

Entwicklung eines integrierten multifunktionalen Fluoreszenzdetektors

X. Ma*, A. Grewe*, M. Hillenbrand*, S. Sinzinger*, M. Schädel**, S. Görlandt**
M. Baca***, A. Schober***

*Fachgebiet Technische Optik, TU Ilmenau

**CiS Forschungsinstitut für Mikrosensorik und Photovoltaik GmbH, Erfurt

***Fachgebiet Nanobiosystemtechnik, TU Ilmenau

<mailto:xuan.ma@tu-ilmenau.de>

Fluoreszenzdetektion hat eine große Bedeutung in biologischen und medizinischen Anwendungen für die Analyse verschiedener Farbstoffe und Zellkulturen. Durch Kombination von Fluidik, Optik und Elektronik ist die Realisierung eines kompakten und hochempfindlichen Messsystems möglich, welches vorteilhaft bei der Messung von Proben mit kleinen Volumina ist.

1 Einführung

Bei vielen biochemischen Untersuchungen wird das vom beleuchteten Material emittierte Fluoreszenzlicht ausgenutzt, welches in der Regel eine größere Wellenlänge besitzt als das Anregungslicht. Diese Eigenschaft ermöglicht die Detektion von Substanzen mit sehr geringer Konzentration, was in der Praxis oft erforderlich ist. Für unsere Anwendungen wird ein multifunktionaler Fluoreszenzdetektor entwickelt, mit dem die Absorptions- und Fluoreszenzmessung unterschiedlicher Farbstoffe in Segmented-Flow-Systemen ermöglicht wird.

2 Design Konzept

Um Messungen verschiedener Farbstoffen zu ermöglichen und somit die Flexibilität des Systems zu erhöhen, besteht der Fluoreszenzdetektor aus vier Messkanälen. Sie unterscheiden sich durch verschiedene LED-Filter-Kombinationen, die hinsichtlich der Eigenschaften der zu untersuchenden Farbstoffen optimiert werden. Die große Herausforderung beim Systemdesign besteht auf Grund des sehr kleinen Bauraums (15mm x 15mm x 20mm), so dass konventionelle optische Elemente nicht mehr eingesetzt werden können. Eine Miniaturisierung und Integration des optischen Systems ist notwendig.

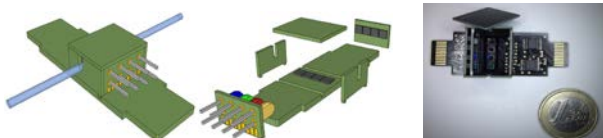


Abb. 1 Aufbau des Fluoreszenzdetektors.

Bild 1 zeigt die Darstellung des gesamten Aufbaus (links) und den gefertigten Detektor (rechts). Als Fluidikkanäle werden sowohl ein FEP-Schlauch mit einem Innendurchmesser von 0,5mm als auch

ein PVC-Röhrchen mit einem Innendurchmesser von 0,9mm verwendet.

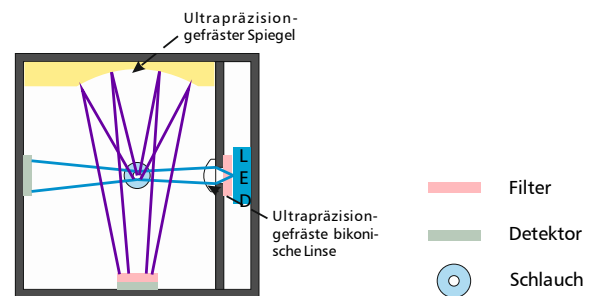


Abb. 2 Designprinzip des optischen Systems im Fluoreszenzdetektor.

In Bild 2 werden der Querschnitt eines Messkanäls und das Designprinzip des optischen Systems dargestellt. Direkt nach dem LED wird ein angepasster Kurzpass-Filter eingesetzt. Dadurch wird der Lichtanteil blockiert, welcher eine größere Wellenlänge besitzt als die benötigte Anregungswellenlänge. Um das Segment mit einem Durchmesser von 0,5mm und einer Länge von 2,5mm zu beleuchten, ist die Verwendung einer bikonischen Linse zur Fokussierung notwendig. Der Detektor an der Seite empfängt das Licht nach dem Segment und dient somit zur Absorptionsmessung. Mit dem unteren Detektor wird das Fluoreszenzlicht nach dem Langpass-Filter detektiert. Da der Filter eine winkelabhängige Eigenschaft hat, ist eine vollständige Trennung des fluoreszierten Lichtes vom Anregungslicht nur dann gewährleistet, wenn der Einfallswinkel des Strahls auf dem Filter innerhalb von $\pm 15^\circ$ liegt. Um das Signal-Rausch-Verhältnis und somit die Empfindlichkeit des Systems zu erhöhen, wird zusätzlich ein elliptischer Spiegel zum Sammeln des Fluoreszenzlichtes auf dem Deckel aufgebracht.

