

Langpass – Kurzpass – Steilpass

KURZANLEITUNG ZUR AUSWAHL VON FLUORESCENZFILTERN

Bei Fluoreszenzanwendungen ist oft der Dichroit das begrenzende Element. Ein Leitfaden hilft beim Erstellen der Spezifikation.



**JOHANNES KUNSCH
UWE SCHALLENBERG**

Die Fluoreszenzmikroskopie erlebt einen Boom: Dank bildgebender Fluoreszenzmethoden kommen Biologen den komplexen und teilweise dynamischen

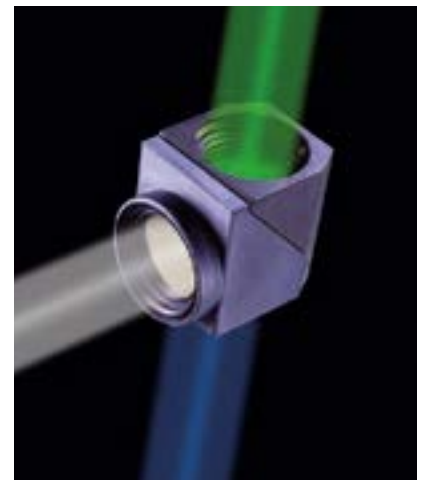
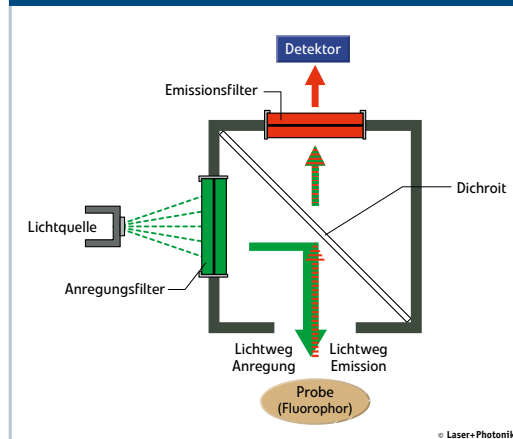
Prozessen in der Zelle auf die Spur. Auch in der Routinediagnostik bewähren sich vereinfachte Varianten dieser Verfahren. Der grundlegende Mechanismus ist der gleiche: Eine kurzwellige Anregung erzeugt eine längerwellige Fluoreszenz (Bild 1a). Fluoresziert die gesuchte Substanz nicht von selbst,

so wird sie mit Fluoreszenzmarkern versehen. Den Aufbau eines solchen Experiments zeigt Bild 1b. In einem Fluoreszenzfilterwürfel passiert das einfallende Licht den Anregungsfilter. Das gefilterte Licht wird vom Dichroit reflektiert und fällt auf das Fluorophor. Das längerwellige Fluoreszenzlicht passiert den Dichroit und den Emissionsfilter und gelangt auf den Detektor. Der Emissionsfilter sperrt gestreutes Anregungslicht, und im Ergebnis sieht man eine leuchtende Fluoreszenz vor dunklem Hintergrund.

Bei Bandpassfiltern, Kurz- und Langpässen hat sich eine kleine technische Revolu-

Fluoreszenzwürfel

1 Fluoreszenzwürfel sind Mikroskopzubehör: (a) Der weiße Strahl kommt von der Lichtquelle. Blau ist der Anregungsstrahl, die Fluoreszenz ist in diesem Fall grün; (b) prinzipieller Aufbau eines Fluoreszenzwürfels



