000.
- [72] T. Klar, M. Perner, S. Grosse, G. von Plessen, W. Spirkl, and J. Feldmann. Surface-Plasmon resonances in single metallic nanoparticles. *Physical Review Letters*, 80(19):4249, May 1998.
- [73] V. A. Markel, V. M. Shalaev, P. Zhang, W. Huynh, L. Tay, T. L. Haslett, and M. Moskovits. Near-field optical spectroscopy of individual surface-plasmon modes in colloid clusters. *Physical Review B*, 59(16):10903, April 1999.

- [74] A. A. Mikhailovsky, M. A. Petruska, Kuiru Li, M. I. Stockman, and V. I. Klimov. Phase-sensitive spectroscopy of surface plasmons in individual metal nanostructures. *Physical Review B*, 69(8):085401, February 2004.
- [75] G. Raschke, S. Kowarik, T. Franzl, C. Sönnichsen, T. A. Klar, J. Feldmann, A. Nichtl, and K. Kürzinger. Biomolecular recognition based on single gold nanoparticle light scattering. *Nano Letters*, 3(7):935–938, July 2003.
- [76] Amanda J. Haes, W. Paige Hall, Lei Chang, William L. Klein, and Richard P. Van Duyne. A localized surface plasmon resonance biosensor: First steps toward an assay for alzheimer’s disease. *Nano Letters*, 4(6):1029–1034, June 2004.
- [77] Ivan H El-Sayed, Xiaohua Huang, and Mostafa A El-Sayed. Surface plasmon resonance scattering and absorption of anti-EGFR antibody conjugated gold nanoparticles in cancer diagnostics: applications in oral cancer. *Nano Letters*, 5(5):829–834, May 2005. PMID: 15884879.
- [78] Sang-Kee Eah, Heinrich M. Jaeger, Norbert F. Scherer, Gary P. Wiederrecht, and Xiao-Min Lin. Plasmon scattering from a single gold nanoparticle collected through an optical fiber. *Applied Physics Letters*, 86(3):031902, 2005.
- [79] Keita Mitsui, Yoichiro Handa, and Kotaro Kajikawa. Optical fiber affinity biosensor based on localized surface plasmon resonance. *Applied Physics Letters*, 85(18):4231, 2004.
- [80] Michelle Duval Malinsky, K. Lance Kelly, George C. Schatz, and Richard P. Van Duyne. Chain length dependence and sensing capabilities of the localized surface plasmon resonance of silver nanoparticles chemically modified with alkanethiol Self-Assembled monolayers. *Journal of the American Chemical Society*, 123(7):1471–1482, February 2001.
- [81] Amanda J. Haes, Shengli Zou, George C. Schatz, and Richard P. Van Duyne. Nanoscale optical biosensor: Short range distance dependence of the localized surface plasmon resonance of noble metal nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry B*, 108(22):6961–6968, June 2004.

- [82] Amanda J. Haes, Shengli Zou, George C. Schatz, and Richard P. Van Duyne. A nanoscale optical biosensor: The long range distance dependence of the localized surface plasmon resonance of noble metal nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry B*, 108(1):109–116, January 2004.
- [83] Marc Madou. *Fundamentals of Microfabrication: The Science of Miniaturization*. Taylor & Francis Ltd., 2nd ed. edition, March 2002.
- [84] Wolfgang Ehrfeld. *Handbuch Mikrotechnik*. Fachbuchverlag Leipzig, October 2001.
- [85] Chris Mack. *Fundamental Principles of Optical Lithography: The Science of Microfabrication*. John Wiley & Sons, 1. auflage edition, November 2007.
- [86] Bruno LaFontaine. Lasers and moore’s law. *SPIE Professional*, 2010.
- [87] Ryoung-han Kim. 22nm-node logic lithography at the boundary of the resolution limit. *SPIE Newsroom*, 2010.
- [88] Alexis J. Torres, Min Wu, David Holowka, and Barbara Baird. Nanobiotechnology and cell biology: Micro- and nanofabricated surfaces to investigate Receptor-Mediated signaling. *Annual Review of Biophysics*, 37(1):265–288, 2008.
- [89] C. W. Gwyn. Extreme ultraviolet lithography. *Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures*, 16(6):3142, 1998.
- [90] ES Wu, JH Strickler, WR Harrell, and WW Webb. Two-photon lithography for microelectronic application. *Proceedings of the SPIE - The International Society for Optical Engineering*, 1674(pt.2), 1992.
- [91] Seokwoo Jeon, Viktor Malyarchuk, John A. Rogers, and Gary P. Wiederrecht. Fabricating three-dimensional nanostructures using two photon lithography in a single exposure step. *Optics Express*, 14(6):2300–2308, March 2006.
- [92] Younan Xia, Enoch Kim, Xiao-Mei Zhao, John A. Rogers, Mara Prentiss, and George M. Whitesides. Complex optical surfaces formed by replica molding against elastomeric masters. *Science*, 273(5273):347–349, July 1996.

- [93] Younan Xia and George M. Whitesides. SOFT LITHOGRAPHY. *Annual Review of Materials Science*, 28(1):153–184, August 1998.
- [94] Younan Xia and George M Whitesides. Soft lithography. *Angewandte Chemie International Edition*, 37(5):550–575, March 1998.
- [95] James L Wilbur, Amit Kumar, Hans A Biebuyck, Enoch Kim, and George M Whitesides. Microcontact printing of self-assembled monolayers: applications in microfabrication. *Nanotechnology*, 7(4):452–457, December 1996.
- [96] Arjan P. Quist, Elisabeth Pavlovic, and Sven Oscarsson. Recent advances in microcontact printing. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 381(3):591–600, February 2005.
- [97] Yueh-Lin Loo, Robert L. Willett, Kirk W. Baldwin, and John A. Rogers. Interfacial chemistries for nanoscale transfer printing. *Journal of the American Chemical Society*, 124(26):7654–7655, July 2002.
- [98] Yueh-Lin Loo, Julia W. P. Hsu, Robert L. Willett, Kirk W. Baldwin, Ken W. West, and John A. Rogers. High-resolution transfer printing on GaAs surfaces using alkane dithiol monolayers. *Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures*, 20(6):2853, 2002.
- [99] H. Schmid, H. Wolf, R. Allenspach, H. Riel, S. Karg, B. Michel, and E. Delamar-che. Preparation of metallic films on elastomeric stamps and their application for contact processing and contact printing. *Advanced Functional Materials*, 13(2):145–153, February 2003.
- [100] Jana Zaumseil, Matthew A. Meitl, Julia W. P. Hsu, Bharat R. Acharya, Kirk W. Baldwin, Yueh-Lin Loo, and John A. Rogers. Three-Dimensional and multilayer nanostructures formed by nanotransfer printing. *Nano Letters*, 3(9):1223–1227, 2003.
- [101] John A. Rogers and Ralph G. Nuzzo. Recent progress in soft lithography. *Materials Today*, 8(2):50–56, February 2005.
- [102] Stephen Y. Chou, Peter R. Krauss, and Preston J. Renstrom. Imprint of sub-25 nm vias and trenches in polymers. *Applied Physics Letters*, 67(21):3114, 1995.