3 Simulation und Fertigung

Die optische Simulation des Systems wurde mit dem Design-Software ZEMAX™ durchgeführt. Da Anregungs- und Fluoreszenzstrahlengang keinen direkten Einfluss aufeinander haben, werden sie separat modelliert und optimiert. Das Design wurde für die vier Kanäle mit unterschiedlichen Wellenlängen angepasst. Bild 3 zeigt das Modell nach der Optimierung der bikonischen Linse und des elliptischen Spiegels.

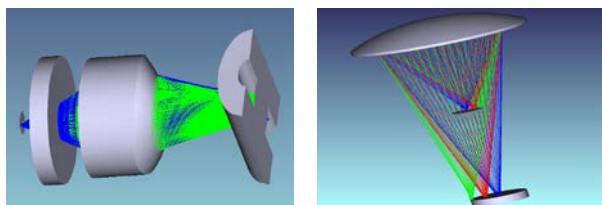


Abb. 3 Die simulierte bikonische Linse(links) und der elliptische Spiegel (rechts).

Mit Hilfe einer Ultrapräzisionsbearbeitungsmaschine war es möglich, den Spiegel und die Linse mit komplexer Form durch Mikrofräsen herzustellen. Die bikonische Linsengruppe wurde in einer PMMA-Platte mit einer Dicke von 2mm gefertigt. Als Grundmaterial für den elliptischen Spiegel wurde eine eloxierte Al-Platte verwendet, so dass die schwarze Oberfläche der unbearbeiteten Stellen gleichzeitig als Blende wirkt. Die gefertigten Elemente sind im Bild 4 zu sehen.

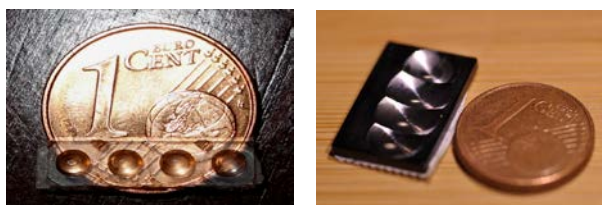


Abb. 4 Die gefertigte bikonische Linse(links) und der elliptische Spiegel (rechts).

4 Messergebnisse

Die Messungen von Resorufin mit einer Konzentrationsreihe wurden sowohl im FEP-Schlauch als auch im PVC-Röhrchen durchgeführt. Bild 5 zeigt die Messergebnisse. Eine 2-fache Erhöhung des Signals auf Grund des zusätzlichen Spiegels wurde festgestellt. Das Minimum der messbaren Konzentration liegt bei 100nM ohne Spiegel und bei 50nM mit Spiegel für beide Fluidikkanal-Konfigurationen. Die für die biochemischen Untersuchungen erforderliche niedrige Konzentration wurde erfolgreich detektiert.

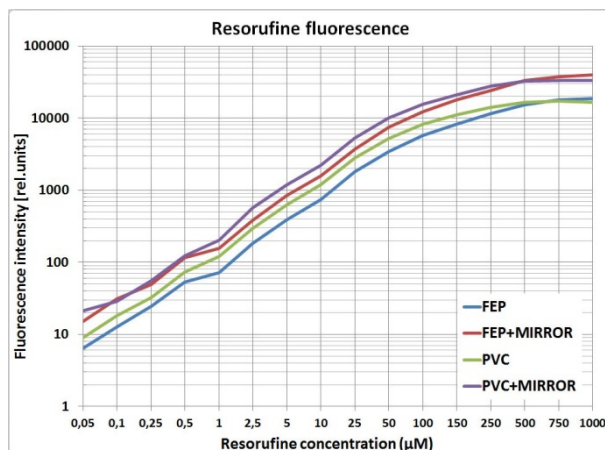


Abb. 5 Die Messergebnisse in FEP- und PVC-Schlauch mit und ohne Spiegel.

5 Ausblick

Als nächster Schritt wird ein integriertes System mit vier optischen Funktionsflächen entwickelt (siehe Bild 6). Der Justageaufwand wird deutlich reduziert und eine bessere Halterung für den Schlauch wird erreicht. Dadurch wird der Justagefehler geringer und ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis ist zu erwarten. Die große Herausforderung dabei liegt bei der Fertigung des komplexen Systems.

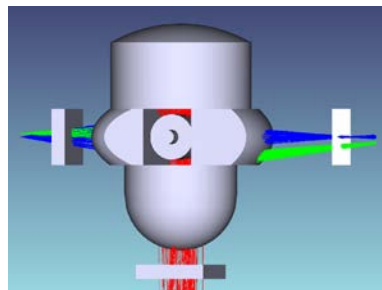


Abb. 6 Der Fluoreszenzdetektor nächster Generation.

Danksagung

Die Arbeit wird finanziell unterstützt vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) im Rahmen des Projektes „Kompetenzdreieck Optische Mikrosysteme - KD OptiMi II“ (FKZ: 16SV3700).