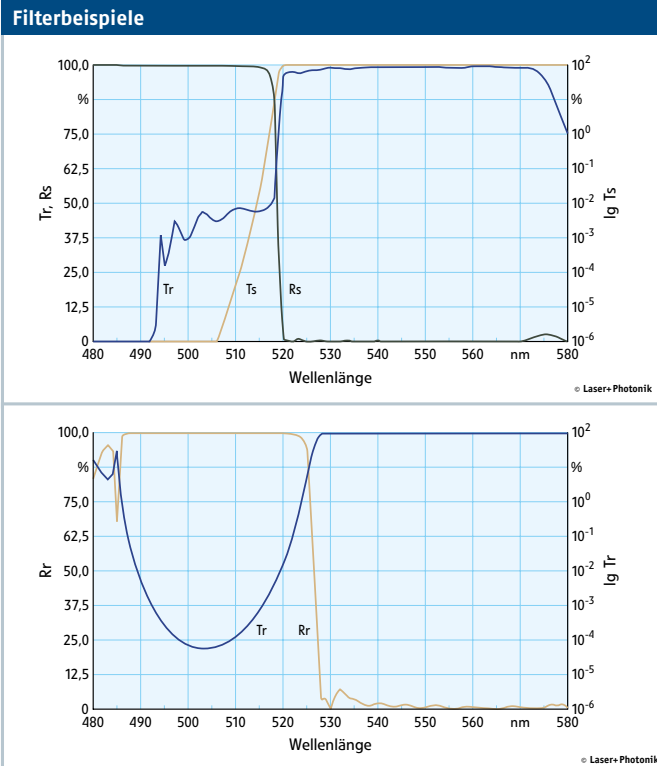
Laser+Photonik

2 | 2006

tion eignet. Die Kanten werden ungeahnt steil, die Transmissionen hoch, und die Unterdrückung unerwünschter Bänder erreicht vorher kaum für möglich gehaltene Werte. Ein Beispiel dafür ist die «Alpha-Serie von Omega Optical [1]. Mittlerweile ist

genschaften und Wirkungen des Dichroitens im Fluoreszenzfilter erläutern und anwenderspezifische Fragen beantworten.

■ **Muss der Einfallswinkel 45° betragen, oder kommt man auch mit weniger aus?**



2 (a) Beispiel DS: geometrische Gesamtdicke zirka 5,5 µm, Kantenbreite (Delta OD6, sechs Größenordnungen) zirka 2 Prozent relativ, also 10 nm bei 505 nm Anregungswellenlänge; (b) Beispiel DN: 78 Schichten, geometrische Gesamtdicke zirka 8,4 µm, Kantenbreite (Delta OD6) zirka 4 Prozent relativ, also 20 nm bei 505 nm Anregungswellenlänge

in vielen derartigen Systemen der Dichroit das leistungsbegrenzende Element. Warum das so ist: Bandpassfilter sowie Kurz- und Langpässe sind immer für senkrechten Lichteinfall ausgelegt; die Polarisation des Lichts spielt keine Rolle. In der Natur des Dichroitens liegt aber die schiefe Inzidenz, und damit tauchen Polarisationseffekte auf.

Den richtigen Dichroiten auswählen


Die Anwender loten bei neuen Produkten gern die technischen Möglichkeiten aus und stoßen auf anwenderspezifische Grenzen. Folgende Kurzanleitung soll die Ei-

Je größer der Umlenkwinkel, desto breiter ist der Kantenbereich. 90° Umlenkwinkel sind zufrieden stellend, 60° sind besser, 30° noch besser.

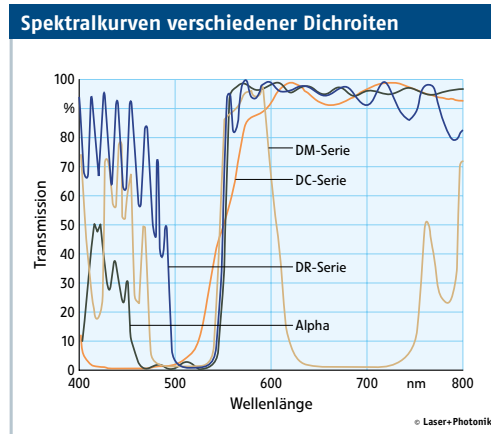
■ **Kann der parallele Strahlengang realisiert werden?**

Paralleles Licht ist ein nahezu zwingende Forderung. Die Divergenz des einfallenden Bündels sollte höchstens 2 bis 3° betragen. Je niedriger der Umlenkwinkel, desto größer kann auch die Divergenz sein. Mit zunehmendem Einfallswinkel verschiebt sich die Kante ins Kurzwellige.

