



ZAFH – PHOTONⁿ



PHOTONische Verfahren in neuen Dimensionen

Verbundprojekt der Hochschulen Aalen, Furtwangen, Konstanz, Mannheim, Offenburg und Reutlingen, des ILM Ulm und der Universität Heidelberg

gefördert durch die Europäische Union, Europäischer Fonds für regionale Entwicklung, und das Land Baden - Württemberg

FORSCHUNGSBERICHT 2009

Partner:

Hochschule Aalen	Beethovenstraße 1 73430 Aalen	Prof. Dr. Herbert Schneckenburger Prof. Dr. Thomas Hellmuth Prof. Dr. Rainer Börret
zusammen mit		
Hochschule Furtwangen	Robert-Gerwig-Platz 1 78120 Furtwangen	Prof. Dr. Ulrich Mescheder Prof. Dr. Dietrich Kühlke
Hochschule Konstanz	Brauneggerstraße 55 78462 Konstanz	Prof. Dr. Claus Braxmaier
Hochschule Mannheim	Windeckstraße 110 68163 Mannheim	Prof. Dr. Petra Kioschis Prof. Dr. Mathias Hafner
Hochschule Offenburg	Badstraße 24 77652 Offenburg	Prof. Dr. Werner Schröder Prof. Dr. Christoph Nachtigall
Hochschule Reutlingen	Alteburgstraße 150 72762 Reutlingen	Prof. Dr. Rudolf Kessler
Institut für Lasertechnologien in der Medizin und Messtechnik an der Universität Ulm (ILM)	Helmholtzstraße 12 89081 Ulm	Prof. Dr. Raimund Hibst Prof. Dr. Alwin Kienle
Universitätsklinikum Heidelberg Abteilung Neuropathologie	Im Neuenheimer Feld 220/221 69120 Heidelberg	Prof. Dr. Andreas von Deimling

Sprecher: Prof. Dr. Herbert Schneckenburger
Hochschule Aalen
Beethovenstraße 1
73430 Aalen
Telefon: 07361 / 576 - 3401
E-mail: herbert.schneckenburger@htw-aalen.de

Zusammensetzung des wissenschaftlichen Beirats:

Dr. A. Ehrhardt (Vorsitz)	Photonics BW e.V.	Carl-Zeiss-Straße 1, 73447 Oberkochen
Prof. Dr. A. Leitenstorfer	FB Physik, Univ. Konstanz	Fach M 696, 78457 Konstanz
PD Dr. W. Petrich	Roche Diagnostics GmbH	Sandhofer Straße 116, 68305 Mannheim
Dr. M. Kempe	Carl Zeiss AG	Carl-Zeiss-Promenade 10, 07745 JENA

1. Übersicht über Gesamtverbund

Eine konstituierende Sitzung des Gesamtverbunds fand am 15.02.2008 an der Hochschule Aalen unter Beteiligung aller Verbundteilnehmer sowie des wissenschaftlichen Beirats statt. Seither werden hochschulübergreifend 7 Teilprojekte bearbeitet, die von jeweils einer Partnerhochschule koordiniert werden. Als gemeinsame Veranstaltung fand am 23.04.2009 der 1. Aalener Photoniktag statt, an dem alle beteiligten Arbeitsgruppen sowie eingeladene Gäste aus Hochschule und Industrie über ihre Arbeiten referierten. Diese Veranstaltung wurde von ca. 100 Teilnehmern besucht, und es entwickelten sich zahlreiche Fachgespräche. Der Photoniktag wurde aber auch für verschiedene interne Absprachen zwischen Verbundpartnern und wissenschaftlichen Beiräten genutzt.

Mehrere Projektbesprechungen erfolgten im Laufe des Jahres in Kleingruppen zwischen den an den jeweiligen Teilprojekten beteiligten Partnern. Aus der gemeinsamen Projektarbeit resultierten im Jahr 2009 17 Publikationen und 14 wissenschaftliche Vorträge, an denen zum Teil mehrere, im Einzelfall sogar alle Verbundpartner beteiligt waren (H. Schneckenburger et al.: „Dem Energiestoffwechsel von Tumorzellen und Bioreagenzien auf der Spur“, BioPhotonik 2 (2009) 26–28). Im Rahmen des ZAFH-PHOTONⁿ wurden 2009 sechs Abschlussarbeiten, darunter eine kooperative Promotion angefertigt.

Als nächste gemeinsame Veranstaltung ist am 15.04.2010 der 2. Aalener Photoniktag vorgesehen, der neben zahlreichen wissenschaftlichen Vorträgen wiederum die Herstellung und Vertiefung der Kontakte zwischen den beteiligten Hochschulen und der Industrie sowie die Weiterentwicklung und gemeinsame Nutzung der Einzelprojekte zum Ziel hat.

Die Aktivitäten des Zentrums sind auf der Homepage www.zafh.de bzw. www.zafh-photon.de dokumentiert. Der Bericht über die einzelnen Teilprojekte der Schwerpunkte „Multidimensionale Mikroskopie“ und „Photonische Sensorik“ erfolgt im Folgenden.

ZAFH – PHOTONⁿ: PHOTONische Verfahren in neuen Dimensionen	
Übersicht über die Teilprojekte	
Multidimensionale Mikroskopie	Photonische Sensorik
TP 1.1. Tiefenauflösendes Imaging Koordination: HS Aalen	TP 2.1. Miniatur-Lasersensor Koordination: HS Konstanz
TP 1.2. 3D-Laserpinzette Koordination: HS Offenburg	TP 2.2. Faseroptischer Gassensor Koordination: HS Furtwangen
TP 1.3. Multispektrales Imaging Koordination: HS Reutlingen	TP 2.3. Fabry-Perot-Biosensor Koordination: HS Furtwangen
	TP 2.4. 4D-Fertigungsmesstechnik Koordination: HS Aalen

2. Bericht zu den Teilprojekten

Schwerpunkt 1: Multidimensionale Mikroskopie

Teilprojekt 1.1: Tiefenauflösendes Imaging für Mikroskopie und Screening

(Koordination: HS Aalen, Projektpartner: HS Furtwangen, HS Mannheim, ILM Ulm, Univ. Heidelberg, DKFZ Heidelberg)

Gesamtziel: Aufbau und Validierung eines 3D-Imaging-Systems für die Biophotonik

Nach Etablierung der tiefenauflösenden Weitfeld-Mikroskopie mit Hilfe der strukturierten Beleuchtung, der winkelaufgelösten Totalreflexion und der Integrationsmöglichkeit eines fokusvariablen Spiegels (**Projektziel 1**) wurde nun ein tiefenauflösendes Screening-System für 3D-Zellkulturen in standardisierten Probenträgern (z.B. Mikrotiterplatten) erstellt, um damit den Schritt von der Forschung zur klinischen Diagnostik einzuleiten (**Projektziel 2**).

Das dreidimensionale Tumor-Sphäroidmodell wurde vom Projektpartner ILM Ulm mit menschlichen U373-MG Glioblastomzellen realisiert. Diese Sphäroide sind in ihrer Histologie, Physiologie und Metabolismus dem Tumor wesentlich ähnlicher als herkömmliche zweidimensionale Zellkulturen und daher für die Diagnostik besser geeignet. Ein Schnittbild (nach Hämatoxylin-Eosin-Färbung) ist in Abb. 1.1.1.A, zwei konfokale Mikroskopieaufnahmen von der Oberfläche und einem inneren Bereich des Sphäroids nach Inkubation mit dem Fluoreszenzmarker Acridin Orange sind in Abb. 1.1.1.B und 1.1.1.C dargestellt.

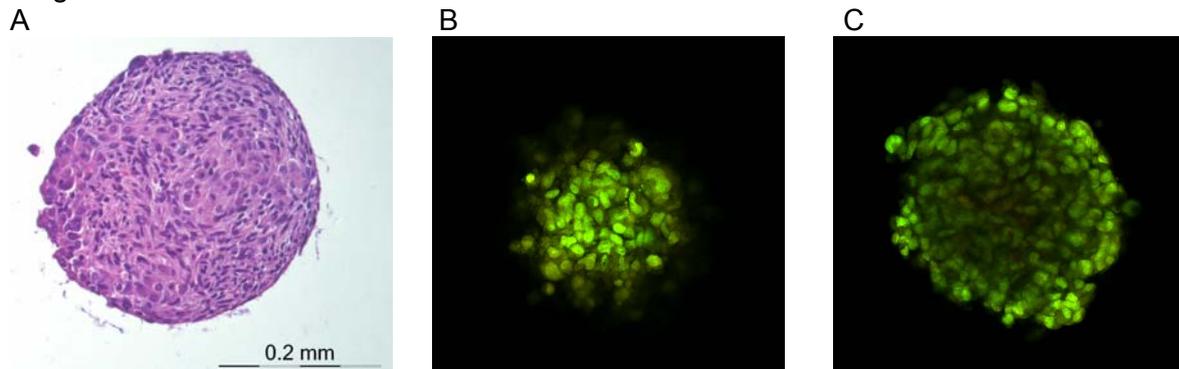


Abb. 1.1.1: Tumorzell-Sphäroid: (A) Schnitt nach Hämatoxylin-Eosin-Färbung; (B,C) konfokale Fluoreszenzaufnahmen in einer Objektiefe von 28 μm bzw. 74 μm .

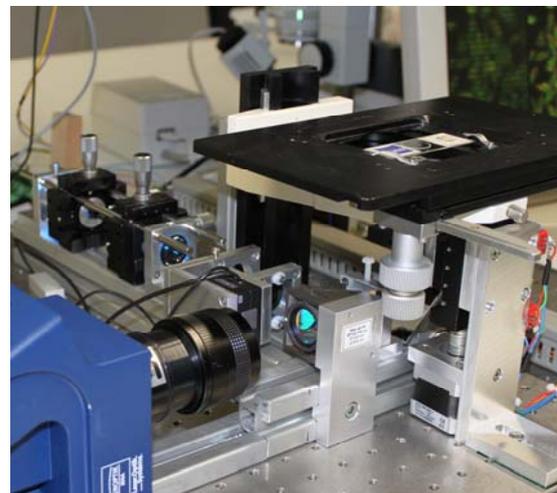
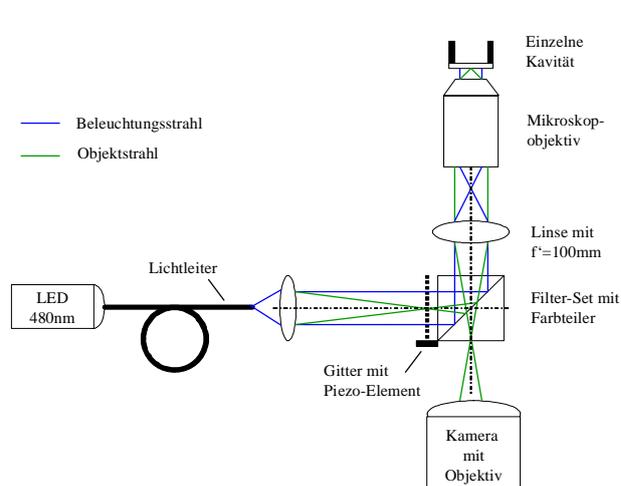


Abb. 1.1.2: Tiefenauflösendes Screening-System für 3D-Zellkulturen (HS Aalen).

Abbildung 1.1.2 zeigt das auf der Methode der strukturierten Beleuchtung basierende Screening-System schematisch sowie als realisierten Laboraufbau. Ein Messbeispiel ist in Abbildung 1.1.3 für einen konfluenten Rasen von Glioblastomzellen, die mit dem Fluoreszenzmarker Acridin Orange inkubiert worden sind, dargestellt. Hierbei wird eine Struktur (z.B. optisches Gitter) in drei verschiedenen Phasenlagen in die Probe abgebildet (A) und danach das Schnittbild aus der Fokusebene errechnet (B). Dabei ergibt sich eine deutliche Verbesserung gegenüber dem konventionellen Fluoreszenzbild (C). Neben dem optischen Aufbau wurde ein benutzerfreundliches Programm (LabView) zur Bilderfassung und -Verrechnung, zur automatischen Verschiebung der Struktur im Mikrometermaßstab sowie zum Höhenvorschub (Einstellung verschiedener Fokusebenen) erstellt. Es wird gegenwärtig an Sphäroiden weiter getestet.

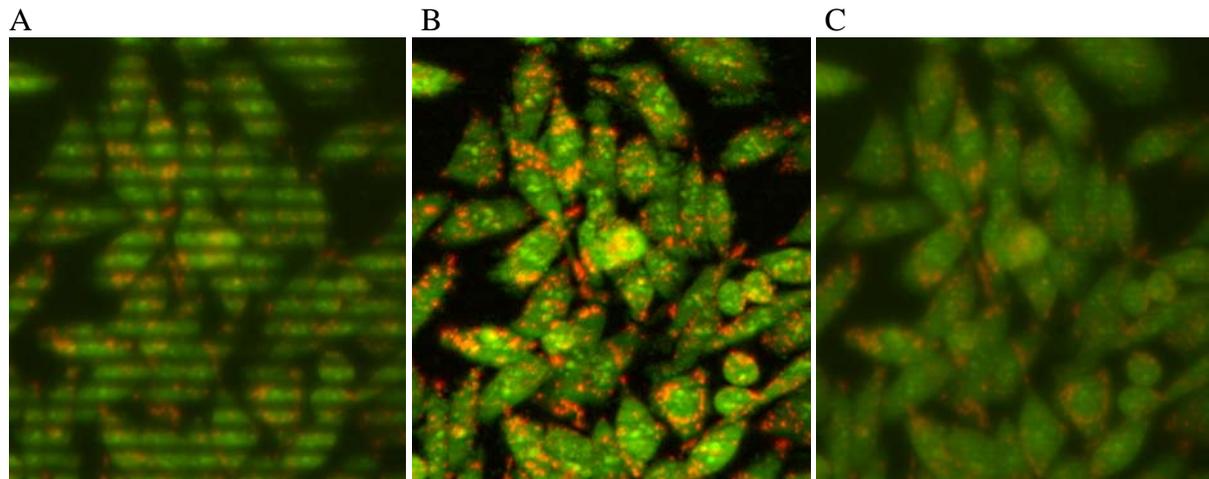


Abb. 1.1.3. Fluoreszenzaufnahmen von kultivierten Glioblastomzellen nach Inkubation mit dem Fluoreszenzmarker Acridin Orange (5 μ M; 30 min.; Rotfluoreszenz: Lysosomen; Grünfluoreszenz: Zytoplasma und Zellkern); (A) strukturierte Beleuchtung; (B) errechnetes Schnittbild; (C) konventionelles Fluoreszenzbild (Anregungswellenlänge: 470 nm; Messbereich: $\lambda \geq 515$ nm; Bildgröße jeweils 140 μ m x 160 μ m)

Projektziel 3: Validierung an zellulären Testsystemen

In Kooperation der HS Mannheim mit der Universität Heidelberg und dem Deutschen Krebsforschungszentrum wurden Zellsysteme auf der Basis der Glioblastom-Zelllinie U251-MG entwickelt. Glioblastome sind bösartige Gehirntumore astrozytären Ursprungs mit extrem schlechter Prognose. Genetische Veränderungen in den Tumorsuppressorgenen p53, PTEN und Rb bedingen die Transformation normaler Zellen in Krebszellen.