- [103] Stephen Y. Chou, Peter R. Krauss, and Preston J. Renstrom. Imprint lithography with 25-Nanometer resolution. *Science*, 272(5258):85–87, April 1996.
- [104] Stephen Y Chou, Peter R Krauss, and Preston J Renstrom. Nanoimprint lithography. *Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures*, 14(6):4129–4133, November 1996.
- [105] Helmut Schift. Nanoimprint lithography: An old story in modern times? a review. *Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures*, 26(2):458, 2008.
- [106] Gang Zhang and Dayang Wang. Colloidal Lithography-The art of nanochemical patterning. *Chemistry - An Asian Journal*, 4(2):236–245, February 2009.
- [107] S.-M. Yang, S.G. Jang, D.-G. Choi, S. Kim, and H.K. Yu. Nanomachining by colloidal lithography. *Small*, 2(4):458–475, 2006.
- [108] Miri Park, Christopher Harrison, Paul M. Chaikin, Richard A. Register, and Douglas H. Adamson. Block copolymer lithography: Periodic arrays of  $\sim 10^{11}$  holes in 1 square centimeter. *Science*, 276(5317):1401–1404, May 1997.
- [109] Joachim P. Spatz, Stefan Mössmer, Christoph Hartmann, Martin Möller, Thomas Herzog, Michael Krieger, Hans-Gerd Boyen, Paul Ziemann, and Bernd Kabius. Ordered deposition of inorganic clusters from micellar block copolymer films. *Langmuir*, 16(2):407–415, January 2000.
- [110] Roman Glass, Martin M ller, and Joachim P Spatz. Block copolymer micelle nanolithography. *Nanotechnology*, 14(10):1153–1160, October 2003.
- [111] I W Hamley. Nanostructure fabrication using block copolymers. *Nanotechnology*, 14(10):R39–R54, October 2003.
- [112] Matteo Altissimo. E-beam lithography for micro-nanofabrication. *Biomicrofluidics*, 4(2), 2010. PMID: 20697574.
- [113] F Watt, AA Bettiol, Van Kan, EJ Teo, and MBH Breese. Ion beam lithography and nanofabrication: a review. *International Journal of Nanoscience*, 4(3):269–286, 2005.

- [114] David S Ginger, Hua Zhang, and Chad A Mirkin. The evolution of Dip-Pen nanolithography. *Angewandte Chemie International Edition*, 43(1):30–45, January 2004.
- [115] C. Vieu, F. Carcenac, A. Pépin, Y. Chen, M. Mejias, A. Lebib, L. Manin-Ferlazzo, L. Couraud, and H. Launois. Electron beam lithography: resolution limits and applications. *Applied Surface Science*, 164(1-4):111–117, September 2000.
- [116] Eugene Hecht. *Optik*. Oldenbourg, 3., vollständig überarb. a. edition, April 2001.
- [117] R.F. Egerton. *Physical Principles of Electron Microscopy: An Introduction to TEM, SEM, and AEM*. Springer, August 2005.
- [118] Gerd Kaupp. *Atomic Force Microscopy, Scanning Nearfield Optical Microscopy and Nanoscratching: Application to Rough and Natural Surfaces*. Springer, Berlin, 1 edition, August 2006.
- [119] R. Arshady. Suspension, emulsion, and dispersion polymerization: A methodological survey. *Colloid & Polymer Science*, 270(8):717–732, 1992.
- [120] Antony S. Dimitrov and Kuniaki Nagayama. Continuous convective assembling of fine particles into Two-Dimensional arrays on solid surfaces. *Langmuir*, 12(5):1303–1311, January 1996.
- [121] H. W. Deckman. Applications of surface textures produced with natural lithography. *Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures*, 1(4):1109, 1983.
- [122] Bart Van Duffel, Robin Ras, Frans De Schryver, and Robert Schoonheydt. Langmuir-Blodgett deposition and optical diffraction of Two-Dimensional opal. *Journal of Materials Chemistry*, 12(11):3333–3336, 2001.
- [123] Hye Jin Nam, Ju-Hee Kim, Duk-Young Jung, Jong Bae Park, and Hae Seong Lee. Two-dimensional nanopatterning by PDMS relief structures of polymeric colloidal crystals. *Applied Surface Science*, 254(16):5134–5140, June 2008.

- [124] Shin. Self-assembled colloidal structures for photonics. *NPG Asia Materials*, 2011.
- [125] M. J Serpe, J. Kim, and L. A Lyon. Colloidal hydrogel microlenses. *Advanced Materials*, 16(2):184–187, January 2004.
- [126] U. Ch. Fischer. Submicroscopic pattern replication with visible light. *Journal of Vacuum Science and Technology*, 19(4):881, 1981.
- [127] H. W. Deckman. Natural lithography. *Applied Physics Letters*, 41(4):377, 1982.
- [128] H. W. Deckman. Macromolecular self-organized assemblies. *Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures*, 6(1):333, 1988.
- [129] John C. Hulteen. Nanosphere lithography: A materials general fabrication process for periodic particle array surfaces. *Journal of Vacuum Science & Technology A: Vacuum, Surfaces, and Films*, 13(3):1553, 1995.
- [130] Christy L. Haynes, Adam D. McFarland, Matthew T. Smith, John C. Hulteen, and Richard P. Van Duyne. Angle-Resolved nanosphere lithography: Manipulation of nanoparticle size, shape, and interparticle spacing. *The Journal of Physical Chemistry B*, 106(8):1898–1902, February 2002.
- [131] Christy L. Haynes and Richard P. Van Duyne. Nanosphere lithography: A versatile nanofabrication tool for studies of Size-Dependent nanoparticle optics. *The Journal of Physical Chemistry B*, 105(24):5599–5611, June 2001.
- [132] Traci R. Jensen, Michelle Duval Malinsky, Christy L. Haynes, and Richard P. Van Duyne. Nanosphere lithography: Tunable localized surface plasmon resonance spectra of silver nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry B*, 104(45):10549–10556, November 2000.
- [133] Yu Lu, Gang L. Liu, Jaeyoun Kim, Yara X. Mejia, and Luke P. Lee. Nanophotonic crescent moon structures with sharp edge for ultrasensitive biomolecular detection by local electromagnetic field enhancement effect. *Nano Letters*, 5(1):119–124, January 2005.