■ **Ist Laseranregung sinnvoll?**

Ist die Anregung ein s-polarisierter 

3 Transmission als Funktion der Wellenlänge bei verschiedenen Dichroit-Designs des Herstellers Omega Optical [1]



► Laser, so kann die Kante, mit einer Beschränkung über die Breite des Emissionsbereichs, beliebig steil gestaltet werden. Je breiter der Emissionsbereich, desto größer ist der Aufwand für die Steilheit der Kante (**Bild 2a**).

- **Wie ist das bei natürlichem Licht?** Für eine Anregung mit natürlichem Licht ist die Kantensteilheit ebenfalls mit der Breite des Emissionsbereichs verknüpft. Auch hier lassen sich steile Kanten herstellen, aber eben nicht be-

liebig steil und auch nur mit erhöhtem Aufwand (**Bild 2b**). Hinzu kommt hier, dass die tiefe Sperrung ($>0D6<$) nur für einen schmalen Spektralbereich gilt.

- **Ab welcher konkreten Wellenlänge soll transmittiert oder auch reflektiert werden, und wie breit muss der Transmissions- beziehungsweise Reflexionsbereich sein?**

Bild 3 illustriert den Zusammenhang zwischen Kantensteilheit und Breite des Reflexions- beziehungsweise Transmissionsbereichs im Detail. Als Faustformel gilt: Je steilkantiger der Dichroit, desto schmaler ist der zur Verfügung stehende Anregungs- und Fluoreszenzbereich (und umgekehrt).

- **Welche Rolle spielen Fertigungstoleranzen bei der Spezifikation eines Dichroiten?**

Bezüglich der Fertigungstoleranzen wird immer mit mindestens 1 Prozent Schichtdickeninhomogenität gerechnet. Diese Inhomogenität kann sich über die Fläche oder von Teil zu Teil und von Charge zu Charge ergeben. Für eine Kantenlage bei 515 nm kann daraus beispielsweise eine Toleranz von ± 5 nm resultieren. Anregung und Emission können des-

halb nicht mehr getrennt werden, wenn diese nur 10 bis 15 nm auseinander liegen.

- **Was ist außerdem zu beachten?**

Die beiden in **Bild 2** dargestellten Beispiele sind über weite Bereiche gültig. Die Abszisse kann über die Wellenzahl beliebig verschoben werden. Die gezeigten Beispiele sind so auch im UV realisierbar, allerdings verbunden mit steigendem Aufwand. ■

Fazit: Dichroiten – was der Anwender wissen muss

Sieben Antworten auf anwenderspezifische Fragen zur Funktion und zur Wirkung von Dichroiten in Fluoreszenzfiltern.

AUTOREN

Dipl.-Phys. JOHANNES KUNSCH (j.kunsch@lasercomponents.com) ist Sales Manager für IR-Komponenten und optische Filter bei Laser Components in Olching. UWE SCHALLENBERG ist Geschäftsführer von mso jena Mikroschichtoptik.

LITERATUR

- 1 »Precision optical filters for OEM instrumentation and research; Omega Optical, Technical Handbook, 3rd Edition, Brattleboro, USA, 2006

KONTAKT

LASER COMPONENTS GmbH,
82140 Olching,
Tel. 0 81 42 /28 64 -0,
Fax 0 81 42 /28 64 -11,
www.lasercomponents.com

mso jena Mikroschichtoptik GmbH,
07745 Jena,
Tel. 0 36 41 /35 29 30,
Fax 0 36 41 /35 29 35,
www.mso-jena.de