Durch Klonierungsverfahren auf der Basis der „Site-Specific Recombination“ wurden verschiedene Tet-induzierbare Zelllinien entwickelt, die das Ein- oder Ausschalten der Tumor-relevanten Gene TP53 und PTEN erlauben und damit ein jeweils unterschiedliches tumorspezifisches Verhalten der Zellen induziert werden kann (beispielsweise ein verlangsamtes Wachstum von Zellen, in denen ein Tumorsuppressorgen aktiviert wird im Gegensatz zu Zellen, in denen dieses Gen ausgeschaltet ist und sich die Zellen somit unkontrolliert und schnell teilen). Neben der Etablierung der Zellmodelle wird das Ziel verfolgt, durch Autofluoreszenzmessungen Unterschiede in den Emissionsspektren der verschiedenen Zelllinien mit unterschiedlich ausgeprägtem Tumor-Verhalten festzustellen sowie daraus optimale Wellenlängenbereiche als auch spezifische subzelluläre Bereiche für weitere Messungen zu identifizieren.

Es wurden vier verschiedene Zelllinien etabliert und in Autofluoreszenzmessungen am 2-Photonen-Mikroskop der HS Mannheim eingesetzt: **(1)** U251MG PAR (Parental-Linie bzw. Akzeptor-Linie; entspricht der Wildtyp-Tumorlinie plus einem ersten Leer-Plasmid), **(2)**

U251-MG KONTR (Target-Zelllinie; Parental-Linie mit integriertem zweiten Plasmid, aber ohne Insert; wird als Kontrolle in den Messungen eingesetzt), **(3)** U251-MG TP53 (Target-Zelllinie; Parental-Linie mit integriertem zweiten Plasmid, das die Gensequenz des Tumorsuppressorgens TP53 trägt; TP53 ist an- und abschaltbar), **(4)** U251-MG PTEN (Target-Zelllinie; Parental-Linie mit integriertem zweiten Plasmid, das die Gensequenz des Tumorsuppressorgens PTEN trägt; PTEN ist an- und abschaltbar). Mit den Linien 2 (Kontrolle), 3 und 4 (3 und 4 jeweils induziert und nicht-induziert) wurden 5-fach Messungen bei Anregungswellenlängen 750 nm, 800 nm, 850 nm und 880 nm durchgeführt. Die spektral aufgelösten Emissionsbilder wurden kontinuierlich mit einer Auflösung von 2nm im Bereich zwischen 367 nm bis 627 nm und in einem Scanbereich von 75 μm x 150 μm (Abb. 1.1.4) erstellt. Die Emissionsspektren der selektierten Zellen wurden parallel hierzu ermittelt.

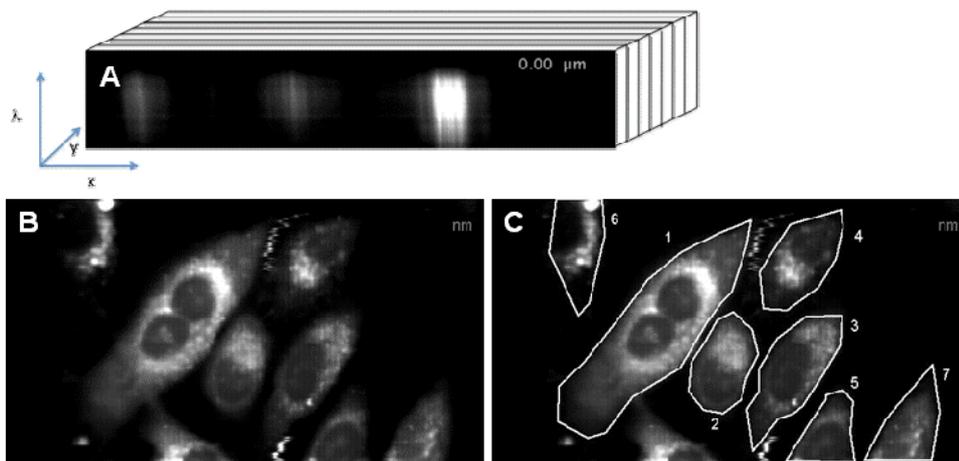


Abb. 1.1.4. Erstellung von spektral aufgelösten Emissionsbildern (A). Für die Autofluoreszenzmessungen wurde der jeweilige Scanbereich (B) und die Selektion der Zellen (C; Region of Interest, ROI) bestimmt. Bei der Auswahl wird festgelegt, dass jeweils vollständige Zellen selektioniert werden, um bei den Messungen die Autofluoreszenz einer gesamten gescannten Zelle zu erfassen. Für die Bildverarbeitung wurde die Image J Software (NIH; USA) eingesetzt.

Um den Einfluss der induzierten Tumorsuppressorgene auf die spezifische Autofluoreszenz der Zellen über die Zeit zu erfassen, wurde eine Kinetik an den Zelllinien 2,3 und 4 über 88 h durchgeführt (gleiche Messbedingungen wie oben angezeigt). Die Induktion der Genexpression der PTEN und TP53 Gene wurde mittels Western-Blot vor den Messungen kontrolliert (Abb. 1.1.5). Bis 66 h ist eine Zunahme der Proteinmenge zu verzeichnen, allerdings zeigen PTEN und TP53 unterschiedliche Verläufe, was beispielsweise mit der zellulären spezifischen Abbauraten dieser Proteine zusammenhängen kann.

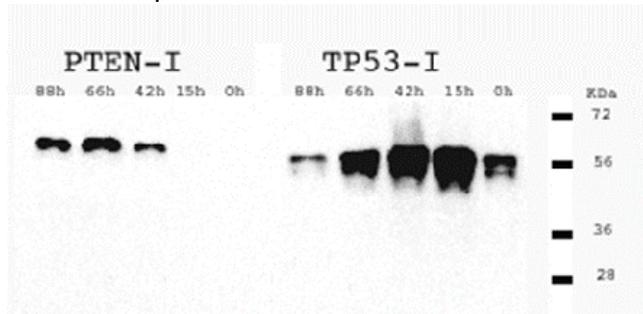


Abb. 1.1.5. Westernblot-Kinetik der PTEN- und TP53-Induktion. Zellproben wurden vor (0h) und zu den angegebenen Zeiten nach Induktion mit 100 ng/ml Doxycyclin entnommen. 20 μg Protein jedes Lysats wurden in 15% SDS-PAGE aufgetrennt. Nach Transfer auf Nitrocellulose wurde entweder mit anti-TP53 mAb Pab1801 (1:400, Millipore) oder anti-PTEN mAb 26H9 (1:1000, Cell signaling) und anschließend mit anti-Maus-IgG gekoppelter Peroxidase (Jackson) inkubiert. Der Blot wurde mit Chemilumineszenz-Substrat (Covalight) entwickelt.

Alle Datensätze bzw. ermittelten Emissionsspektren werden zurzeit mittels multivariater Datenanalyse ausgewertet. Abhängig von den Resultaten sollen weitere Messungen in selektionierten Wellenlängenbereichen erfolgen sowie Korrelationen mit zellulären Funktionsbereichen hergestellt werden.

Teilprojekt 1.2: 3D-Laserpinzette

(Koordination: HS Offenburg, Projektpartner: HS Aalen, HS Furtwangen)

Projektziel 1: Realisierung mit Mikrofluidsystem und konventioneller Laserpinzette

Die Möglichkeit, kleinste Objekte im Mikroskop nicht nur zu beobachten, sondern auch aktiv mit einem Laserstrahl zu manipulieren, soll für eine Einzelzellsortierung ausgenutzt werden. Beispielsweise sollen gentechnisch veränderte Zellen in hinreichender Zahl isoliert und für molekularbiologische Untersuchungen (z.B. Polymerase-Kettenreaktion, PCR) zur Verfügung gestellt werden. Ein wesentliches und bisher ungelöstes Problem besteht im Ausschleusen einzelner Zellen über ein Mikrofluidsystem. Ein erstes derartiges System wurde an der HS Aalen etabliert, wobei eine an der HS Furtwangen geätzte Mikrokanalplatte erfolgreich integriert wurde (Abb. 1.2.1). Das Prinzip ist in Abb. 1.2.2 dargestellt: Im Flüssigkeitsstrom werden einzelne Zellen mit der Laserpinzette erfasst und in einen Seitenkanal senkrecht zur Strömungsrichtung ausgeführt, wo sie mit einer Mikropipette einem kleinen Sammelbecken entnommen werden können.

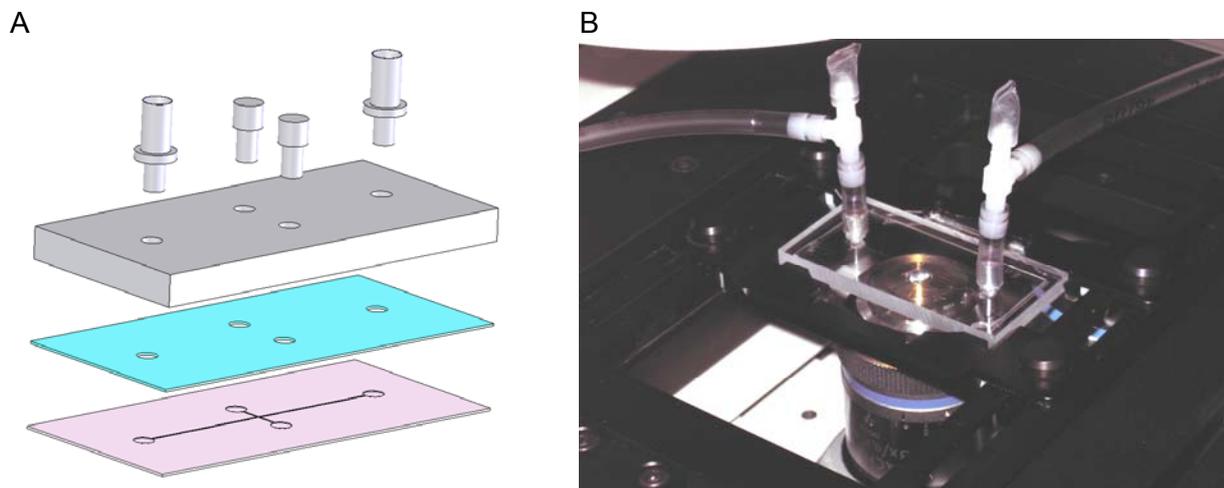


Abb. 1.2.1. (A) Bauteile der Mikrofluidkammer mit geätzter Mikrokanalplatte, Silikonmatte zur Abdichtung und Kunststoffträger (PMMA) mit Anschlussstutzen; (B) Mikrofluidkammer in Funktion am inversen Mikroskop.

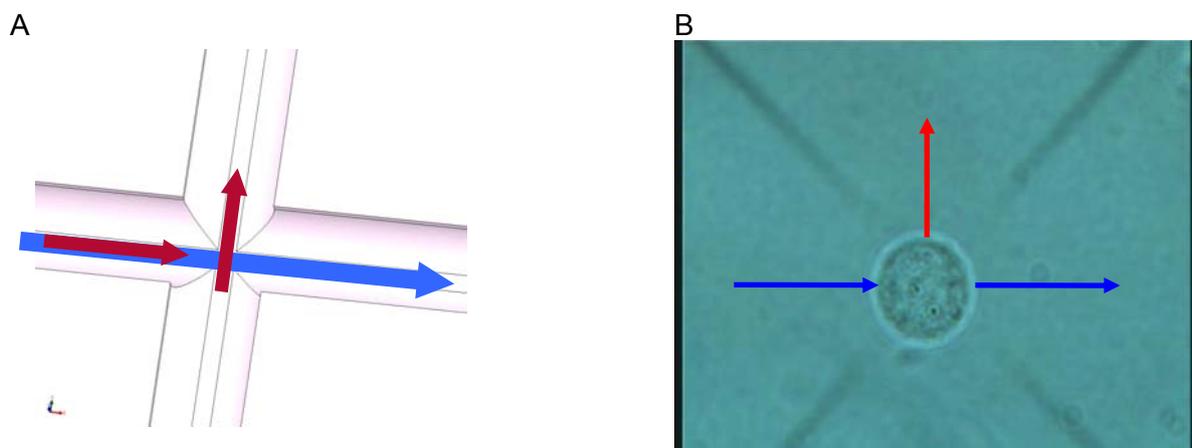


Abb. 1.2.2. Prinzip (A) und Durchführung (B) der Einzelzellsortierung: eine Zelle wird aus dem Flüssigkeitsstrom (blau) mit der Laserpinzette aussortiert und in einen Seitenkanal (rot) verschoben.

Die an der HS Aalen etablierte Methode soll künftig mit einer holographischen Laserpinzette kombiniert werden. Diese basiert auf einem an der HS Offenburg etablierten holographischen Mikroskop, dessen Prinzip nachfolgend erläutert wird.

Projektziel 2: Realisierung einer holographischen Laserpinzette

Holographisches Mikroskop

Herkömmliche Hellfeldmikroskope bilden ein Objekt mit Hilfe von Linsen ab. Dabei wird nur die Licht-Intensität beobachtet. Möchte man ein 3D-Bild des Objektes erzeugen, so muss man das Objekt schichtweise durch Verändern des Objektabstands abbilden und anschließend zu einem 3D-Bild zusammensetzen. Eine Bewegung des Objektträgers kann mit einem holographischen Mikroskop vermieden werden. Hierbei wird die vom Objekt ausgehende elektromagnetische Welle, die Objektwelle, inklusive der Phasenlage bestimmt, um anschließend das Objekt „offline“ daraus zu rekonstruieren. Das vorgestellte Verfahren zeigt die Erfassung einer komplexen Objektwelle durch Interferenz mit einer Referenzwelle und der anschließenden schichtweisen Rekonstruktion des Objekts. Abbildung 1.2.3.A zeigt den verwendeten Aufbau schematisch, Abbildung 1.2.3.B den inneren Teil der Optik.

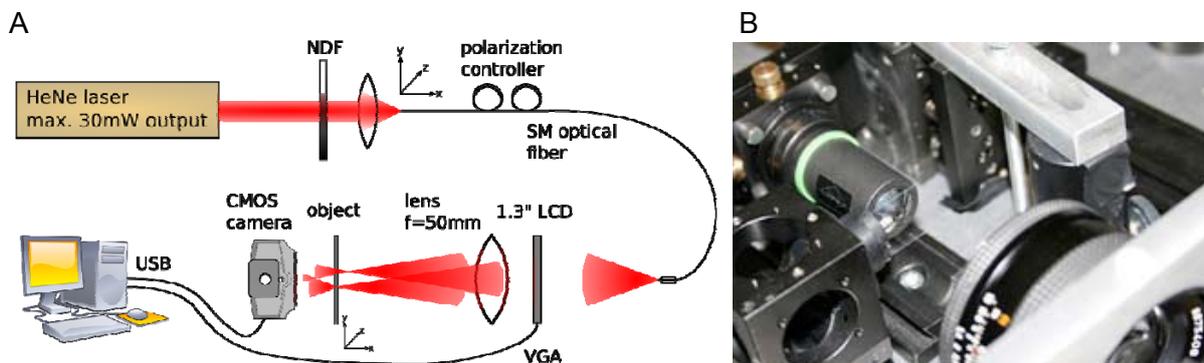


Abb. 1.2.3. Schematischer Aufbau und Ausschnitt des holographischen Mikroskops.