- [134] O. Vickreva, O. Kalinina, and E. Kumacheva. Colloid crystal growth under oscillatory shear. *Advanced Materials*, 12(2):110–112, January 2000.
- [135] Q. H. Wei and X. L. Wu. Grain boundary dynamics under mechanical annealing in two-dimensional colloids. *Physical Review E*, 70(2):020401, 2004.
- [136] Toshimitsu Kanai and Tsutomu Sawada. New route to produce dry colloidal crystals without cracks. *Langmuir*, 25(23):13315–13317, December 2009.
- [137] Enoch Kim, Younan Xia, and George M Whitesides. Two- and three-dimensional crystallization of polymeric microspheres by micromolding in capillaries. *Advanced Materials*, 8(3):245–247, March 1996.
- [138] Otto L. J Pursiainen, Jeremy J Baumberg, Holger Winkler, Benjamin Viel, Peter Spahn, and Tilmann Ruhl. Shear-Induced organization in flexible polymer opals. *Advanced Materials*, 20(8):1484–1487, April 2008.
- [139] Tilmann Ruhl, Peter Spahn, Holger Winkler, and Goetz P Hellmann. Large area monodomain order in colloidal crystals. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 205(10):1385–1393, July 2004.
- [140] Raul Mayoral, Joaquin Requena, José S Moya, Cefe López, Adelaida Cintas, Hernán Miguez, Francisco Meseguer, Luis Vázquez, Miguel Holgado, and Álvaro Blanco. 3D long-range ordering in ein SiO<sub>2</sub> submicrometer-sphere sintered superstructure. *Advanced Materials*, 9(3):257–260, March 1997.
- [141] Jie Sun, Chao jun Tang, Peng Zhan, Zhen lv Han, Zhi-Shen Cao, and Zhen-Lin Wang. Fabrication of Centimeter-Sized Single-Domain Two-Dimensional colloidal crystals in a Wedge-Shaped cell under capillary forces. *Langmuir*, 26(11):7859–7864, June 2010.
- [142] Wei Wang, Baohua Gu, Liyuan Liang, and William Hamilton. Fabrication of two- and Three-Dimensional silica nanocolloidal particle arrays. *The Journal of Physical Chemistry B*, 107(15):3400–3404, April 2003.
- [143] N.D. Denkov, O.D. Velev, P.A. Kralchevsky, I.B. Ivanov, H. Yoshimura, and K. Nagayama. Mechanism of formation of two-dimensional crystals from latex particles on substrates. *Langmuir*, 8:3183–3190, 1992.

- [144] T. Hellweg, C.D. Dewhurst, E. Brueckner, K. Kratz, and W. Eimer. Colloidal crystals made of poly(N-isopropylacrylamide) microgel particles. *Colloid Polym Sci*, 278:972–978, 2000.
- [145] Xiao Li, Tieqiang Wang, Junhu Zhang, Xin Yan, Xuemin Zhang, Difu Zhu, Wei Li, Xun Zhang, and Bai Yang. Modulating Two-Dimensional Non-Close-Packed colloidal crystal arrays by deformable soft lithography. *Langmuir*, 26(4):2930–2936, February 2010.
- [146] Jun Zhou, Guonan Wang, Manuel Marquez, and Zhibing Hu. The formation of crystalline hydrogel films by self-crosslinking microgels. *Soft Matter*, 5(4):820, 2009.
- [147] L. Andrew Lyon, Zhiyong Meng, Neetu Singh, Courtney D. Sorrell, and Ashlee St. John. Thermoresponsive microgel-based materials. *Chemical Society Reviews*, 38(4):865, 2009.
- [148] Ashlee St. John Iyer and L. Andrew Lyon. Self-Healing colloidal crystals. *Angewandte Chemie International Edition*, 48(25):4562–4566, June 2009.
- [149] M. A Ray and L. Jia. Micropatterning by Non-Densely packed interfacial colloidal crystals. *Advanced Materials*, 19(15):2020–2022, August 2007.
- [150] Peng Jiang, Tushar Prasad, Michael J. McFarland, and Vicki L. Colvin. Two-dimensional nonclose-packed colloidal crystals formed by spincoating. *Applied Physics Letters*, 89(1):011908, 2006.
- [151] Christian Bohley and Ralf Stannarius. Inclusions in free standing smectic liquid crystal films. *Soft Matter*, 4(4):683, 2008.
- [152] Igor Muševič, Miha Škarabot, Uroš Tkalec, Miha Ravnik, and Slobodan Žumer. Two-Dimensional nematic colloidal crystals Self-Assembled by topological defects. *Science*, 313(5789):954–958, 2006.
- [153] I. I. Smalyukh, S. Chernyshuk, B. I. Lev, A. B. Nych, U. Ognysta, V. G. Nazarenko, and O. D. Lavrentovich. Ordered droplet structures at the liquid crystal surface and Elastic-Capillary colloidal interactions. *Physical Review Letters*, 93(11):117801, 2004.

- [154] R.H. Pelton and P. Chibante. Preparation of aqueous latices with n-isopropylacrylamide. *Colloids Surfaces*, 20:247–256, 1986.
- [155] Gang Zhang, Dayang Wang, Zhong-Ze Gu, Jürgen Hartmann, and Helmuth Möhwald. Two-Dimensional Non-Close-Packing arrays derived from Self-Assembly of biomineralized hydrogel spheres and their patterning applications. *Chemistry of Materials*, 17(21):5268–5274, October 2005.
- [156] S. Tsuji and H. Kawaguchi. Self-assembly of poly(N-isopropylacrylamide)-carrying microspheres into two-dimensional colloidal arrays. *Langmuir*, 21:2434–2437, 2005.
- [157] H. M. Crowther and B. Vincent. Swelling behavior of poly- n -isopropylacrylamide microgel particles in alcoholic solutions. *Colloid & Polymer Science*, 276(1):46–51, 1998.
- [158] Ju Zhang and Robert Pelton. Poly(N-isopropylacrylamide) microgels at the Air/Water interface. *Langmuir*, 15(23):8032–8036, November 1999.
- [159] W.L. Barnes, W.A. Murray, J. Dintinger, E. Devaux, and T.W. Ebbesen. Surface plasmon polaritons and their role in the enhanced transmission of light through periodic arrays of subwavelength holes in a metal film. *Phys. Rev. Lett.*, 92(10):107401\_1–107401\_4, 2004.
- [160] J.C. Sharpe, J.S. Mitchell, L. Lin, N. Sedoglavich, and R.J. Blaikie. Gold nanohole array substrates as immunobiosensors. *Anal. Chem.*, 80:2244–2249, 2008.
- [161] A. De Leebeek, L.K.S. Kumar, V. de Lange, D. Sinton, R. Gordon, and A.G. Brolo. On-chip surface-based detection with nanohole arrays. *Anal. Chem.*, 79:4094–4100, 2007.
- [162] J. Henzie, M.H. Lee, and T.W. Odom. Multiscale patterning of plasmonic metamaterials. *Nat. Nanotechnol.*, 2:549–554, 2007.
- [163] V. Malyarchuk, F. Hua, N.H. Mack, V.T. Velasquez, J.O. White, R.G. Nuzzo, and J.A. Rogers. High performance plasmonic crystal sensor formed by soft nanoimprint lithography. *Opt. Express*, 13(15):5669–5675, 2005.

- [164] W. Wu, A. Katsnelson, O.G. Memis, and H. Mohseni. A deep sub-wavelength process for the formation of highly uniform arrays of nanoholes and nanopillars. *Nanotechnology*, 18:485302\_1–485302\_4, 2007.
- [165] F. Burmeister, C. Schaeffe, B. Keilhofer, C. Bechinger, J. Boneberg, and P. Leiderer. From mesoscopic to nanoscopic surface structures: lithography with colloid monolayers. *Adv. Mater.*, 10(6):495–497, 1998.
- [166] L. Lu and A. Eychmueller. Ordered macroporous bimetallic nanostructures: design, characterization, and applications. *Acc. Chem. Res.*, 41(2):244–253, 2008.
- [167] Y. Li, W. Cai, and G. Duan. Ordered micro/nanostructured arrays based on the monolayer colloidal crystals. *Chem. Mater.*, 20(3):615–624, 2008.
- [168] M.A. Wood. Colloidal lithography and current fabrication techniques producing in-plane nanotopography for biological applications. *J. R. Soc. Interface*, 4:1–17, 2007.
- [169] G. Ctistis, P. Patoka, X. Wang, K. Kempa, and M. Giersig. Optical transmission through hexagonal arrays of subwavelength holes in thin metal films. *Nano Lett.*, 7(9):2926–2930, 2007.
- [170] W.A. Murray, S. Astilean, and W.L. Barnes. Transition from localized surface plasmon resonance to extended surface plasmon-polariton as metallic nanoparticles merge to form a periodic hole array. *Phys. Rev. B*, 69:165407–1 – 165407–7, 2004.
- [171] P.N. Bartlett, J.J. Baumberg, P.R. Birkin, M.A. Ghanem, and M.C. Netti. Highly ordered macroporous gold and platinum films formed by electrochemical deposition through templates assembled from submicron diameter monodisperse polystyrene spheres. *Chem. Mater.*, 14(5):2199–2208, 2002.
- [172] John Turkevich, Peter Cooper Stevenson, and James Hillier. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Society*, 11:55, 1951.

- [173] G. Frens. Particle size and sol stability in metal colloids. *Kolloid-Zeitschrift & Zeitschrift für Polymere*, 250(7):736–741, July 1972.
- [174] J. Kimling, M. Maier, B. Okenve, V. Kotaidis, H. Ballot, and A. Plech. Turkevich method for gold nanoparticle synthesis revisited. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(32):15700–15707, 2006.
- [175] Daniel K Schwartz. Mechanisms and kinetics of self-assembled monolayer formation. *Annual Review of Physical Chemistry*, 52(1):107–137, October 2001.
- [176] L H Dubois and R G Nuzzo. Synthesis, structure, and properties of model organic surfaces. *Annual Review of Physical Chemistry*, 43(1):437–463, October 1992.
- [177] Y. Han, D. Mayer, A. Offenhäusser, and S. Ingebrandt. Surface activation of thin silicon oxides by wet cleaning and silanization. *Thin Solid Films*, 510(1-2):175–180, July 2006.
- [178] Wei Wang and Mark. W Vaughn. Morphology and amine accessibility of (3-Aminopropyl) triethoxysilane films on glass surfaces. *Scanning*, 30(2):65–77, March 2008.
- [179] Andrew N. Shipway, Michal Lahav, Rachel Gabai, and Itamar Willner. Investigations into the electrostatically induced aggregation of au nanoparticles. *Langmuir*, 16(23):8789–8795, November 2000.
- [180] Sho Asakura and Fumio Oosawa. On interaction between two bodies immersed in a solution of macromolecules. *The Journal of Chemical Physics*, 22(7):1255, 1954.
- [181] Sho Asakura and Fumio Oosawa. Interaction between particles suspended in solutions of macromolecules. *Journal of Polymer Science*, 33(126):183–192, December 1958.
- [182] James V. Coe, Shaun M. Williams, Kenneth R. Rodriguez, Shannon Teeters-Kennedy, Alexandra Sudnitsyn, and Frank Hrovat. Extraordinary ir transmission with metallic arrays of subwavelength holes. *Analytical Chemistry*, 78(5):1384–1390, March 2006.

- [183] R. Ullrich. Modes of propagation on an open periodic waveguide for the far infrared. *Polytechnic Press of the Polytechnic Institute of New York*, pages 359–376, 1974.
- [184] D. E. Grupp, H. J. Lezec, T. W. Ebbesen, K. M. Pellerin, and Tineke Thio. Crucial role of metal surface in enhanced transmission through subwavelength apertures. *Applied Physics Letters*, 77(11):1569, 2000.
- [185] F Przybilla, A Degiron, J-Y Laluet, C Genet, and T W Ebbesen. Optical transmission in perforated noble and transition metal films. *Journal of Optics A: Pure and Applied Optics*, 8(5):458–463, 2006.
- [186] Shaun M. Williams and James V. Coe. Dispersion study of the infrared transmission resonances of freestanding ni microarrays. *Plasmonics*, 1(1):87–93, 2006.
- [187] Yi-Tsung Chang, Tzu-Hung Chuang, Ming-Wei Tsai, Lung-Chien Chen, and Si-Chen Lee. Dispersion relation of Al<sub>2</sub>Si surface plasmon in hexagonally ordered aluminum hole arrays. *Journal of Applied Physics*, 101(5):054305, 2007.
- [188] Yasin Ekinici, Harun H. Solak, and Christian David. Extraordinary optical transmission in the ultraviolet region through aluminum hole arrays. *Optics Letters*, 32(2):172–174, January 2007.
- [189] A. Degiron, H.J. Lezec, W.L. Barnes, and T.W. Ebbesen. Effects of hole depth on enhanced light transmission through subwavelength hole arrays. *Applied Physics Letters*, 81(23):4327–4329, 2002.
- [190] Kunihiko Ishihara, Tomofumi Ikari, Hiroaki Minamide, Jun ichi Shikata, Keishi Ohashi, Hiroyuki Yokoyama, and Hiromasa Ito. Terahertz Near-Field imaging using enhanced transmission through a single subwavelength aperture. *Japanese Journal of Applied Physics*, 44(No. 29):L929–L931, 2005.
- [191] Fumiaki Miyamaru, Masaki Tanaka, and Masanori Hangyo. Effect of hole diameter on terahertz surface-wave excitation in metal-hole arrays. *Physical Review B*, 74(15):153416, October 2006.