Beleuchtung und Referenz

Für die Objektbeleuchtung und die Referenzwelle wird der Strahl eines HeNe-Lasers fokussiert und in eine Einmodenglasfaser eingekoppelt. Ein drehbares Filter erlaubt, die eingekoppelte Leistung anzupassen, um z.B. eine Übersteuerung des CMOS Sensors zu verhindern. Da der Phasenhub des LCDs von der Eingangspolarisation abhängt, wird diese durch Doppelbrechung in einem Polarisationssteller angepasst. Dabei stehen zwei Kriterien im Vordergrund: maximaler Phasenhub sowie gleich bleibender Kontrast des Interferenzmusters.

LCD als Spatial Light Modulator

Ein LCD wird in herkömmlichen Anwendungen wie in Anzeigen von Uhren, Taschenrechnern, Beamern usw. als „Lichtventil“ verwendet. Einzelne Punkte können durch elektrische Ansteuerung zwischen „durchlässig“ und „geblockt“ gesteuert werden. Dabei ist jeder Punkt eine nematische Drehzelle zwischen 2 Polarisatoren, die die Polarisations Ebene proportional der angelegten Spannung dreht. Die Lichtdurchlässigkeit jedes einzelnen Punktes kann somit in z.B. 255 Stufen mit einer Frequenz von 25-50 Hz verändert werden. In der beschriebenen Anwendung wird das LCD ohne Polarisatoren verwendet, um statt der Amplitude der einzelnen Punkte die Phasenlage zu beeinflussen. Abbildung 2 zeigt den gemessenen Phasenhub (grün) in Abhängigkeit der Ansteuerung über VGA bei optimal eingestellter elliptischer Eingangspolarisation und der approximierten Funktion zur Bestimmung der VGA-Ansteuerung bei gegebener Phasenlage (blau). Die Phasenverschiebung wird gemessen, indem eine Doppelochblende vor das LCD geschoben und die Austrittsöffnung der Glasfaser mit einer Linse auf einen CMOS-Chip abgebildet wird. Dieser Aufbau entspricht dann einem Mach-Zehnder-Interferometer, wobei jeweils eine Seite des LCD die Phasenlage im dazugehörigen optischen Pfad beeinflussen kann. Abb. 1.2.4 zeigt auch das beobachtete Interferenzmuster bei zwei unterschiedlichen Phasenlagen. Die Phase wird dabei durch eine Fast Fourier Transformation (FFT) bestimmt und durch eine

grüne Senkrechte visualisiert. Wie man weiter sehen kann, ist es mit dem verwendeten LCD im transmittiven Aufbau nur möglich, einen Phasenhub von etwa 3,4 rad bei 632,8 nm Laserwellenlänge zu erzielen.

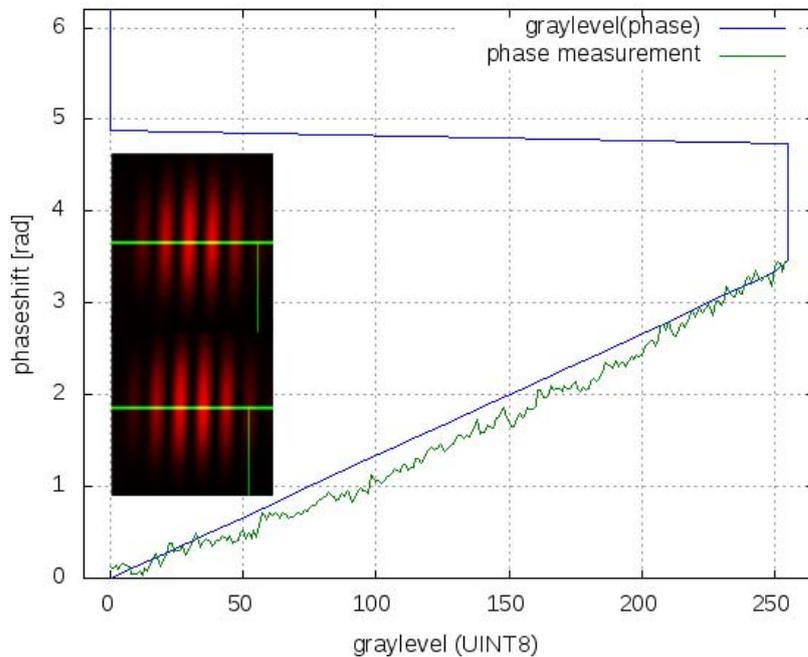


Abb. 1.2.4: Interferenz zur Ermittlung der Phasenverschiebung und daraus ermittelte (grün) sowie approximierte Phasenverschiebung (blau).

Korrektur der Wellenfrontverzerrungen

Für die Rekonstruktion ist es wichtig, einen optimalen Fokus zu erzeugen. Allerdings ist jedes optische System mit Abbildungsfehlern behaftet wie z.B. sphärischer Aberration oder Koma. Abbildung 1.2.5.A zeigt den Fokus bei gerechneter Fresnellinse mit $f=1,5$ m auf dem LCD und 40-facher Vergrößerung. Für die Wellenfrontanalyse wurde das System sequentiell durch Muster auf dem LCD abgetastet, die Abweichungen ähnlich einem Hartmann-Shack-Sensor erfasst und anschließend deren Integral iterativ durch Zernike-Polynome approximiert. Abbildung 1.2.6 zeigt die daraus berechnete Matrix zur additiven Phasenkorrektur, Abb. 1.2.5.B den Fokus nach der Wellenfrontkorrektur.

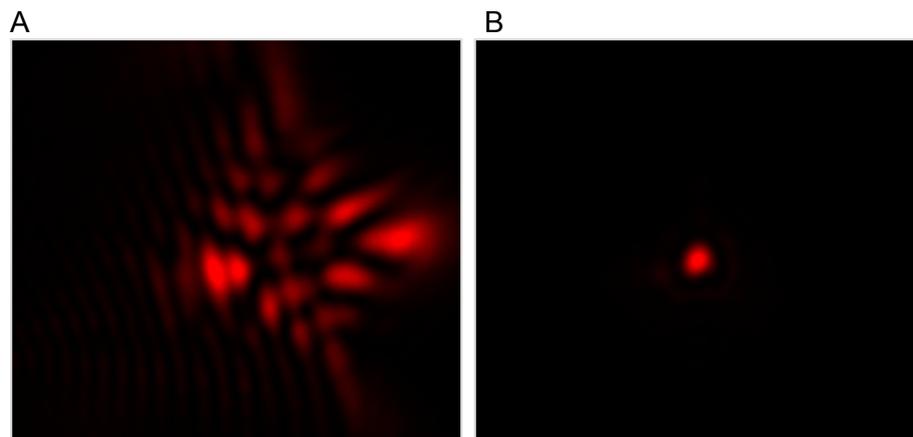
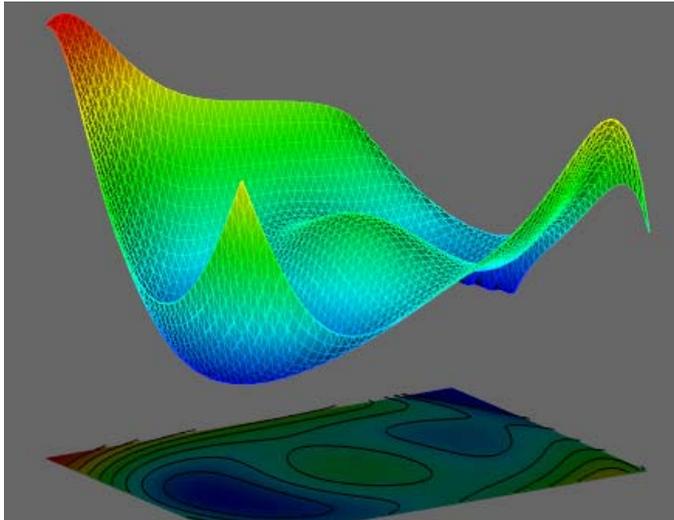


Abb. 1.2.5. Fokus 40-fach vergrößert ohne Phasenkorrektur (A) und mit aktiver Korrektur (B)

Aufnahmen

Das LCD erzeugt zusammen mit der Linse zwei Foki mit unterschiedlicher Brennweite. Ein Fokus dient dazu, das Objekt zu beleuchten, der andere trifft das Objekt nicht und wird als Referenzstrahl verwendet. Dabei ist die Phasenlage der beiden Strahlen zueinander durch die Ansteuerung des LCDs einstellbar. Für die spätere Rekonstruktion werden



hintereinander 6 Aufnahmen mit dem CMOS Sensor gemacht: Intensität der Objektbeleuchtung, der Referenzbeleuchtung, der Interferenz von Objektwelle und Referenzwelle mit Phasendifferenz von 0° , 90° , 180° und 270° . Dabei ist zu bemerken, dass die Sequenz nur durch Änderung der LCD-Ansteuerung hervorgerufen wird. Es finden keine mechanischen Veränderungen durch Motoren statt, die zu Vibrationen im Aufbau führen könnten und die Aufnahmezeiten verzögern würden.

Abb. 1.2.6. Durch Zernike-Polynome approximierte Phasenkorrektur

Rekonstruktion

Aus den 4 Intensitäten der Interferenz lässt sich die Phase der rekonstruierten Objektwelle berechnen, die Amplitude der Objektwelle entspricht der Wurzel der getrennt aufgenommenen Intensität bei reiner Objektbeleuchtung. Somit kann die komplexe Objektwelle auf der Sensoroberfläche komplett rekonstruiert werden. Zur Lösung des Fresnel-Kirchhoffsches Beugungsintegrals wird die rekonstruierte Objektwelle über eine Fresnellinse rechnerisch ins Unendliche abgebildet. Als Beugungsintegral ergibt sich dabei im Wesentlichen gerade die Fourier-Transformierte der Objektwelle. Die schichtweise Rekonstruktion des Objekts ist daher auf modernen Rechnern schnell über eine 2-D-FFT realisierbar. Abbildung 1.2.7 zeigt eine Kieselalge bei unterschiedlicher Brennweite der berechneten Fresnellinse. Zwecks Überschaubarkeit werden hier nur 4 Bilder gezeigt, in der Praxis können einige hundert fein abgestufte Bilder generiert werden.

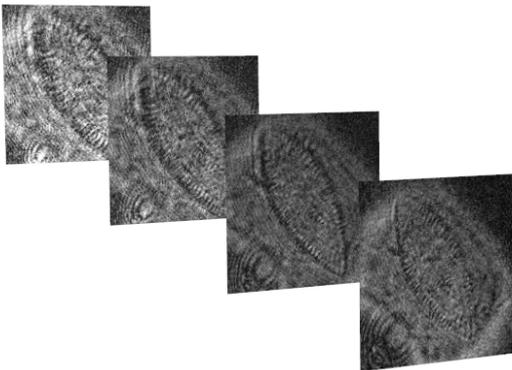


Abb. 1.2.7. In 4 Schichten rekonstruierte Kieselalge

Teilprojekt 1.3: Multispektrales Imaging

(Koordination: HS Reutlingen; Projektpartner: HS Aalen, HS Mannheim, ILM Ulm)

Projektziele für das Teilprojekt „Multispektrales Imaging“ im Laufe des Jahres 2009 waren die Implementierung der diffus optischen Abbildung auf die Chromosomenanalyse und erste Ergebnisse zum Einsatz der multivariaten Datenanalyse auf biologische Systeme.

Hintergrund:

Mit Hilfe der diffusen optischen Abbildung (diffuse optical imaging, DOI) im VIS-Bereich ist es möglich, markierungsfrei Chromosomen zu charakterisieren. In der klassischen bildgebenden Mikroskopie sind Unterschiede in der Strukturgröße im Nanometer-Bereich nicht beobachtbar. Mit Hilfe der DOI können jedoch strukturelle Unterschiede auch im Sub-Mikroskopischen Bereich erkannt werden. Dies wird sowohl durch theoretische Berechnungen (ILM Ulm) als auch durch Simulationen und praktische Beispiele (HS Reutlingen) belegt.

Modellrechnungen (ILM Ulm):

Es wurden Berechnungen zur Lichtausbreitung bzw. -streuung in biologischen Proben auf allen drei wichtigen Skalen durchgeführt. In der makroskopischen Skala konnten erstmals Lösungen der Diffusionsgleichung für streuende Medien mit einer beliebigen Anzahl von Schichten sowohl für lateral unendlich ausgedehnte Medien, als auch für eine Zylinder- und Quadergeometrie in allen drei Domänen (kontinuierlich, Frequenz- und Zeitdomäne) hergeleitet und verifiziert werden.

Des Weiteren wurde untersucht, welchen Einfluss die Verwendung einer Glasunterlage auf die Messung von Proben mit dem Streulichtmikroskop hat. Dazu wurde das winkelaufgelöste Streulicht einer aus verschiedenen Winkeln (40, 60, 80°) beleuchteten mikroskopischen Polystyrenkugel (Durchmesser = 0.895 μm), die sich auf einer Glasunterlage befindet, mit zwei verschiedenen Methoden berechnet. Zum einen wurden die Mie-Theorie und die Fresnel-Reflexionsformeln verwendet, zum anderen wurden die Maxwellgleichungen für das komplette System Glasunterlage/Kugel - mit gewissen Approximationen – gelöst, siehe Abb. 1.3.1. Die Grafik zeigt, dass bei kleinen Einfallswinkeln zur Normalen die Maxwellgleichungen für das Gesamtsystem gelöst werden müssen.

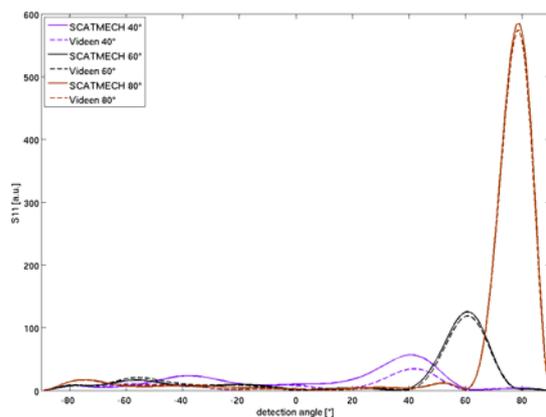


Abb. 1.3.1. Berechnetes Müllermatrixelement S_{11} des an einem Kugel-Fläche-System gestreuten Lichts, aufgetragen gegen den Detektionswinkel. Hierbei wurden sowohl der auf der Mie-Theorie basierende Code SCATMECH als auch ein semianalytischer Code verwendet.

In der mesoskopischen Skala wurde das inverse Problem, die Bestimmung des effektiven Streukoeffizienten und des Absorptionskoeffizienten aufgrund von ortsaufgelösten Remissionsmessungen, mit Hilfe der Skalierung einer einzigen Monte Carlo Simulation gelöst und implementiert. Dieser Code wird momentan an simulierten und an gemessenen Daten getestet. Im Bereich der mikroskopischen Skala wurde das FDTD (Finite-Difference Time-Domain)-Verfahren zur numerischen Lösung der Maxwellgleichungen auf drei Dimensionen erweitert und durch Vergleich mit der Mie-Theorie erfolgreich validiert. Außerdem wird momentan eine Erweiterung dazu, die PSTD (Pseudo-Spectral Time-

Domain)-Methode, implementiert, welche die Berechnung - im Vergleich zur FDTD-Methode - größerer Streukörper erlaubt.