- [192] D.S. Kim, S.C. Hohng, V. Malyarchuk, Y.C. Yoon, Y.H. Ahn, K.J. Yee, J.W. Park, J. Kim, Q.H. Park, and C. Lienau. Microscopic origin of surface-plasmon radiation in plasmonic band-gap nanostructures. *Phys. Rev. Lett.*, 91(143901\_1-143901\_4), 2003.
- [193] Ahmer Naweed, Frank Baumann, Jr. Bailey, Aram S. Karakashian, and William D. Goodhue. Evidence for radiative damping in surface-plasmon-mediated light transmission through perforated conducting films. *Journal of the Optical Society of America B*, 20(12):2534–2538, December 2003.
- [194] K. L. van der Molen, F. B. Segerink, N. F. van Hulst, and L. Kuipers. Influence of hole size on the extraordinary transmission through subwavelength hole arrays. *Applied Physics Letters*, 85(19):4316, 2004.
- [195] K. J. Klein Koerkamp, S. Enoch, F. B. Segerink, N. F. van Hulst, and L. Kuipers. Strong influence of hole shape on extraordinary transmission through periodic arrays of subwavelength holes. *Physical Review Letters*, 92(18):183901, May 2004.
- [196] K. L. van der Molen, K. J. Klein Koerkamp, S. Enoch, F. B. Segerink, N. F. van Hulst, and L. Kuipers. Role of shape and localized resonances in extraordinary transmission through periodic arrays of subwavelength holes: Experiment and theory. *Physical Review B*, 72(4):045421, July 2005.
- [197] R. Gordon, A. G. Brolo, A. McKinnon, A. Rajora, B. Leathem, and K. L. Kavanagh. Strong polarization in the optical transmission through elliptical nanohole arrays. *Physical Review Letters*, 92(3):037401, January 2004.
- [198] Mei Sun, Rong-Juan Liu, Zhi-Yuan Li, Bing-Ying Cheng, Dao-Zhong Zhang, Haifang Yang, and Aizi Jin. Enhanced near-infrared transmission through periodic h-shaped arrays. *Physics Letters A*, 365(5-6):510–513, June 2007.
- [199] Chia-Yi Chen, Ming-Wei Tsai, Tzu-Hung Chuang, Yi-Tsung Chang, and Si-Chen Lee. Extraordinary transmission through a silver film perforated with cross shaped hole arrays in a square lattice. *Applied Physics Letters*, 91(6):063108, 2007.

- [200] L. K. S. Kumar and R. Gordon. Overlapping Double-Hole nanostructure in a metal film for localized field enhancement. *Selected Topics in Quantum Electronics, IEEE Journal of*, 12(6):1228–1232, 2006.
- [201] T. Thio, H.F. Ghaemi, H.J. Lezec, P.A. Wolff, and T.W. Ebbesen. Surface-plasmon-enhanced transmission through hole arrays in cr films. *J. Opt. Soc. Am. B*, 16(10):1743–1748, 1999.
- [202] Sun Mei, Tian Jie, Li Zhi-Yuan, Cheng Bing-Ying, Zhang Dao-Zhong, Jin Ai-Zi, and Yang Hai-Fang. The role of periodicity in enhanced transmission through subwavelength hole arrays. *Chinese Physics Letters*, 23(2):486–488, 2006.
- [203] F. Przybilla, C. Genet, and T. W. Ebbesen. Enhanced transmission through penrose subwavelength hole arrays. *Applied Physics Letters*, 89(12):121115, 2006.
- [204] R. Gordon, M. Hughes, B. Leathem, K. L. Kavanagh, and A. G. Brolo. Basis and lattice polarization mechanisms for light transmission through nanohole arrays in a metal film. *Nano Letters*, 5(7):1243–1246, July 2005.
- [205] T. Onishi, T. Tanigawa, T. Ueda, and D. Ueda. Polarization control of Vertical-Cavity Surface-Emitting lasers by utilizing surface plasmon resonance. *Quantum Electronics, IEEE Journal of*, 43(12):1123–1128, 2007.
- [206] Fumiaki Miyamaru and Masanori Hangyo. Strong optical activity in chiral metamaterials of metal screw hole arrays. *Applied Physics Letters*, 89(21):211105, 2006.
- [207] Yongdong Liu and Steve Blair. Fluorescence enhancement from an array of subwavelength metal apertures. *Optics Letters*, 28(7):507–509, April 2003.
- [208] Thomas H. Reilly, Shih-Hui Chang, Jordan D. Corbman, George C. Schatz, and Kathy L. Rowlen. Quantitative evaluation of plasmon enhanced raman scattering from nanoaperture arrays. *The Journal of Physical Chemistry C*, 111(4):1689–1694, February 2007.

- [209] A. Lesuffleur, L. K. S. Kumar, A. G. Brolo, K. L. Kavanagh, and R. Gordon. Apex-Enhanced raman spectroscopy using Double-Hole arrays in a gold film. *The Journal of Physical Chemistry C*, 111(6):2347–2350, February 2007.
- [210] J.V. Coe, J.M. Heer, S. Teeters-Kennedy, H. Tian, and K.R. Rodriguez. Extraordinary transmission of metal films with arrays of subwavelength holes. *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 59:179–202, 2008.
- [211] Shaun M. Williams, Amanda D. Stafford, Kenneth R. Rodriguez, Trisha M. Rogers, and James V. Coe. Accessing surface plasmons with ni microarrays for enhanced IR absorption by monolayers. *The Journal of Physical Chemistry B*, 107(43):11871–11879, October 2003.
- [212] Kenneth R. Rodriguez, Summit Shah, Shaun M. Williams, Shannon Teeters-Kennedy, and James V. Coe. Enhanced infrared absorption spectra of self-assembled alkanethiol monolayers using the extraordinary infrared transmission of metallic arrays of subwavelength apertures. *The Journal of Chemical Physics*, 121(18):8671, 2004.
- [213] James V. Coe, Kenneth R. Rodriguez, Shannon Teeters-Kennedy, Katherine Cilwa, Joseph Heer, Hong Tian, and Shaun M. Williams. Metal films with arrays of tiny holes: Spectroscopy with infrared plasmonic scaffolding. *The Journal of Physical Chemistry C*, 111(47):17459–17472, November 2007.
- [214] R. Ulrich. Far-infrared properties of metallic mesh and its complementary structure. *Infrared Physics*, 7(1):37–55, March 1967.
- [215] R. C. McPhedran and D. Maystre. On the theory and solar application of inductive grids. *Applied Physics*, 14(1):1–20, 1977.
- [216] P.J. Bliok, L.C. Botten, R. Deleuil, R.C. Mc Phedran, and D. Maystre. Inductive grids in the region of diffraction anomalies: Theory, experiment, and applications. *Microwave Theory and Techniques, IEEE Transactions on*, 28(10):1119–1125, 1980.
- [217] C. Genet. Light in tiny holes. *Nature*, 445:39–46, 2007.

- [218] M. U. Pralle, N. Moelders, M. P. McNeal, I. Puscasu, A. C. Greenwald, J. T. Daly, E. A. Johnson, T. George, D. S. Choi, I. El-Kady, and R. Biswas. Photonic crystal enhanced narrow-band infrared emitters. *Applied Physics Letters*, 81(25):4685, 2002.
- [219] R. Biswas, C. G. Ding, I. Puscasu, M. Pralle, M. McNeal, J. Daly, A. Greenwald, and E. Johnson. Theory of subwavelength hole arrays coupled with photonic crystals for extraordinary thermal emission. *Physical Review B*, 74(4):045107, July 2006.
- [220] Ci-Ling Pan, Cho-Fan Hsieh, Ru-Pin Pan, Masaki Tanaka, Fumiaki Miyamaru, Masahiko Tani, and Masanori Hangyo. Control of enhanced THz transmission through metallic hole arrays using nematic liquid crystal. *Optics Express*, 13(11):3921–3930, May 2005.
- [221] J. Dintinger, S. Klein, and T. W. Ebbesen. Molecule-surface plasmon interactions in hole arrays: Enhanced absorption, refractive index changes, and All?Optical switching. *Advanced materials*, 18(10):1267–1270, February 2006.
- [222] A. Krishnan, T. Thio, T. J. Kim, H. J. Lezec, T. W. Ebbesen, P. A. Wolff, J. Pendry, L. Martin-Moreno, and F. J. Garcia-Vidal. Evanescently coupled resonance in surface plasmon enhanced transmission. *Optics Communications*, 200(1-6):1–7, December 2001.
- [223] Jiri Homola. Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species. *Chemical Reviews*, 108(2):462–493, February 2008.
- [224] Niroshan Ramachandran, Dale N. Larson, Peter R. H. Stark, Eugenie Hainsworth, and Joshua LaBaer. Emerging tools for real-time label-free detection of interactions on functional protein microarrays. *The FEBS journal*, 272(21):5412–5425, October 2005.
- [225] Jimin Yao, Matthew E. Stewart, Joana Maria, Tae-Woo Lee, Stephen K. Gray, John A. Rogers, and Ralph G. Nuzzo. Seeing molecules by eye: Surface plasmon resonance imaging at visible wavelengths with high spatial resolution and sub-monolayer sensitivity. *Angewandte Chemie International Edition*, 47(27):5013–5017, 2008.

- [226] Kevin A. Tetz, Lin Pang, and Yeshaiahu Fainman. High-resolution surface plasmon resonance sensor based on linewidth-optimized nanohole array transmittance. *Optics Letters*, 31(10):1528–1530, May 2006.
- [227] Kevin A. Tetz, Rostislav Rokitski, Maziar Nezhad, and Yeshaiahu Fainman. Excitation and direct imaging of surface plasmon polariton modes in a two-dimensional grating. *Applied Physics Letters*, 86(11):111110, 2005.
- [228] Erwin Altevischer, Cyriaque Genet, Martin P. van Exter, J. P. Woerdman, Paul F. A. Alkemade, Arjan van Zuuk, and Emile W. J. M. van der Drift. Polarization tomography of metallic nanohole arrays. *Optics Letters*, 30(1):90–92, January 2005.
- [229] Antoine Lesuffleur, Hyungsoon Im, Nathan C. Lindquist, Kwan Seop Lim, and Sang-Hyun Oh. Laser-illuminated nanohole arrays for multiplex plasmonic microarray sensing. *Optics Express*, 16(1):219–224, January 2008.
- [230] F. Eftekhari, R. Gordon, J. Ferreira, A. G. Brolo, and D. Sinton. Polarization-dependent sensing of a self-assembled monolayer using biaxial nanohole arrays. *Applied Physics Letters*, 92(25):253103, 2008.
- [231] Jacqueline Ferreira, Marcos J. L. Santos, Mohammad M. Rahman, Alexandre G. Brolo, Reuven Gordon, David Sinton, and Emerson M. Girotto. Attomolar protein detection using in-Hole surface plasmon resonance. *Journal of the American Chemical Society*, 131(2):436–437, January 2009.
- [232] Jiun-Chan Yang, Jin Ji, James M. Hogle, and Dale N. Larson. Metallic nanohole arrays on fluoropolymer substrates as small Label-Free Real-Time bioprobes. *Nano Letters*, 8(9):2718–2724, 2008.
- [233] J. H. W. G. den Boer, G. M. W. Kroesen, and F. J. de Hoog. Measurement of the complex refractive index of liquids in the infrared using spectroscopic attenuated total reflection ellipsometry: correction for depolarization by scattering. *Applied Optics*, 34(25):5708–5714, 1995.
- [234] John E. Bertie, R. Norman Jones, Yoram Apelblat, and C. Dale Keefe. Infrared intensities of liquids XIII: accurate optical constants and molar absorption co-

efficients between 6500 and 435  $\text{cm}^{-1}$  of toluene at 25 C, from spectra recorded in several laboratories. *Applied Spectroscopy*, 48(1):127–143, January 1994.

- [235] Chang-Bong Kim and Chin B Su. Measurement of the refractive index of liquids at 1.3 and 1.5 micron using a fibre optic fresnel ratio meter. *Measurement Science and Technology*, 15(9):1683–1686, 2004.
- [236] J Rheims, J Köser, and T Wriedt. Refractive-index measurements in the near-IR using an abbe refractometer. *Measurement Science and Technology*, 8(6):601–605, 1997.
- [237] J. Vincent-Geisse. Dispersion of some organic liquids in the infrared determination of band intensities and of polarization. Dispersion de quelques liquides organiques dans l’infrarouge. détermination des intensités de bandes et des polarisations. *Journal de Physique*, 26(6):8, 1965.
- [238] C. Dale Keefe and Janet E. Pickup. Infrared optical constants, dielectric constants, molar polarizabilities, transition moments, dipole moment derivatives and raman spectrum of liquid cyclohexane. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 72(5):947–953, June 2009.
- [239] L. G. SCHULZ and F. R. TANGHERLINI. Optical constants of silver, gold, copper, and aluminum. II. the index of refraction  $n$ . *Journal of the Optical Society of America*, 44(5):362–367, May 1954.
- [240] M. A. Ordal, L. L. Long, R. J. Bell, S. E. Bell, R. R. Bell, Jr. Alexander, and C. A. Ward. Optical properties of the metals al, co, cu, au, fe, pb, ni, pd, pt, ag, ti, and w in the infrared and far infrared. *Applied Optics*, 22(7):1099–1119, April 1983.
- [241] Michaël Sarrazin, Jean-Pol Vigneron, and Jean-Marie Vigoureux. Role of wood anomalies in optical properties of thin metallic films with a bidimensional array of subwavelength holes. *Physical Review B*, 67(8):085415, February 2003.
- [242] Tatsunosuke Matsui, Amit Agrawal, Ajay Nahata, and Z. Vally Vardeny. Transmission resonances through aperiodic arrays of subwavelength apertures. *Nature*, 446(7135):517–521, March 2007.