Außerdem wurde ein Streulichtmikroskop für spektral aufgelöste Experimente aufgebaut und mit Messungen an Polystyrenen validiert. Dieses wird momentan für winkelaufgelöste Messungen durch Verwendung einer CCD-Kamera erweitert. Damit können die Experimente an der HS Reutlingen durch komplementäre Messungen am ILM verglichen und potentiell auch zur Chromosomencharakterisierung eingesetzt werden.

FDTD Fernfeldsimulationen von Chromosomen (HS Reutlingen):

Ausgehend von den oben genannten Annahmen wurde eine FDTD Simulation von Chromosomen durchgeführt. Abbildung 1.3.2 zeigt als Beispiel das Ergebnis für das Chromosom 17.

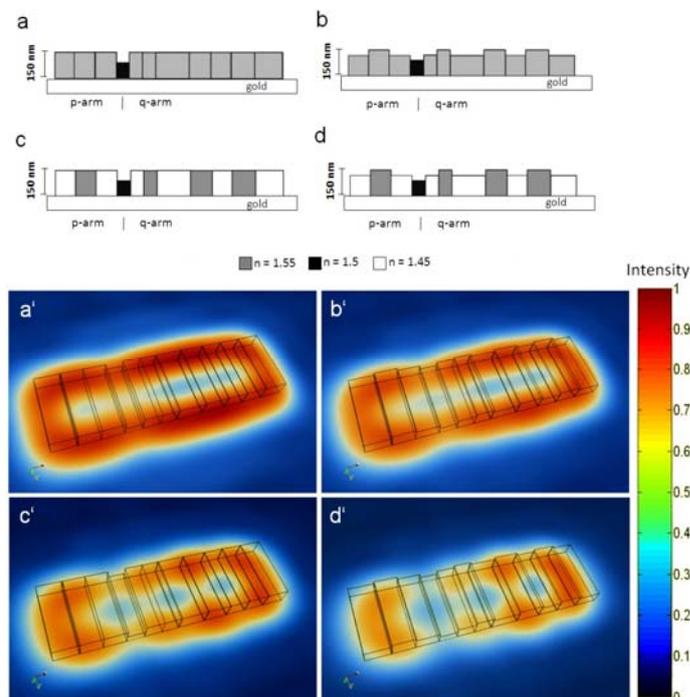


Abb. 1.3.2: Finite Difference Time Domain (FDTD) Fernfeld-Simulationen anhand eines vereinfachten Chromosomen-Modells. a-d: Schematische Darstellung von Chromosom 17 mit Änderungen des Brechungsindex und der Schichtdicke, außer bei der Zentromerposition. a: Einheitlicher Brechungsindex von 1,55 und gleichbleibende Schichtdicke. b: Einheitlicher Brechungsindex von 1,55 und variierende Schichtdicke. c: Variierender Brechungsindex und konstante Schichtdicke. d: Änderungen im Brechungsindex und in der Schichtdicke. a' bis d': Ergebnisse der FDTD Fernfeld Simulationen. Die Simulationsparameter entsprechen den Einstellungen des Dunkelfeld-Aufbaus: Unpolarisierte ringförmige Beleuchtung mit $\alpha=65^\circ$. Der Detektionswinkel von $\beta=48^\circ$ wird bestimmt durch die numerische Anertur des Objektivs

Die Ergebnisse zeigen, dass durch die Messung der diffusen spektralen Reflexion (auch ortsauflösend) es möglich ist, Chromosomen zu unterscheiden und zu charakterisieren.

Praktische Umsetzung in spektrale Signaturen:

Abbildung 1.3.3 zeigt an Hand der diffusen Reflexions-Spektren sehr deutlich, dass sich mit dieser Technik die einzelnen Chromosomen gut voneinander unterscheiden lassen. Die Streulichtspektren beinhalten neben der globalen Interferenz (Größe und Morphologie der Chromosomen) auch die lokale Interferenz (spezifische Bänderungsstruktur und Sub-Strukturen).

Für unterschiedlich präparierte und aberante Chromosomen lassen sich die vereinfachten Schemata jedoch nicht mehr geschlossen mathematisch beschreiben. Es werden deshalb die diffus optischen Spektren mit Hilfe der multivariaten Datenanalyse, insbesondere der Hauptkomponentenanalyse, ausgewertet. Vorteil dieser Technik ist, dass überlagernde Informationen orthogonal in Basisinformationen aufgeteilt werden.

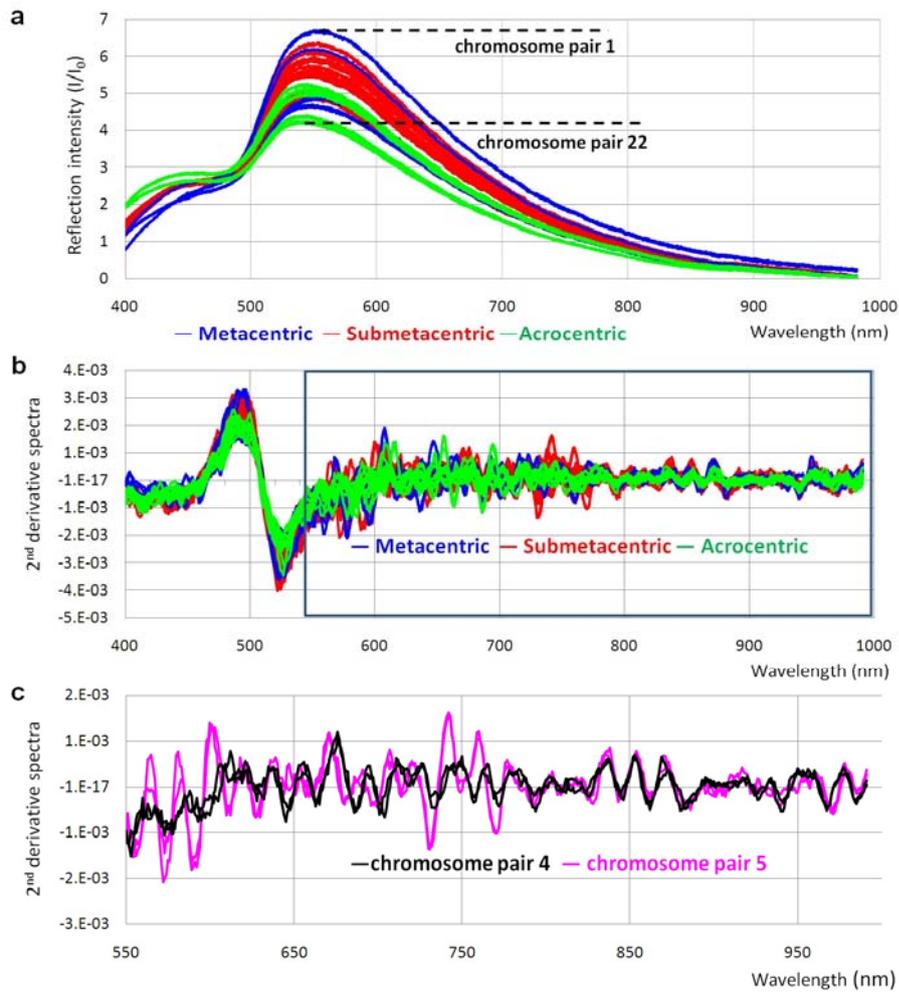


Abb. 1.3.3 (a) 46 Reflexionsspektren eines Metaphasen-Präparats. Metazentrische, submetazentrische und acentrische Chromosomen sind farblich unterschiedlich dargestellt; (b) Zweite Ableitung der Spektren (Savitzky-Golay); (c) Detailansicht der zweiten Ableitung der Spektren für die beiden submetazentrischen Chromosomenpaare 4 und 5.

Schwerpunkt 2: Photonische Sensorik – Messen mit Licht

Teilprojekt 2.1: Miniatur-Lasersensor

(Koordination: HS Konstanz, Projektpartner: HS Furtwangen, HS Aalen, HS Offenburg)

Die Haupt-Aktivitäten der HTWG Konstanz im Jahr 2009 konzentrierten sich auf folgende Punkte:

1. Entwicklung eines miniaturisierten Aktuators, aufbauend auf den Designstudien und Simulationen im ersten Projektjahr; Realisierung eines ersten Prototyps.
2. Entwicklung eines miniaturisierten Interferometer-Kopfes: optisches Design, Verifizierung der Aufbau- und Verbindungstechnologie, Bestellung der Hardware.
3. Entwicklung eines ersten Profilometer-Aufbaus, basierend auf einem bestehenden Interferometer: Realisierung eines Oberflächen-scans (alternativ: Aktuation der Probe sowie Messstrahl-Aktuation), Verwendung eines selbstentwickelten DBR-Lasermoduls als Lichtquelle

a) Entwicklung eines miniaturisierten Aktuators (in Zusammenarbeit mit der Hochschule Furtwangen, Prof. Mescheder)

Im Rahmen des ZAFH-Projektes wird in Zusammenarbeit mit der FH Furtwangen ein miniaturisierter Aktuator mit einem vorgesehenen maximalen Drehwinkel von ± 1 mrad und einem Winkelrauschen < 20 nrad/ $\sqrt{\text{Hz}}$ entwickelt. Um Ablagefehler zu minimieren, sollen Drehachse und Spiegeloberfläche möglichst exakt zusammenfallen (~ 100 nm). Auf den erarbeiteten Spezifikationen wurde ein Design entwickelt, simuliert und realisiert. Der Spiegel basiert auf Silizium-Mikrosystemtechnologie, bei dem Spiegel, Drehachse und Halterung monolithisch aus einem einzigen Siliziumwafer gefertigt werden. Die Winkelverstellung erfolgt mittels elektrostatischer Kräfte. In Abbildung 2.1.1, links, ist eine Schemazeichnung des Spiegels gezeigt. Die monolithische Silizium-Struktur beinhaltet neben dem aktuierten Mikrospiegel noch zwei Referenzspiegel, die zur Charakterisierung des Mikrospiegels dienen. Diese erfolgt in einem nächsten Schritt unter Verwendung eines Interferometers mit Pikometer- und Nanoradiant- Sensitivität. In Abbildung 2.1.1, rechts, sind eine Simulation des aktuierten Spiegels (bei Anlegen einer Spannung von 150V) sowie ein Foto des fertigen Spiegels gezeigt.

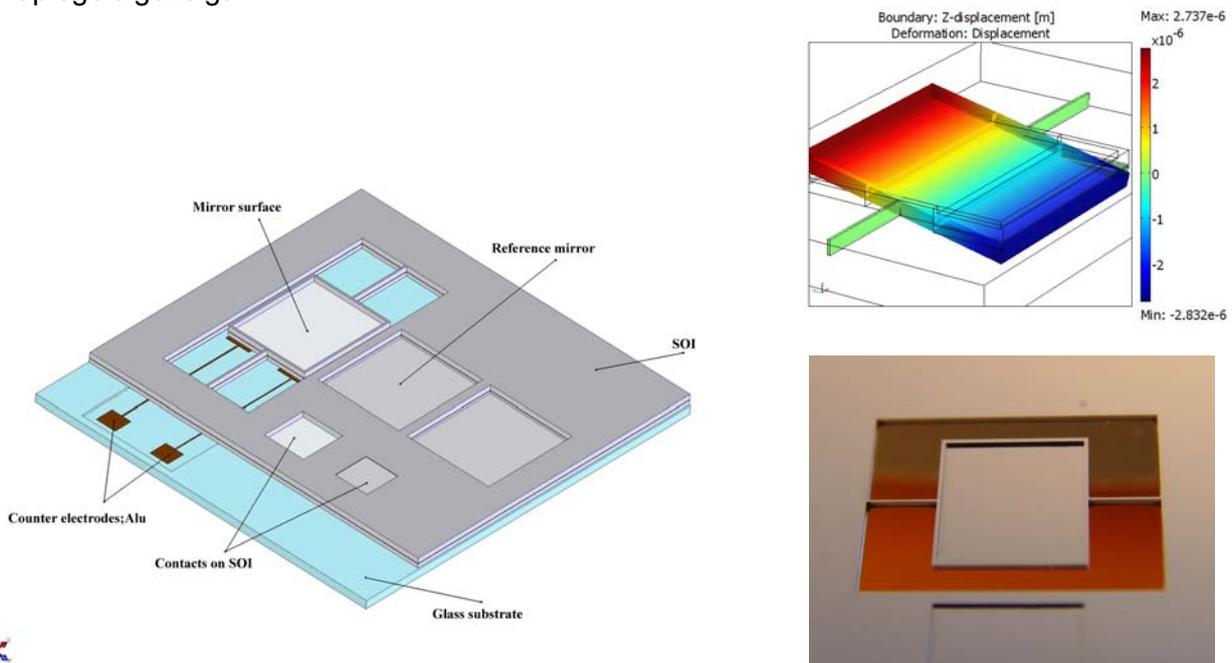


Abb. 2.1.1. Realisierter Mikrospiegel. Links: Schemazeichnung des Spiegels. Rechts oben: Simulation der Spiegelverkipfung bei Anlegen einer Spannung von 150V. Rechts unten: Foto des gefertigten Spiegels.

b) Entwicklung eines miniaturisierten Sensorkopfes

Innerhalb des ZAFH-Projektes wird im Hinblick auf den Einsatz im Weltraum sowie in der industriellen Umgebung ein miniaturisierter Sensorkopf entwickelt. Um die dafür notwendige mechanische und thermische Stabilität zu gewährleisten, wird eine Grundplatte aus Zerodur, einer Glaskeramik mit einem sehr geringen Wärmeausdehnungskoeffizienten von $2 \cdot 10^{-8} \text{ K}^{-1}$, verwendet. Die Aufbau- und Verbindungstechnologie wurde in Vortests evaluiert. Ein Vergleich zwischen Hydroxide-Catalysis Bonding und Kleben mittels Zwei-Komponenten Epoxy zeigte eine ähnliche mechanische und thermische Stabilität. Geplant ist nun die Verwendung von Zwei-Komponenten-Epoxy aufgrund längerer Justierzeiten und einfacherer Handhabung.

Es wurde ein überarbeitetes Layout des Sensorkopfes erarbeitet, vgl. Abbildung 2.1.2. Die Spezifikationen für die einzelnen Komponenten wurden erarbeitet und Bestellungen getätigt. In einem nächsten Schritt erfolgen die Integration des Aufbaus und die Entwicklung von Justier-Vorrichtungen.