- [243] Domenico Pacifici, Henri J. Lezec, Luke A. Sweatlock, Robert J. Walters, and Harry A. Atwater. Universal optical transmission features in periodic and quasi-periodic hole arrays. *Optics Express*, 16(12):9222–9238, June 2008.
- [244] Ibrahim Abdulhalim, Mohammad Zourob, and Akhlesh Lakhtakia. Surface plasmon resonance for biosensing: A Mini-Review. *Electromagnetics*, 28(3):214, 2008.
- [245] Beata Sweryda-Krawiec, Halagowder Devaraj, George Jacob, and James J. Hickman. A new interpretation of serum albumin surface passivation. *Langmuir*, 20(6):2054–2056, March 2004.
- [246] Albert A. Fisk. The thicknesses of hemoglobin and bovine serum albumin molecules as unimolecular layers adsorbed onto films of barium stearate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 36(10):518–523, October 1950. PMID: 14808137 PMCID: 1063236.
- [247] D L Crowe and C F Shuler. Regulation of tumor cell invasion by extracellular matrix. *Histology and Histopathology*, 14(2):665–671, April 1999. PMID: 10212827.
- [248] I Stamenkovic. Matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. *Seminars in Cancer Biology*, 10(6):415–433, December 2000. PMID: 11170864.
- [249] R A Cairns, R Khokha, and R P Hill. Molecular mechanisms of tumor invasion and metastasis: an integrated view. *Current Molecular Medicine*, 3(7):659–671, November 2003. PMID: 14601640.
- [250] L. A. Liotta, K. Tryggvason, S. Garbisa, Ian Hart, C. M. Foltz, and S. Shafie. Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. *Nature*, 284(5751):67–68, March 1980.
- [251] M A Moses, D Wiederschain, K R Loughlin, D Zurakowski, C C Lamb, and M R Freeman. Increased incidence of matrix metalloproteinases in urine of cancer patients. *Cancer Research*, 58(7):1395–1399, April 1998. PMID: 9537238.

- [252] Ursula Pieper-Fürst, Ulrike Kleuser, Walter F M Stöcklein, Axel Warsinke, and Frieder W Scheller. Detection of subpicomolar concentrations of human matrix metalloproteinase-2 by an optical biosensor. *Analytical Biochemistry*, 332(1):160–167, September 2004. PMID: 15301961.
- [253] F J G M Kubben, C F M Sier, W van Duijn, G Griffioen, R Hanemaaijer, C J H van de Velde, J H J M van Krieken, C B H W Lamers, and H W Verspaget. Matrix metalloproteinase-2 is a consistent prognostic factor in gastric cancer. *British Journal of Cancer*, 94(7):1035–1040, April 2006. PMID: 16538217.
- [254] Lizeng Gao, Njideka Mbonu, Liangliang Cao, and Di Gao. Label-Free colorimetric detection of gelatinases on nanoporous silicon photonic films. *Analytical Chemistry*, 80(5):1468–1473, March 2008.
- [255] Boris I Ratnikov, Elena I Deryugina, and Alex Y Strongin. Gelatin zymography and substrate cleavage assays of matrix metalloproteinase-2 in breast carcinoma cells overexpressing membrane type-1 matrix metalloproteinase. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology*, 82(11):1583–1590, November 2002. PMID: 12429818.
- [256] A F Chambers and L M Matrisian. Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis. *Journal of the National Cancer Institute*, 89(17):1260–1270, September 1997. PMID: 9293916.
- [257] Alissa M. Weaver. Invadopodia: Specialized cell structures for cancer invasion. *Clinical & Experimental Metastasis*, 23(2):97–105, July 2006.
- [258] Hideki Yamaguchi, Mike Lorenz, Stephan Kempf, Corina Sarmiento, Salvatore Coniglio, Marc Symons, Jeffrey Segall, Robert Eddy, Hiroaki Miki, Tadaomi Takenawa, and John Condeelis. Molecular mechanisms of invadopodium formation. *The Journal of Cell Biology*, 168(3):441–452, January 2005. PMID: 15684033 PMCID: 2171731.
- [259] Emma T. Bowden, Peter J. Coopman, Susette C. Mueller, and Harry A. Crissman Zbigniew Darzynkiewicz. Chapter 29 invadopodia: Unique methods for measurement of extracellular matrix degradation in vitro. In *Cytometry*, volume Volume 63, Part 1, pages 613–627. Academic Press, 2001.

- [260] C. Mueller and Jing-Yi Zhou. Crosslinked gelatin beads: A culture method for the study of cell adhesion and invasion. *Journal of Tissue Culture Methods*, 16(3-4):183–188, 1994.
- [261] 3rd Ofner, C M and H Schott. Swelling studies of gelatin. i: Gelatin without additives. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 75(8):790–796, August 1986. PMID: 3580032.



# Abkürzungen

**AFM** Atomic Force Microscope

**BCML** Block-Copolymer-Mizellare-Nanolithographie

**BIS** N,N - Methylene Bisacrylamid

**CG** chemische Goldabscheidung

$d$  Lochdurchmesser

$\delta_d$  Eindringtiefe

$\epsilon_m$  Permittivität des Metalls

$\epsilon_d$  Permittivität des Dielektrikums

$\eta$  Transmissionseffizienz

**EtOH** Ethanol

**FFT** Fast-Fouriertransformation

$g(r)$  Radiale Verteilungsdichte

**hdp** hexagonal-dichtest gepackt

**KL** kolloidale Lithographie

$L$  Gitterkonstante

**MeOH** Methanol

**MMP** Matrix-Metalloprotease

**ndp** nicht-dichtest-gepackt

**NIL** Nanoimprint-Lithographie

**NIPAM** N-Isopropylacrylamid

**LOP** lokalisierten Oberflächenplasmonen

**OP** Oberflächenplasmonen

**OPP** Oberflächenplasmonen-Polariton

**PDMS** Polydimethylsiloxan

$\phi_i$  Volumenfraktion der Komponente i

**PL** Photolithographie

**PolyNIPAM** Poly-(N-isopropylacrylamid)

**REM** Rasterelektronenmikroskop

**RIU** Refractive index unit

**RSA** Rinder Serum Albumin

**SDS** Natriumdodecylsulfat

$\sigma_1$  Breite des 1. Maximums der radialen Verteilungsdichte

**SL** Soft-Lithography

$S_{Max}$  Sensitivität des Maximums

$S_{Min}$  Sensitivität des Minimums

$SR$  Schwellrate

**TM** Transversal Magnetisch

# Veröffentlichungen

## Journals

S. B. Quint, C. Pacholski. Extraordinary Long Range Order in Self-Healing Non-Close Packed 2D Arrays, *Soft Matter*, 7:3735-3738, 2011

S. B. Quint, C. Pacholski. A chemical route to sub-wavelength hole arrays in metallic films, *Journal of Materials Chemistry*, 19:5906-5908, 2009

S. B. Quint, C. Pacholski. The effect of lattice order on the Extraordinary Transmission of hole arrays, in Vorbereitung

## Patente

S. B. Quint, C. Pacholski. Extraordinary long ranger order in 2 D polyNIPAM crystals obtained by applying shear stress, *Internationale Patentanmeldung Nr. PCT/EP2011/001081*

S. B. Quint, C. Pacholski. Highly ordered arrays of nanoholes in metallic films and methods for producing the same, *Internationale Patentanmeldung Nr. PCT/EP2009/001574*

## Konferenzbeiträge

S. B. Quint, C. Pacholski. A simple chemical approach for the fabrication of sub-wavelength hole arrays, *109. Hauptversammlung der Deutschen Bunsen-Gesellschaft für Physikalische Chemie e.V.*, Bielefeld, 2010

### **Andere Veröffentlichungen**

S. Quint, S. Widmaier, D. Minde, D. Hornburg, D. Langosch, C. Scharnagl. Residue-specific side-chain packing determines the backbone dynamics of transmembrane model helices, *Biophysical Journal*, 99(8):2541-9, 2010

B. Poschner, S. Quint, D. Langosch. Sequence-specific conformational dynamics of model transmembrane domains determines their membrane fusogenic function, *Journal of Molecular Biology*, 386(3):733-41, 2009

# Danksagung

Drei Jahre sind nun vergangen. Die experimentellen Arbeiten sind abgeschlossen, die Dissertation ist verfasst und ich blicke voller Zufriedenheit auf das Erreichte zurück. In der Rückschau fällt mir aber auch auf, wie viele Menschen zum Gelingen meiner Arbeit beigetragen und mich auf meinem Weg unterstützt haben. Ich möchte diese Gelegenheit nutzen, um den maßgeblichen Helfern an dieser Stelle meinen ausdrücklichen Dank auszusprechen.

Zu allererst bedanke ich mich bei Prof. Dr. Joachim Spatz für die Möglichkeit, hier am MPI für Intelligente Systeme meine Doktorarbeit durchzuführen und für die Mitfinanzierung meiner Stelle.

Die hervorragenden Laborbedingungen, die gewährte wissenschaftliche Freiheit und die konstruktiven Anregungen zu meinem Projekt haben zum Erfolg meiner Arbeit wesentlich beigetragen. Bedanken möchte ich mich auch für die Möglichkeit, an Konferenzen, *Research-Schools* und Gruppenseminaren teilzunehmen und für die Unterstützung bei Patentangelegenheiten.

Meinem Zweitgutachter, PD Dr. Reiner Dahint, danke ich für die spontane Zusage meine Arbeit zu begutachten und zu diskutieren.

Besonders herzlich bedanke ich mich bei Dr. Claudia Pacholski. Sie hat das sehr interessante Promotionsthema für mich bereitgestellt und meine Stelle aus eigenen Projektgeldern finanziert. Beim Schreiben von Veröffentlichungen und Patenten hat sie mich stets unterstützt und mein Vorankommen mit viel Enthusiasmus kontinuierlich begleitet.

Vor allem aber war sie mir immer ein warmherziger und vertrauensvoller Ansprechpartner und hat meine Arbeit durch Ideen, Kritik und Anregungen bereichert.

In Sebastian Lechner, Christoph Morhard, Lindarti Purwaningsih und Simon Ullrich habe ich gute und wichtige Freunde gefunden. Bei Euch bedanke ich mich für die vielen gemeinsamen sportlichen und abendlichen Aktivitäten und die fortwährende moralische Unterstützung. Das humorvolle Arbeiten und Beisammensein hat mir die Energie gegeben, diese Arbeit erfolgreich zu Ende zu führen.

Auch Lisa Maus, Christine Muth und Ann-Kathrin Wandner danke ich für zahlreiche Spaziergänge, Gespräche und herzliche Aufmunterungen, durch die ihr mich sehr unterstützt habt.

Für ihr stets offenes Ohr und ihren kompetenten Rat bei chemischen und physikalischen Fragestellungen danke ich insbesondere Roberto Fiamengo, Stefan Kudera und Günter Majer.

Sebastian Lechner, Sebastian Kruss, Stefan Kudera, Christoph Morhard, Claudia Pacholski und Manuel Schneckenburger haben mich zudem durch das kritische Lesen meiner Dissertation sehr unterstützt. Auch dafür sei an dieser Stelle gedankt.

Meinen Helfern beim experimentellen Arbeiten möchte ich ebenfalls ausdrücklich danken. Bei der Herstellung von Lochgittern halfen meine Praktikanten Christian Beren und Amaury Delamare, sowie mein HiWi Oguz Sarioglu. Die Techniker Ioanis Grigoridis, Conny Miksch, Christine Mollenhauer und Radka Solnicova halfen beim Gebrauch des REM und AFM und unterstützten bei der Synthese und Aufreinigung von Hydrogel-Partikeln.

Zur guten Arbeitsatmosphäre im Chemie- und Dip-Labor haben auch meine Kollegen Timo Burek, Sebastian Scheeler, Margit Knapp und Maria Sycha beigetragen. Auch Ihnen möchte ich an dieser Stelle meinen Dank für die tolle Zusammenarbeit aussprechen.

Gedankt sei auch meinen Kooperationspartnern Dr. Angelika Haußer und Dr. Sandra Barisic von der Universität Stuttgart. Sie haben mich bei der Entwicklung des Modellsystems zur Untersuchung des enzymatischen Gelatine-Abbaus fachlich unterstützt.

Mein tiefster Dank gilt meinen Eltern. Ihr habt mir das Studium ermöglicht und mich auf diesen positiven Lebensweg geführt. Ich danke Euch für die liebevolle Unterstützung, die ihr mir in jeglicher Hinsicht entgegengebracht habt.

Auch bei meinen drei Brüdern, meiner Familie, insbesondere Topsy und Thorsten, und meinen engsten Freunden möchte ich mich bedanken. Die Zeit mit Euch hat mir immer wieder den Mut und die Kraft gegeben, mich allen Herausforderungen erfolgreich zu stellen.

Abschließend bedanke ich mich natürlich beim gesamten Arbeitskreis Spatz und allen Unterstützern, die ich hier nicht namentlich aufgeführt habe für die tolle Zeit!

# Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, die vorliegende Arbeit selbstständig und unter ausschließlicher Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel erstellt zu haben.

Die Arbeit wurde bisher in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und auch nicht veröffentlicht.

Stuttgart, 28. Juli 2011

\_\_\_\_\_  
Unterschrift