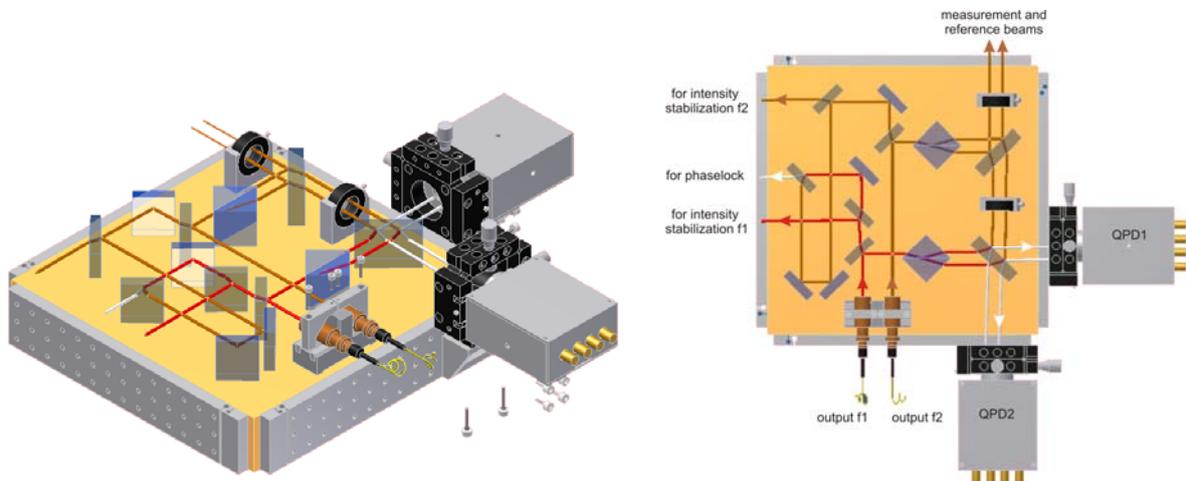


Abb. 2.1.2. CAD-Zeichnung des geplanten Miniatur-Lasersensors. Mess- und Referenzstrahl des Interferometers verlassen free-beam das Interferometer-Board.

c) Erste Realisierung eines Profilometer-Aufbaus

Basierend auf den Vorarbeiten wurde ein erster Profilometer-Aufbau realisiert, wobei ein bestehendes Interferometer benutzt wird, welches zunächst Translation und Winkel an einem Punkt misst. Für die Profilometrie und damit für die Realisierung eines Oberflächenscans wurden zwei Ansätze verfolgt: (i) Aktuation der Probe, (ii) Aktuation des Messstrahls des Interferometers. Während der erste Ansatz eine höhere Genauigkeit in der erzielbaren z-Auflösung verspricht, kann der zweite Ansatz kompakter und unabhängiger realisiert werden. In beiden Fällen wird ein DBR-Lasermodul als Lichtquelle verwendet, welches zu Beginn des ZAFH-Projektes entwickelt wurde. Ein Foto des Aufbaus ist in Abbildung 3, links, gezeigt.

Aktuation der Probe: Der Messspiegel des bestehenden Aufbaus wurde auf einem x-y-Piezo-Verfahrtisch mit einem Verfahrweg von $600 \mu\text{m} \times 600 \mu\text{m}$ montiert. Eine erste vorläufige Messung ist in Abbildung 2.1.3, rechts, gezeigt. Die erkennbare Drift ist höchstwahrscheinlich auf eine Änderung äußerer Parameter (wie beispielsweise Temperatur) zurückzuführen. Eine detaillierte Auswertung der Messung wird momentan durchgeführt.

Messstrahl-Aktuation: Hierbei wird der Messstrahl des Interferometers aktuiert, wobei keine Änderung der optischen Pfadlänge während der Aktuation stattfinden soll. Eine x-y-Aktuation unter Verwendung zweier Dove-Prismen wurde realisiert und erste Messungen durchgeführt.

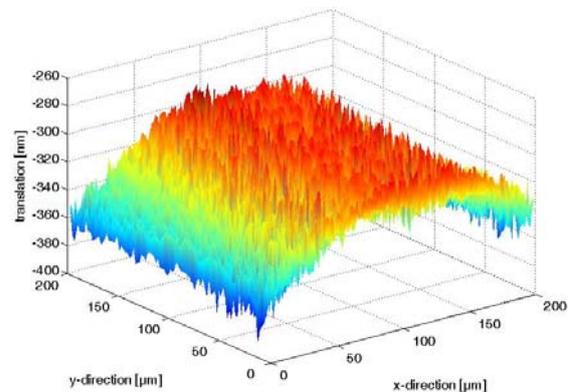
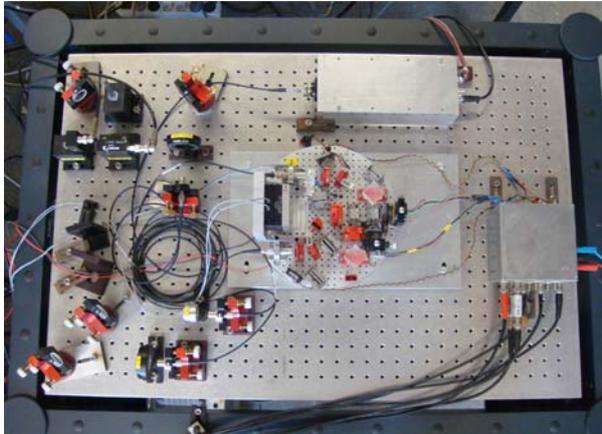


Abbildung 2.1.3: Links: Realisierter Profilometer-Aufbau mit Probenaktuation. Rechts: Erste Messung mit dem Profilometer.

Teilprojekt 2.2: Faseroptischer Gassensor

(Koordination: HS Furtwangen; Projektpartner: HS Konstanz, HS Offenburg)

Ziel dieses Projektes ist die Entwicklung eines kompakten, gegen äußere Einflüsse unempfindlichen Faser-basierten Sauerstoffsensors auf der Grundlage der Laser-IR-Spektroskopie. Die Verwendung von Hohlfasern ermöglicht eine genügend große Absorptionsstrecke bei einem kompakten Aufbau des Sensors. In einem ersten Schritt wurde die prinzipielle Eignung von photonischen Hohlfasern nachgewiesen [1]. Dabei wurde jedoch im Vergleich zur Messung über eine freie Luftstrecke eine wesentliche Zunahme des Signalrauschens beobachtet, das die Bestimmung der Sauerstoffkonzentration mit der gewünschten Genauigkeit erheblich erschwert. Daher wurden in dem Berichtszeitraum die Ursachen des Signalrauschens näher untersucht und mögliche Alternativen auf ihre Eignung diskutiert. Auf der Basis der Ergebnisse wurden zwei alternative Konzepte entwickelt, die kurz vor ihrer Realisierung stehen. Zudem wurde ein Algorithmus entwickelt, der es gestattet auf der Basis der HITRAN Daten [5] aus den gemessenen Absorptionsspektren direkt die Gaskonzentration zu bestimmen.

a) Untersuchung der Eignung verschiedener Hohlfasertypen für den faseroptischen Gassensor

Photonische Bandgap-Faser

Die bisherigen experimentellen Untersuchungen zu dem Rauschverhalten der photonischen Hohlfaser haben eindeutig gezeigt, dass das beobachtete Signalrauschen von statistischen Variationen des spektralen Transmissionsgrads der Faser herrührt. Weitere Ursachen wie Etalon- und Interferenzeffekte, Fokusstabilität, Einfluss der Laserstrahlungsquelle (Polarisation, Bandbreite, longitudinale und transversale Lasermoden) etc. konnten weitestgehend ausgeschlossen werden.

Der Verlauf der Transmissionsvariationen hängt sehr empfindlich von der Einkopplung des Lasers in die Faser und von der Lage und Biegung der Faser ab. Die Transmissionsfluktuationen nehmen etwa linear mit wachsender Faserlänge zu (vgl. Abb. 2.2.1.: die relative

Standardabweichung der Transmissionsfluktuationen für die 2 m Faser beträgt 5,7% und für die 5 m Faser 10%). Im Mittel beträgt die Standardabweichung der Transmissionsfluktuationen etwa 2,2% pro m Faserlänge, was sehr stark die Nachweisempfindlichkeit begrenzt. Aus Abb. 2.2.1 ist ersichtlich, dass schon der Sauerstoffgehalt der Luft bei Normaldruck nicht mehr nachweisbar ist.

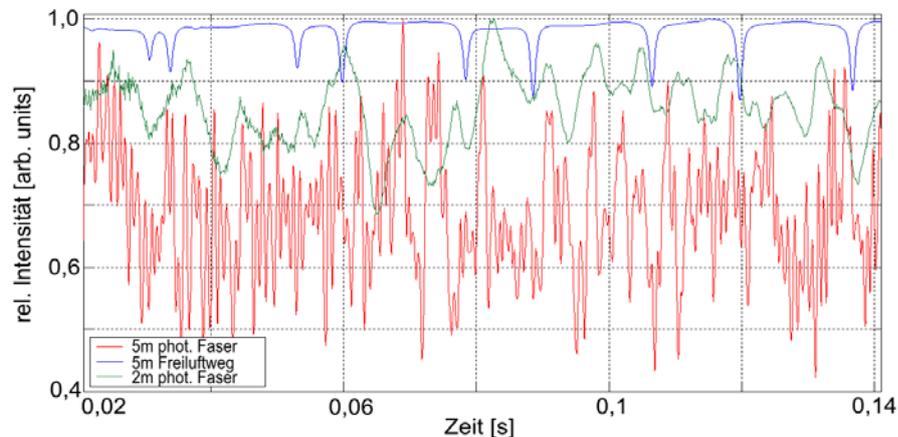


Abb. 2.2.1. Relativer spektraler Transmissionsgrad einer 2 m (grün) und einer 5 m langen (rot) photonischen Faser. Zum Vergleich ist der Transmissionsgrad eines 5m Luftwegs mit den Sauerstoffabsorptionslinien dargestellt. Die Zeitskala entspricht einem Wellenlängenbereich von 762,49 nm und 763,65 nm. Die Normierung erfolgte auf die wellenlängenabhängige Laserintensität, die durch ein Polynom 3. Grades angepasst wurde.

Eine Möglichkeit, diese Transmissionsfluktuationen zu umgehen, ist ein Differenzverfahren bei dem der spektrale Transmissionsgrad der leer gepumpten Faser vom Messsignal abgezogen wird. Allerdings erfordert das einen sehr stabilen Aufbau, eine sehr reproduzierbare Zeitablenkung sowie konstante Umgebungsbedingungen. Messungen haben gezeigt, dass der Verlauf des spektralen Transmissionsgrads zwar im Wesentlichen formstabil war, sich im Laufe der Zeit (möglicherweise durch den Temperaturgang) verschob, so dass das Verfahren nicht praktikabel war. Als Fazit muss festgehalten werden, dass photonische Bandgap-Fasern für den geplanten Gassensor nicht geeignet sind.

Hohlfasern mit metallischer Innenbeschichtung

Eine Alternative zur Erzielung einer genügend großen Absorptionslänge bei kompaktem Aufbau ist die Verwendung von Hohlfasern mit metallischer Innenbeschichtung zur Erhöhung des Reflexionsgrads. Es gibt eine Reihe von Hohlfasern auf dem Markt, die potenziell für die Gassensorik geeignet sind. Die Firma Polymicro Technologies [2] bietet silberbeschichtete Hohlfasern mit einer zusätzlichen Silberjodidschicht an (HWEA 300/750 für den 2.9 μm Wellenlängenbereich des Er:YAG-Lasers und HWCA 300/750 für den 10 μm Wellenlängenbereich des CO₂ Lasers). Ein weiteres Beispiel ist die Hohlaser VSS 320/450 der Firma Doko Engineering [3] mit einer einfachen Silberbeschichtung. Da der Reflexionsgrad von Metallschichten sowohl vom Einfallswinkel als auch von der Polarisation des Lichts abhängt, wurde der Transmissionsgrad für die infrage stehende Wellenlänge von 760 nm in Abhängigkeit verschiedener Parameter (Biegebedingungen, Öffnungswinkel des eingekoppelten Lichtstrahls) experimentell gemessen und theoretisch simuliert. Die Simulation erfolgte mit der Software Zemax mittels non-sequential Ray Tracing.

Tabelle 1 zeigt die Messergebnisse für zwei Probestücke, VSS 320/450 von Doko Eng. und HWCA 300/750 von Polymicro (Innendurchmesser 320 μm bzw. 300 μm).

Hohlfaser	Länge [cm]	Dämpfung				
		gerade [dB]	L-förmig gebogen [dB]	U-förmig gebogen [dB]	ringförmig gebogen	
					[dB]	[dB/m]
VSS 320/450	39	4.0 dB	4.5 dB	5.0 dB	6.5 dB	16.6 dB/m
HWCA 300/750	50	9.9 dB	11.3 dB	12.8 dB	13.5 dB	27.0 dB/m

Tabelle 1. Gemessene Dämpfung für zwei Hohlfaserproben.

Es zeigt sich, dass die Polymicro-Hohlfaser HWCA 300/750 ein deutlich schlechteres Transmissionsverhalten als die Doko-Faser aufweist. Ähnlich ungünstig sind die Dämpfungswerte für die Polymicro-Hohlfaser HWEA 300/750. Das ist insofern überraschend, als nach den Simulationsergebnissen die Dämpfungen für die Hohlfaser mit einfacher Silberbeschichtung und die mit einer zusätzlichen Silberjodidschicht ähnlich sein sollten. Die Erklärung liefern die Abbildungen beider Fasern mit einem Rasterelektronenmikroskop (vgl. Abb. 2.2.2).

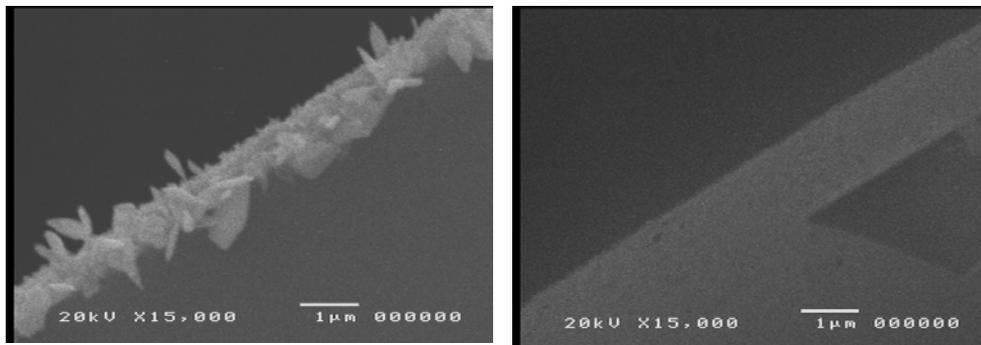


Abb. 2.2.2. REM-Abbildung der inneren Grenzfläche der HWEA 300/750 Hohlfaser von Polymicro (links) und der VSS 320/450 Hohlfaser von Doko Engineering (rechts)

Offensichtlich führt die Silberjodidbeschichtung zu erheblichen Rauigkeiten, die insbesondere für den kurzwelligen Bereich von 760 nm hohe Streuverluste verursachen. Die wellenlängenabhängigen Streuverluste erklären auch, warum im langwelligen Bereich bei 10 µm eine deutlich geringere Dämpfung gemessen wurde [6]. Es erweist sich damit, dass für die geforderte Absorptionslänge im Bereich von ca. 2 m die Dämpfung der beiden Hohlfasern der Firma Polymicro für den Wellenbereich von 760 nm zu hoch ist. Da die Simulationen zudem zeigten, dass die Transmissionsverluste mit wachsendem Innendurchmesser der Hohlfaser kleiner werden, wurde die Hohlfaser VSS 530/700 der Firma Doko Eng. mit einem Innendurchmesser von 530 µm ausgewählt.

Für die Sensor konstruktion ist der Öffnungswinkel wichtig, unter dem die Strahlung in die Faser eingekoppelt wird. Abb. 2.2.3 zeigt die gemessene und simulierte Abhängigkeit der Dämpfung einer 2 m langen Hohlfaser VSS 530/700 vom halben Einkoppelwinkel der eingekoppelten Strahlung. Auch hier liegen die gemessenen Werte noch deutlich über den Simulationsergebnissen, was möglicherweise durch Einkoppelverluste und ebenfalls durch Streuverluste an der

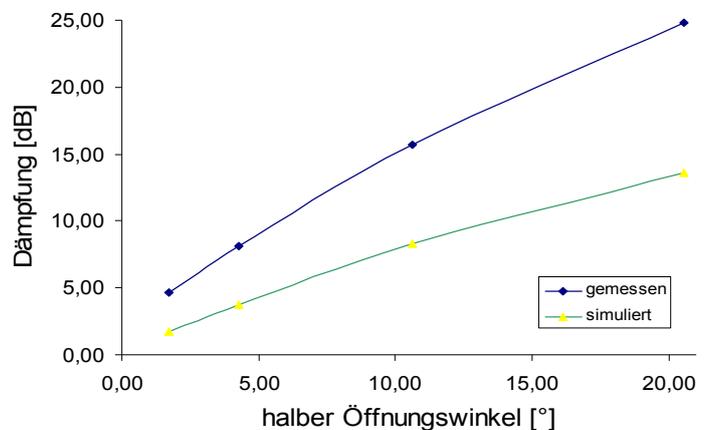


Abb.2.2.3. Simulierte und gemessene Dämpfung einer 2 m langen geraden VSS 530/700 Hohlfaser in Abhängigkeit vom halben Einkoppelwinkel.

Silberschicht erklärt werden kann. Es ist aber ersichtlich, dass möglichst kleine Einkoppelwinkel gewählt werden sollten, um die Dämpfung zu minimieren. Zusätzlich wurde auch die Dämpfung einer aufgewickelten Hohlleiter (Wicklungsdurchmesser: 33 cm) gemessen, die mit 16 dB bei einem Einkoppelwinkel (Halbwinkel) von $1,7^\circ$ für die vorgesehene Anwendung akzeptabel ist.

b) Konzeptionen des Gassensors

Hohlleiter-basierter Gassensor

Die Sensoreinheit mit dem Laser-Hohlleiter-Einkopplungsmodul und Detektormodul (vgl. Abb. 2.2.4) wird aus Aluminium gefertigt. Die Laserstrahlung wird durch eine GRIN-Linse eingekoppelt. Die Hohlleiter kann evakuiert werden und befüllt werden. Die Sensoreinheit befindet sich z. Z. in der Werkstatt und wird Mitte Januar fertig werden. Danach kann sie zusammengebaut, kalibriert und die Performance getestet werden.

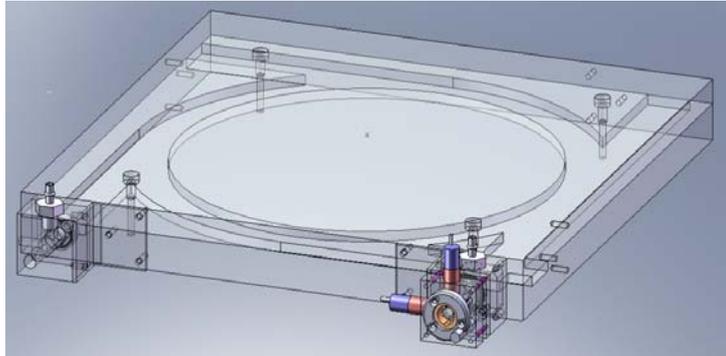


Abb. 2.2.4. Ansicht des für die VSS 530/700 Hohlleiter optimierten Adapters mit der Einkopplungs- (rechts) und der Detektoreinheit (links)

Mikrokanäle als Wellenleiter

Ein weiteres Konzept, das verfolgt wird, ist die Fabrikation von Mikrokanälen in ein Substrat mittels mikrosystemtechnologischer Methoden, die metallbeschichtet als Wellenleiter fungieren. Auf diese Weise lässt sich der Sensor bei einer vergleichsweise preiswerten Technologie wesentlich kompakter aufbauen. Als Substrat wird ein Glas-Wafer mit einem Durchmesser von 100 mm verwendet, in das Mikrokanäle geätzt werden, die mit Gold bedampft werden. Abgedeckt wird dieser mit einem ebenfalls mit Gold beschichteten Glaswafer (vgl. Abb. 2.2.5). Zwei verschiedene Konfigurationen mit jeweils zwei Längen (0,6 m und 2 m) sollen untersucht werden, wobei die Ringform aus [4] entnommen wurde (Abb. 2.2.6). Die Wafer werden zurzeit geätzt und sollten ebenfalls Mitte Januar fertig sein. Zielstellung für dieses Konzept ist der Nachweis der prinzipiellen Eignung für die Gassensorik

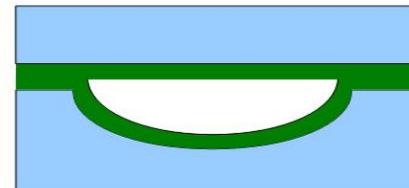


Abb. 2.2.5. Querschnitt eines Wellenleiterkanals in einem mit Gold (grün) beschichteten Glaswafer (blau) abgedeckt einem weiteren Glaswafer

Signalauswertung

Es wurde ein Algorithmus in MATLAB entwickelt, der es gestattet, aus den gemessenen Absorptionslinien (vgl. z.B. Abb. 2.2.1) auf die Gaskonzentration zu schließen. Das Verfahren beruht auf der Auswertung der HITRAN-Daten [5] für die

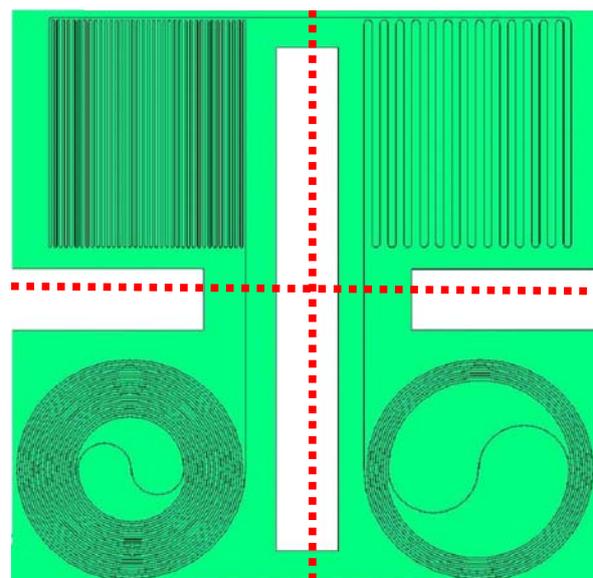


Abb. 2.2.6. Aufsicht auf den strukturierten Wafer. Die gestrichelte rote Linie zeigt, wo der Wafer geteilt wird, so dass 4 Wellenleiterstrukturen mit einer Länge von 2m (links) und 0,6 m entstehen.

entsprechenden Gase. Der Algorithmus wurde zunächst für den vorhandenen CO₂-Sensor entwickelt und erprobt [7] und muss noch auf den Sauerstoffsensor übertragen werden.

Zusammenfassung und Ausblick

Für den Sauerstoffsensor werden zwei Konzepte verfolgt, eines basierend auf der Verwendung von silberbeschichteten Hohlfasern, das andere auf goldbeschichteten Mikrokanälen in Glaswafern. Die Arbeiten sind soweit fortgeschritten, dass beide Konzepte in den kommenden Wochen realisiert werden können, wobei es bei letzterem Konzept zunächst einmal um den Nachweis der prinzipiellen Eignung geht. Ausstehende Arbeiten sind danach quantitative Messungen, Kalibrierung und Charakterisierung des Faser-Gas-Sensors.

Literatur:

- [1] ZAFH – PHOTONⁿ PHOTONische Verfahren in neuen Dimensionen, Forschungsbericht 2008
- [2] Polymicro Technologies, LLC, "The Book on the technologies of Polymicro" and product catalogue, 2005
- [3] Hollow glass fibres for infrared lasers, <http://do-ko.jp/specs.html>, accessed on February 2009.
- [4] R.W. Tjerkstra, "Isotropic etching of silicon in fluoride containing solutions as a tool for micromachining", Doctoral Thesis, Universiteit Twente, 23rd of September, 1999.
- [5] Rothman, L.S. et al, "The HITRAN 2004 molecular spectroscopic database", Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer 96, 139-204 (2005)
- [6] S. Hartwig, A. Lambrecht, Charakterisierung von Hohlfasern für kompakte Infrarot-Gasmesszellen, Technisches Messen 75 (2008) 10, 555-564
- [7] V. Schewtschenko, Bachelor Thesis, Hochschule Furtwangen, 2009

Teilprojekt 2.3: Fabry-Perot-Biosensor

(Koordination: HS Furtwangen; Projektpartner: HS Aalen, ILM Ulm)

Gesamtziel: Entwicklung und Validierung eines miniaturisierten photonischen Biosensors

Im Projekt „Fabry-Perot-Biosensor“ geht es um die Entwicklung und Validierung eines miniaturisierten photonischen Biosensors, bei dem quasi-dielektrische Schichten aus porösem Silizium gebildet werden, die neben der optischen Funktion (Interferenz) auch die Immobilisierung von in Fluiden gelösten bioaktiven Substanzen in Desorptionsschichten bereitstellen.

Projektziel 1: Design des Biosensors

Modellierung und Simulation

Mit Hilfe des Simulationsprogramms Macleod wurden die spektralen Eigenschaften der untersuchten optischen Schichten analysiert und optimiert, die erforderlichen Schichtfolgen bestimmt und die kritischen Parameter und deren Einfluss auf das Reflektionsspektrum der verschiedenen Multilayer-Strukturen untersucht. Mit den durchgeführten Arbeiten wurden die sich aus der jeweiligen Sensoranwendung resultierenden Anforderungen für die Multilayer-Strukturen festgelegt. Als Beispiel sind in Abb. 2.3.1 die Einflüsse der Schichtdicken- und Brechungsindexänderungen der nieder- und hochreflektiven Schichten bzw. die Zahl der Schichten auf das Reflektionsspektrum dargestellt. Die spektrale Breite des optischen Spaltes hängt nur schwach von der Anzahl der verwendeten Schichten (Bild 2.3.1,links), aber stark vom Brechungsindexunterschied der einzelnen Schichten (n_H , n_L) ab (Bild 2.3.1,rechts).

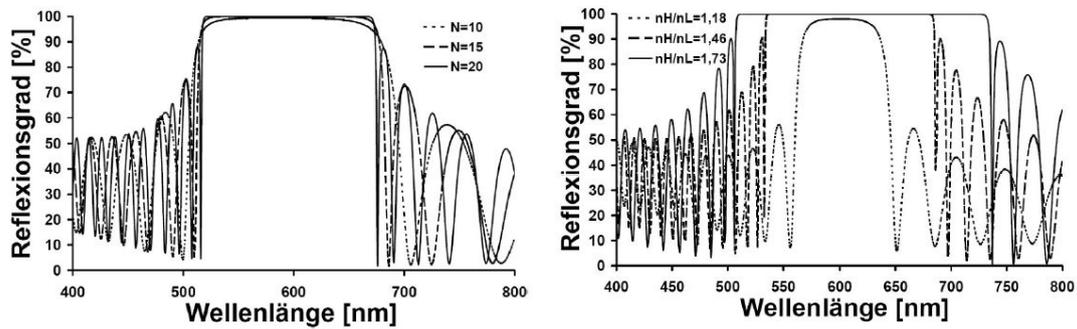


Abb. 2.3.1. Änderung des Reflektionsspektrums von Multischichten (DBRs) in Abhängigkeit von der Schichtzahl von 10 bis 20 (links) und dem Brechungsindexgradienten von 1.18 bis 1.73 (rechts).

Sensorgesamtkonzept

Neben der photonischen Grundstruktur (z.B. Fabry-Perot-Interferometer) sind weitere Komponenten erforderlich, die zu einem Gesamtsystem integriert werden müssen und dann das Biosensorsystem bilden. Von den unterschiedlichen Möglichkeiten des Sensorsystems wurde ein kostengünstiges miniaturisiertes Spektrometer („Minispektrometer“) ausgewählt und realisiert. In diesem System wird die spektrale Verteilung durch 3 LEDs erzeugt, das Sensorsignal mit Hilfe des optischen Filters extrahiert und die gemessenen Daten werden auf LCD Display dargestellt.

Projektziele 2,3,4: Technologieentwicklung, Charakterisierung und Chiprealisierung DBR

Parallel zur Modellierung und Sensorsystementwicklung wurden unterschiedliche Multischichtstrukturen realisiert. Da der Brechungsindex einer porösen Schicht nach dem Effektiv-Medium-Modell durch seine Porosität bestimmt ist, ist eine gezielte Steuerung der Porosität von Multilayerschichten entscheidend zur Realisierung des optischen Biosensors. Die Bildungsrate und Porosität der einzelnen Schichten werden durch die Prozessbedingungen (Stromdichte, Konzentration der Ätzlösung), Materialauswahl und Substratdotierung sehr stark beeinflusst. Abb. 2.3.2 links zeigt die Bildungsrate von p⁻ Silizium in 30-prozentiger HF/Ethanol Lösung für dünne, im Sekunden-Bereich hergestellte und dicke, im Minuten-Bereich hergestellte Schichten. Dünne Schichten zeigen eine niedrigere Bildungsrate im Gegensatz zu den dicken Schichten, weil der elektrochemische Ätzprozess einige Zeit braucht, bis sich die Potenzialverhältnisse während des Ätzprozesses stabilisieren. Abb. 2.3.2 rechts zeigt die Porosität der hergestellten Schicht für p⁻ und p⁺ Silizium. Die Anodisierung im p⁻ Substrat liefert deutlich höhere Porosität mit kleinerer Abhängigkeit von der Stromdichte während poröse Schichten im p⁺-Substrat eine kleinere Porosität aber größere Stromdichteabhängigkeit besitzen.

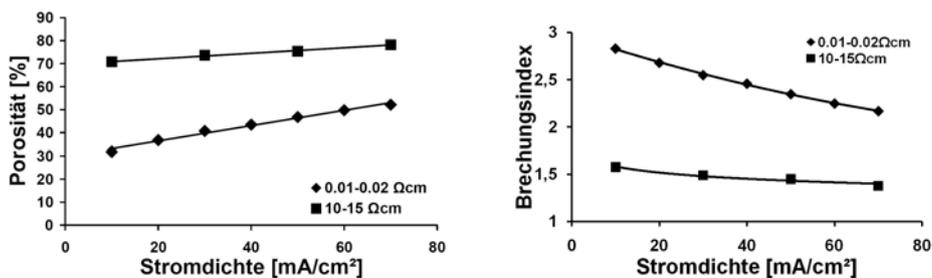


Abb. 2.3.2. Die Funktion der Porosität (links) und des Brechungsindex (rechts) in der Abhängigkeit von der Stromdichte für poröse Schichten in p⁻ und p⁺ Substrat.

Typischerweise wurden DBR Multischichten mit Schichtzahlen von 20-32 realisiert. Abb. 2.3.3 zeigt als Beispiel den Vergleich des gemessenen und simulierten Reflektionsspektrums einer Multischichtstruktur, der auf die Werte $d_L=136\text{nm}$, $d_H=127\text{nm}$, $n_L=1,38$, $n_H=1,48$ bei einer Schichtzahl von 20 als optimale Anpassung der Simulation an die Messung führt. Die Abweichung in der Intensität im kurzwelligeren Bereich ist auf die relativ große Gesamtschichtdicke (Simulation berücksichtigt Absorption nicht) und die Oberflächenrauigkeit der porösen Schicht zurückzuführen.

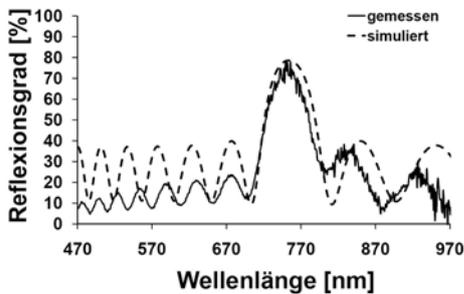


Abb. 2.3.3. Gemessenes und simuliertes Reflektionsspektrum von porösen Multischichten mit $d_H=127\text{nm}$, $d_L=136\text{nm}$, $n_L=1,38$, $n_H=1,48$ und Schichtzahl=20

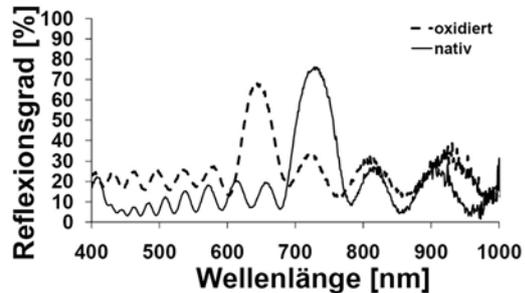


Abb. 2.3.4. Vergleich des Reflexionsgrades für native und oxidierte poröse Multischichten

Für eine effektive Anwendung von porösem Silizium als Biosensor ist es erforderlich, dass eine gute Benetzung der inneren Oberfläche stattfindet. Durch zusätzliche Oberflächenbehandlungen, wie z.B. thermische Oxidation, werden die physikalischen Eigenschaften der porösen Schicht verändert. Damit können in den porösen Siliziumschichten hydrophile Oberflächeneigenschaften erreicht werden, ohne die im nm-Bereich liegenden Poren zu schließen. Die thermische Oxidation verursacht eine Materialumwandlung vom Silizium in eine Oxidschicht und gleichzeitig eine Reduktion der Porengröße. Die durchschnittliche Porengröße z.B. bei 30mA/cm^2 Stromdichte wird um $0,5\text{nm}$ verkleinert. Dieser Effekt führt auch zu einer 35%-igen Reduzierung der Porosität und damit zur Änderung der effektiven Brechungsindizes der Schichten. Die oxidierten Multischichten zeigen veränderte spektrale Eigenschaften. Die thermische Oxidation verursacht eine Blauverschiebung und eine geringfügige Reduzierung des Reflexionsgrades im Spektrum. Abb. 2.3.4 zeigt einen direkten Vergleich des Reflexionsgrades für native und oxidierte Multischichtstruktur (DBR). Durch thermische Oxidation wird weiterhin die große innere Oberfläche der porösen Schicht stabilisiert und die Langzeitstabilität des Sensors verbessert. Um eine gute Reproduzierbarkeit und Homogenität zu erreichen wurden an der HFU unterschiedlichen Teststrukturen hergestellt. Diese Teststrukturen werden zurzeit an der Hochschule Aalen charakterisiert. Die ersten Messergebnisse stehen Anfang 2010 zur Verfügung.

Projektziel 5: Gesamtintegration

Ein kostengünstiges optisches Sensorsystem (Minispektrometer) wurde entwickelt, hergestellt und getestet. Abb. 2.3.5 zeigt den schematischen (links) und realisierten (rechts) Aufbau des Minispektrometers.

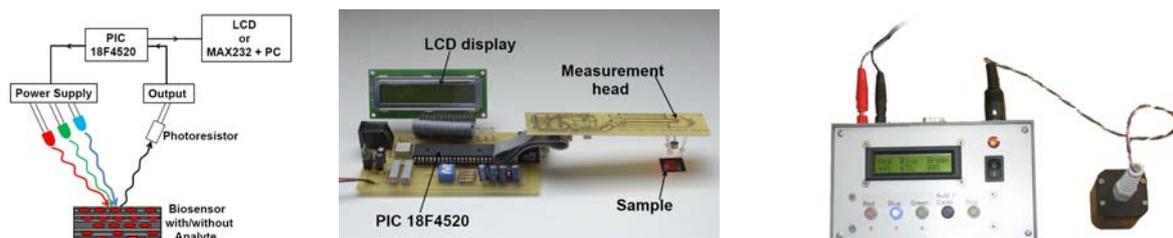


Abb. 2.3.5. Schematischer (links) und realisierter Aufbau ohne (Mitte) und mit Gehäuse (rechts) des Minispektrometers.

Projektziel 6: Validierung des Biosensors an Referenzsubstrat

Die hergestellten Strukturen wurden sowohl mit organischem Lösemittel als auch mit wässrigen Lösungen getestet. Als organische Lösemittel wurde Methanol, Ethanol und Toluol mit einem Brechungsindex jeweils von 1.329, 1.36 und 1.496 verwendet. In dem untersuchten Brechungsindexbereich wurde eine Wellenlängenverschiebung durch Befüllung der porösen Schichten mit den jeweiligen Testlösungen von 100-137nm für native poröse Schichten und 44-83nm für oxidierte poröse Schichten gemessen (Abb. 2.3.6). In ähnlicher Weise wurden die hergestellten Multischichten mit wässrigen Lösungen, wie z.B. Zuckerlösung getestet. Der Brechungsindexbereich für Zuckerlösungen wurde von 1,334 bis 1,42 variiert und eine entsprechende Wellenlängenverschiebung von 35nm bis 55nm gemessen, wie in Abb. 2.3.7 gezeigt ist. Die oxidierten Schichten zeigen ausreichende mechanische Stabilität selbst nach gemischten (organische/wässrige) Belastungen.

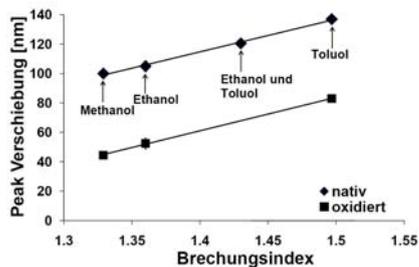


Abb. 2.3.6. Wellenlängenverschiebung der nativen und oxidierten porösen Multischichten (DBRs) für unterschiedliche organische Lösungen.

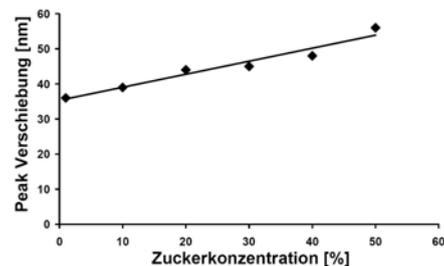


Abb. 2.3.7. Wellenlängenverschiebung der oxidierten porösen Multischicht (DBR) für wässrige Lösung als Funktion der Zuckerkonzentration.

Zusammenfassung und Ausblick:

Im Projektjahr 2009 wurden die unterschiedlichen optischen Schichtstrukturen mit dem Simulationsprogramm Macleod analysiert und der Einfluss der Herstellungsparameter auf die spektrale Änderung untersucht. Die optischen und sensorischen Eigenschaften der realisierten Multischichten (DBRs) können durch die Anodisierungsbedingungen und Substratdotierung beeinflusst und gezielt eingestellt werden. Zusätzliche Oberflächenbehandlungen, wie z.B. thermische Oxidation, verursachen einerseits Materialumwandlung und Reduktion der Porosität, andererseits wird die Oberfläche stabilisiert und die Benetzung der inneren Oberfläche speziell für wässrige Lösungen verbessert. Die gemessenen und simulierten Ergebnisse des Reflektionsspektrums zeigen eine gute Korrelation. Die untersuchten optischen Multischichten zeigten eine sehr gut auswertbare Wellenlängenverschiebung sowohl für organische als auch für wässrige Lösungen. Ein kostengünstiges optisches Messsystem wurde entwickelt hergestellt und getestet. Damit steht grundsätzlich ein photonisches Biosensorsystem zur Verfügung, das nun im weiteren Projektverlauf getestet und weiterentwickelt werden kann. Die Validierung des Biosensors an biologischen Substraten und die hochauflösende Charakterisierung des DBR Biosensors werden im Projektjahr 2010 durchgeführt. Die Arbeiten befinden sich im Zeitplan.

Teilprojekt 2.4: 4D – Fertigungsmesstechnik

(Koordination: HS Aalen; Projektpartner: HS Furtwangen, HS Konstanz)

Gesamtziel: Entwicklung und Validierung eines miniaturisierten photonischen Biosensors

Bei der Herstellung von asphärischen Linsen und Freiformflächen aus Glas spielt die Messung der geschliffenen Oberfläche in Bezug auf die erreichbare Oberflächenqualität und die Fertigungskosten eine sehr wichtige Rolle. Aus diesem Grund ist es notwendig, ein Messgerät zu haben, mit dem beispielsweise Oberflächentopographie und Tiefenschädigung (SSD - subsurface damages) während und nach dem Schleifprozess überprüft werden können. Die üblicherweise verwendeten taktilen Messgeräte haben zwar eine ausreichende Genauigkeit für die Vermessung der globalen Form, sind jedoch eingeschränkt in ihrer lateralen Auflösung, welche für das Erkennen von Tiefenschädigungen (SSD) erforderlich ist. Insbesondere die zerstörungsfreie Messung von SSD ist eine große Herausforderung bei der Vermessung von geschliffenen Oberflächen. Um SSD zu detektieren wurde eine dreidimensionale optische Methode, basierend auf der Kurzkohärenzinterferometrie, an der HS Aalen aufgebaut und getestet.

Im zweiten Jahr des Projektes wurden folgende Themenschwerpunkte bearbeitet:

- die Anwendbarkeit der Methode in der Prozessoptimierung und
- Verbesserung der Einstellparameter des OCT-Prototyps.

Messungen, Ergebnisse und Diskussionen

Um die Anwendbarkeit der OCT-Methode in der Prozessoptimierung von geschliffenen Oberflächen zu überprüfen und nachzuweisen, wurden unterschiedliche Proben verschiedener Hersteller getestet. Die erste Probe bestand aus Saphirplanflächen (20 Proben, wafer) mit gleichen Dimensionen, die mit unterschiedlichen Bearbeitungsparametern produziert wurden. Dabei zeigen z.B. die konventionellen Prüfmethode gleiche Oberflächenrauigkeiten ($rms = 3,5 \mu m$) für 2 Flächen, die in Abb. 2.4.1 (a) und (b) dargestellten OCT-Messungen dagegen unterschiedliche rms und Peak to Valley (PV) Werte, die von existierenden Tiefenschädigungen stammen. Dies ist in Diagramm 2.4.1 (c) an den unterschiedlich hohen PV Werten für die beiden Proben deutlich zu erkennen

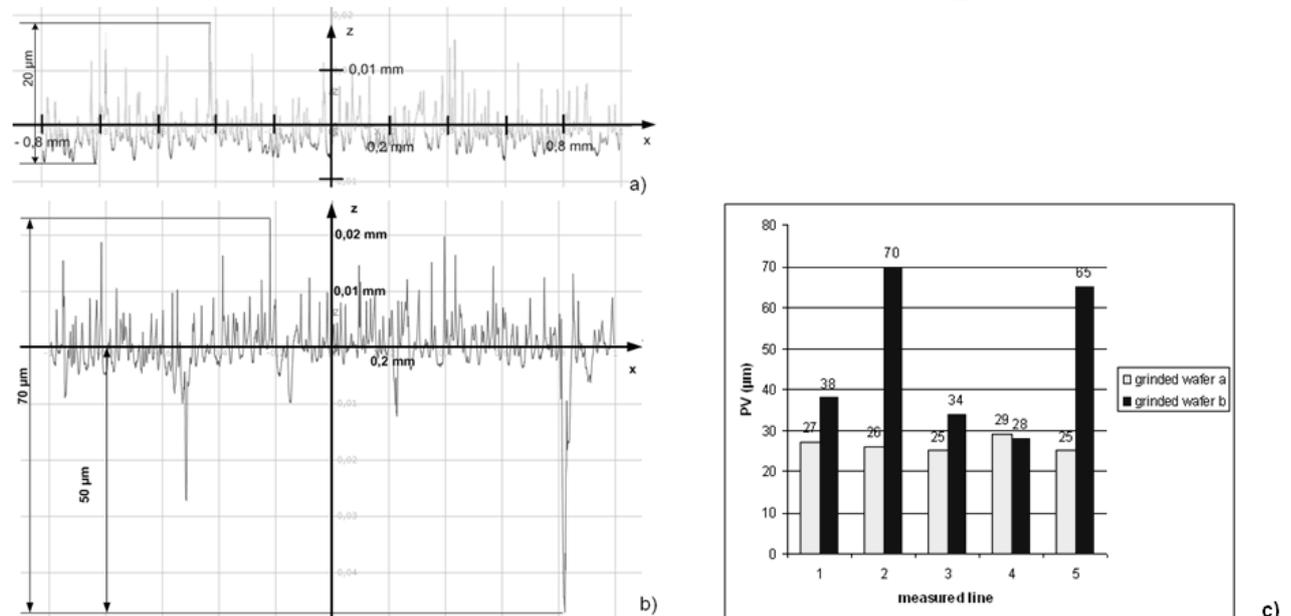


Abb. 2.4.1 (a,b). OCT Ergebnisse zweier Beispielmessungen von gemessenen Wafern; (c) Vergleich von PV Werten für fünf Stellen der Beispielwafer a und b.

In einem weiteren Schritt wurden Vergleichsmessungen mit der in der Industrie zur Bestimmung von SSD verwendeten Keilmethode durchgeführt (Abb. 2.4.2). Dafür standen 8 Keile aus verschiedenen Glassorten zur Verfügung.

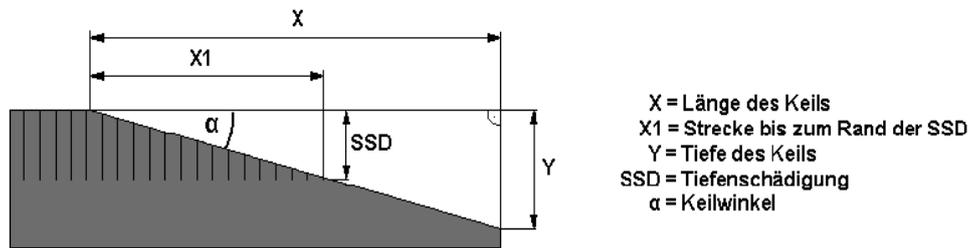


Abbildung 2.4.2. Prinzip der Keilmethode: Auf die geschliffene Planfläche wird ein Keil mit einem definierten Winkel aufpoliert. Anschließend wird die Linse mit einem Mikroskop vermessen um den Bereich, in dem in x-Richtung noch Tiefenschädigungen zu sehen sind, zu bestimmen. Die Tiefe der Risse können durch den trigonometrischen Zusammenhang zwischen Keilwinkel und der Länge des Keils berechnet werden.

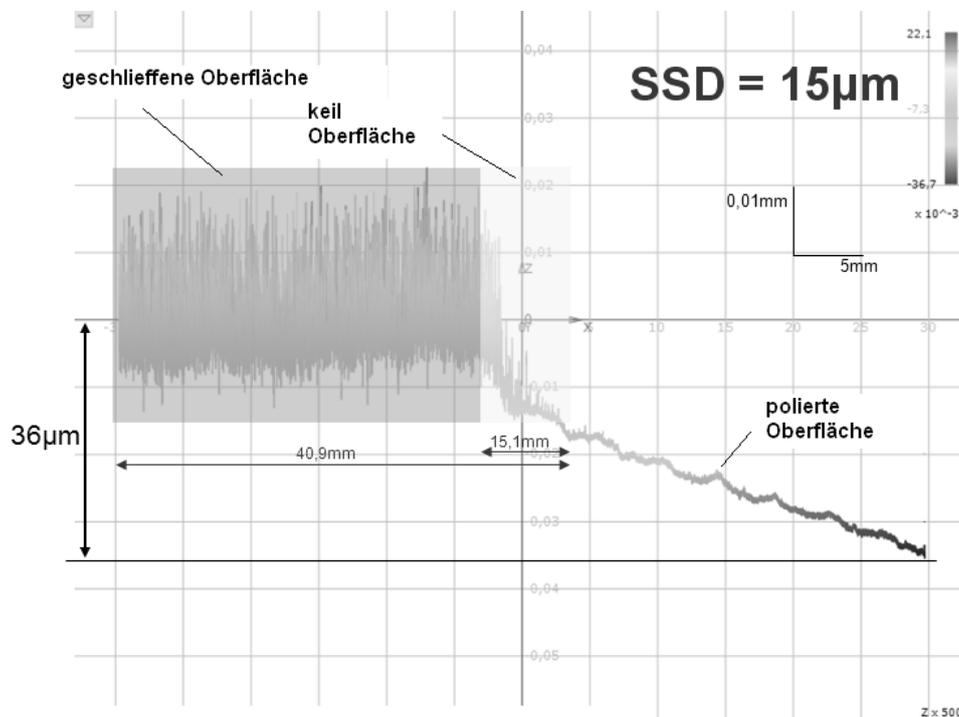


Abbildung 2.4.3. OCT-Ergebnisse des Keilmethode: Die Probe, die einen Durchmesser von 60 mm besitzt, wurde mit einer lateralen Auflösung von $1\mu\text{m}$ über die drei verschiedenen bearbeiteten Bereiche (geschliffen, teilweise poliert, vollständig poliert) abgetastet. Die Messung mit dem OCT Verfahren zeigt, übereinstimmend mit der Keilmethode, dass im Bereich des geschliffenen und teilweise polierten Oberfläche Tiefenschädigungen vorhanden sind, während diese im vollständig polierten Bereich nicht mehr existieren.

Ein Vergleich der Ergebnisse beider Messmethoden (Abb.2.4.3 und 2.4.4) zeigt für alle Glassorten eine gute Übereinstimmung der Messergebnisse. Die OCT-Methode liefert damit die gleichen Werte wie der bisherige Industriestandard Keilmethode, aber mit einem in der Summe um einen Faktor 1000 geringem Zeitaufwand.

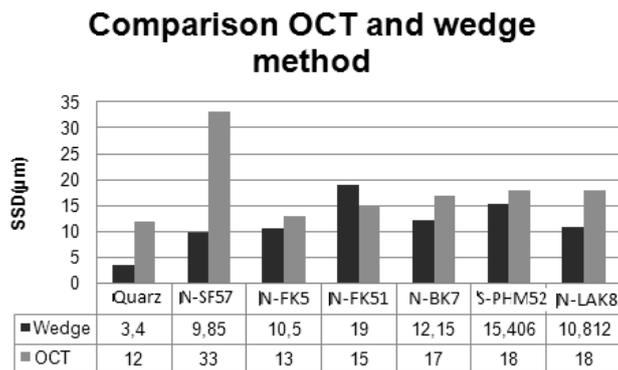


Abbildung 2.4.4: Vergleich der Ergebnisse: OCT und Keilmethode (wedge) für unterschiedliche Glassorten.

Weiter wurde im zweiten Projektjahr ein mechanisches und mathematisches Konzept für einen neuen OCT Prototypen (FD-OCT) entwickelt und aufgebaut. Die Messprozessdauer soll sich damit im Vergleich zum ursprünglichen Prototypen (TD-OCT) auf 1% verringern. Aufgrund des umgebauten optischen Messkopfes wird der Justagevorgang vereinfacht. Ergebnisse hierzu sind im 3. Projektjahr zu erwarten. Nächste Schritte sind weitere Vergleichsmessungen mit Proben aus der Industrie und die Inbetriebnahme des neuen OCT Prototypen (FD-OCT).

3. Publikationen / Vorträge im Rahmen des ZAFH – PHOTONⁿ

Publikationen

H. Schneckenburger, R. Börret, C. Braxmaier, R. Kessler, P.Kioschis, D. Kühlke, U. Mescheder, W. Schröder, C. Nachtigall, „Dem Energiestoffwechsel von Tumorzellen und Bioreagenzien auf der Spur“, *BioPhotonik 2* (2009) 26–28.

H. Schneckenburger, P. Weber, T. Bruns, M. Wagner, „Advances in Fluorescence Spectroscopy and Imaging“, In: *Handbook of Photonics for Medical Science* (V.V. Tuchin, ed.), Taylor and Francis Publ., Colchester – Philadelphia – Melbourne, 2009, 75–95.

T. Bruns, V. Richter, M. Wagner, W.S.L. Strauss, H. Schneckenburger, „Tomographic screening of 3-dimensional cell cultures“, In: *Advanced Microscopy Techniques* P.J. Campagnola, E. Stelzer, G. v. Bally, eds.), Proc. SPIE, Vol. 7367, Bellingham (USA), 2009, 73671S.

W. Kessler, D. Oelkrug, R.W. Kessler, „Using scattering and absorption spectra as MCR-hard model constraints for diffuse reflectance measurements of tablets“, *Anal. Chim. Acta* 642 (2009) 127 – 134.

K. Rebner, R.W. Kessler, „Spectral imaging: A new approach for label-free characterization in cytogenetics“, Proc. Eur. Conf. on Hyperspectral Imaging (EASIM 2009), Gembloux (Belgien), 03.-04.03. 2009, pp. 5-1ff.

R.W. Kessler, „Strukturen im Nanometerbereich ohne Marker erfassen“, *Medizintechnik 03* (2009) 65.

F. Voit, J. Schäfer, A. Kienle, „Light scattering by multiple spheres: comparison between Maxwell theory and radiative-transfer-theory calculations“, *Opt. Lett.* 34 (2009) 2593-2595.

M. Schmitz, R. Michels, A. Kienle, "Darkfield scattering spectroscopic microscopy evaluation using polystyrene beads", In: *Clinical and Biomedical Spectroscopy* (I. Georgakoudi, J. Popp; K. Svanberg, eds.), Proc. SPIE, Vol. 7368, Bellingham (USA), 2009, 73681W.

F. Voit, J. Schäfer, A. Kienle, "Light Scattering by Multiple Spheres: Solutions of Maxwell Theory Compared to Radiative Transfer Theory", In: *Novel Optical Instrumentation for Biomedical Applications IV* (C.D. Depeursinge, I.A. Vitkin, eds.), Proc. SPIE, Vol. 7371, Bellingham (USA), 2009, 73711G.

T. Schuldt, M. Gohlke, R. Spannagel, S. Ressel, D. Weise, U. Johann, C. Braxmaier, "Sub-nanometer heterodyne interferometry and its application in dilatometry and industrial metrology", *Int. J. Optomechatronics* 3 (2009) 187-200.

T. Schuldt, M. Gohlke, D. Weise, A. Peters, U. Johann, C. Braxmaier, "High-resolution dimensional metrology for industrial applications", Proc. ISMTII 2009, Vol. 1, 2009.

S. Ressel, M. Gohlke, T. Schuldt, D. Weise, U. Johann, C. Braxmaier, „Integration Technologies for Optical Systems“, FORUM – Das Forschungsmagazin der Hochschule Konstanz, 2009/2010, ISSN 1619-9812.

A. Kovacs, P. Jonnalagadda, X. Y. Meng and U. Mescheder, Characterization of Porous Based Optical Sensor System for Biosensor Applications, Proc. 8th IEEE Conference on Sensors, Christchurch, New Zealand, 2009, pp. 21- 26.

A. Kovacs, P. Jonnalagadda, X. Meng und U. Mescheder, Entwicklung und Charakterisierung von photonischen Multischichten aus porösem Silizium für biosensorische Anwendungen, Tagungsber. Mikrosystemtechnik, 2009, S. 333-336.

M. Sergeeva, K. Khrennikov, R. Börret, T. Hellmuth, "4D Metrology of grinded surface based on short coherent interferometry", DGaO-Proceedings 2009 – <http://www.dgao-proceedings.de> – ISSN: 1614-8436.

M. Sergeeva, K. Khrennikov, T. Hellmuth, R. Börret, " Sub Surface Damage Measurements based on short coherent interferometry", *J. Europ. Opt. Soc. Rap. Public.* 5 (2010) 10003, ISSN 1990-2573.

A. Kelm, M. Hänle, R. Boerret, S. Sinzinger, "Simulation and Analysis of the Polishing process for Aspheres", In: *Optical Manufacturing and Testing VIII*, Proc. SPIE, Vol. 7426, 2009.

Vorträge und Poster

T. Bruns, V. Richter, M. Wagner, W.S.L. Strauss, H. Schneckenburger: "Tomographic screening of 3-dimensional cell cultures", European Conferences on Biomedical Optics, München, 14.-18.06.2009.

H. Schneckenburger, P. Weber, T. Bruns, M. Wagner: "Multi-dimensional laser microscopy in biomedical sciences", *Int. Conf. on Advanced Laser Technology ALT'09, Antalya (Turkey)* 26.09.-01-10.2009.

H. Schneckenburger, P. Weber, T. Bruns, M. Wagner: "Light dose limited high resolution microscopy of living cells", DFG Workshop on New Developments in Super-Resolution and Single Molecule Microscopy, New York, 09.-10.11.2009.

H. Schneckenburger, P. Weber, T. Bruns, S. Schickinger, M. Wagner: "Multi-dimensional fluorescence microscopy in biomedicine", Light in Life Sciences Conference, Melbourne, 24.-27.11.2009.

R.W. Kessler, „Spektrales Imaging im Nano-, Mikro- und Makromaßstab“, 13. Arbeitstreffen der AG Optik in der Medizin und Biotechnologie, Photonics BW, Reutlingen, 16.11.2009.

K. Rebner, "Spectral imaging: A new approach for label-free characterization in cytogenetics", Eur. Conf. on Hyperspectral Imaging (EASIM 2009), Gembloux (Belgien), 03.-04.03. 2009, Belgien.

R.W. Kessler, "Darkfield imaging and microspectroscopy of chromosomes: a novel concept for fast and label free karyotyping", 23rd Int. Forum on Process Analytical Technology IFPAC, Baltimore (USA), 25. – 28.01. 2009.

M. Schmitz, R. Michels, A. Kienle, "Darkfield scattering spectroscopic microscopy evaluation using polystyrene beads", Forschungstag "Hochtechnologien" der Landesstiftung Baden-Württemberg, Stuttgart, 07.07.2009.

C. Braxmaier, T. Schuldt, "Picometer and Nanoradian Interferometry for the LISA Gravitational Reference Sensor and its Application to Technology Verification", CLEO Europe / IQEC 2009, München, 14-19.06. 2009.

C. Braxmaier, T. Schuldt, "High-resolution dimensional metrology for industrial applications", ISMTII 2009, St. Petersburg (Russia) 29.06. – 02.07.2009.

A. Kovacs, P. Jonnalagadda, X. Y. Meng, U. Mescheder, "Characterization of Porous Based Optical Sensor System for Biosensor Applications", Proc. 8th IEEE Conference on Sensors, Christchurch (New Zealand), 25-28.10. 2009.

A. Kovacs, P. Jonnalagadda, X. Meng, U. Mescheder, „Entwicklung und Charakterisierung von photonischen Multischichten aus porösem Silizium für biosensorische Anwendungen“, Mikrosystemtechnik-Kongress 2009, Berlin, 12.-14.10. 2009.

U. Mescheder, A. Kovacs, A. Ivanov, V. Lubimov, A. Abitov, „Novel structuring process for micro- and nanotechnology“, Baden-Württemberg-Tage 2009, Moskau, 25.-28.05. 2009.

A. Kelm, M. Hänle, R. Boerret, S. Sinzinger, "Simulation and Analysis of the Polishing process for Aspheres", World of Photonics, München, 14.-18.06.2009.

Abschlussarbeiten

T. Merz: „Charakterisierung und Anwendung eines Raster-Nahfeldmikroskops mit Festkörper-Immersionlinsenprobe“, Dissertation, Universität Ulm in Kooperation mit der Hochschule Reutlingen (2009).

V. Richter: "Tiefenauflösendes Screening von 3D-Zellkulturen", Diplomarbeit, Hochschule Aalen (2009).

F. Voit, „Verifizierung und Anwendung eines Computercodes zur Lichtausbreitung in biologischem Gewebe basierend auf analytischen Lösungen der Maxwell-Gleichungen“, Master Thesis, Technische Universität Kaiserslautern (2009).

R. Spannagel, „Integration und Test der Aktorik für ein Laserinterferometer zur hochauflösenden optischen Profilometrie“, Bachelor Thesis, Hochschule Konstanz(2009).

M. Schwierz, „Modularer Aufbau und Charakterisierung des hochauflösenden und optischen Sub-Nanometer-Profilometer (kurz: NANO-PRO) genannten Messsystems mit linearer Aktorik“, Diplomarbeit, Hochschule HTWG Konstanz (2009).

S. Ressel, „Integration Technologies for Optical Components and Design of a High Precision Interferometer“, Bachelor Thesis, Hochschule Konstanz (2009).

Sonstiges

H. Schneckenburger et al.: Organisation des 1. Aalener Photoniktages am 23.04.2009 mit Vorträgen aller Arbeitsgruppen sowie geladenen Gästen.

4. Abschlussbemerkungen

Die Arbeiten im ZAFH-PHOTONⁿ erfolgten in Übereinstimmung mit dem Projektantrag und im vorgegebenen zeitlichen Rahmen. Kleinere Verzögerungen, die im 1. Projektjahr durch die verspätete Einstellung von Personal entstanden sind, konnten im 2. Jahr wieder aufgefangen werden.

Das Erarbeiten der einzelnen Teilprojekte in unterschiedlich zusammen gesetzten Kleingruppen mit internen und externen (universitären sowie industriellen) Partner hat sich bisher ebenso bewährt wie die Nutzung der an den einzelnen Partnerhochschulen etablierten unterschiedlichen Infrastruktur.

Neben den im Rahmen der Teilprojekte vorgesehenen Besprechungen soll der 2. Aalener Photoniktag am 15.04.2010 dazu genutzt werden, um die einzelnen Vorhaben bis zu deren Abschluss sinnvoll zu planen, weitere Partner einzubeziehen und Anwendungsmöglichkeiten bzw. Anschlussprojekte konkret vorzusehen.

Aalen, den 20.01.2010

Prof. Dr. H. Schneckenburger
Sprecher des ZAFH - PHOTONⁿ