

Industrielle Bildhafte Erfassung der Fluoreszenzabklingzeit (FLIM)

Industrial FLIM

Autor: Gerhard Holst, Senior Imaging Product & Application Scientist, Excelitas PCO GmbH

LASER PHOTONICS
Halle B1 | Stand 110

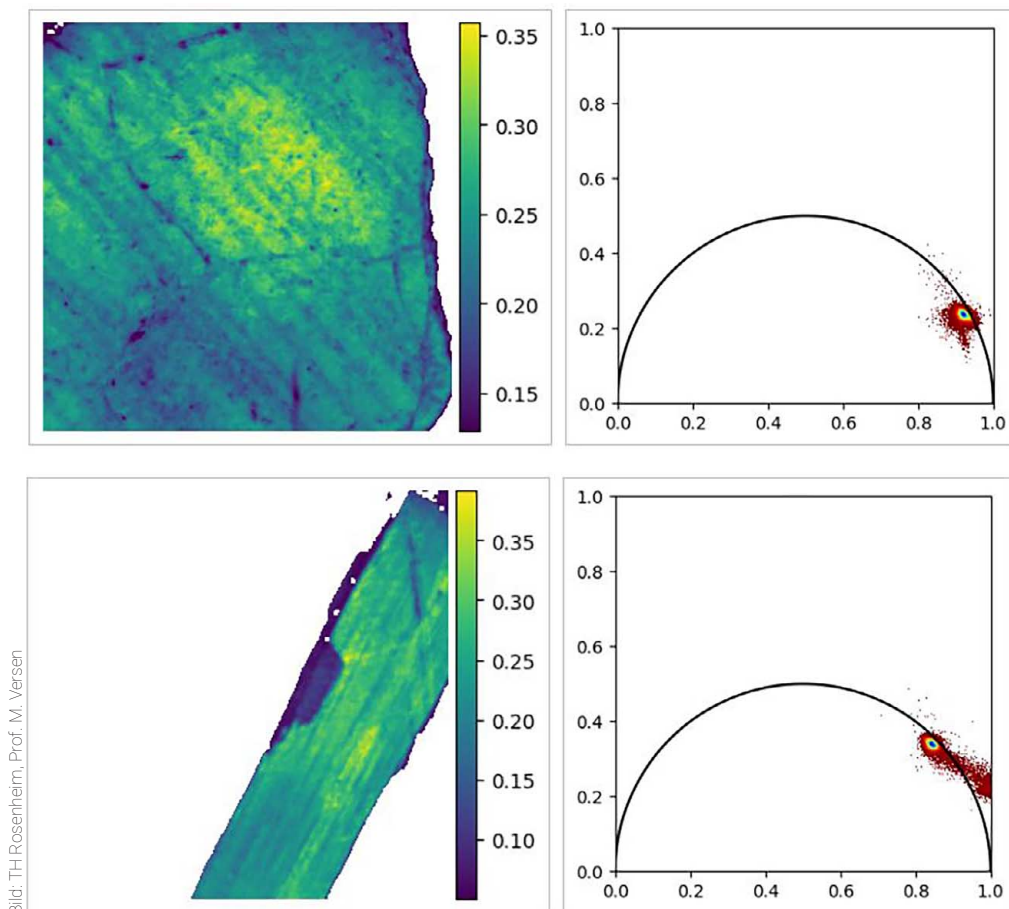


Bild 1 | Messresultate von Holzproben, die mit der FD-FLIM Kamera PCO.FLIM im Demonstrator Messaufbau gemessen wurden. Es ist jeweils die normierte Fluoreszenz der Holzprobe in Falschfarbenkodierung gezeigt und der zugehörige Phasor Plot, der die verschiedenen Fluoreszenzabklingzeiten zeigt, die vom Klassifikator beurteilt werden. Der Signalbereich der Fluoreszenz von ca. 0.1–0.35 zeigt an, dass die Signale ausreichend groß waren.

Die Methode der bildhaften Erfassung von Fluoreszenzabklingzeiten (Fluorescence Lifetime Imaging, FLIM) wird meist im Life-Science-Bereich eingesetzt. Aber ist FLIM wirklich nur auf diesen Bereich beschränkt oder gibt es auch Einsatzbereiche für den industriellen oder prozesstechnischen Einsatz?

Lifetime, Lebensdauer oder Abklingzeit sind Begriffe, die mit dem Phänomen der Fluoreszenz zu tun haben. Dieser Vorgang wird heutzutage in vielen Anwendungsbereichen der Lichtmikroskopie genutzt, um Zellen oder Zellbestandteile zu markieren, um Stoffwechselprozesse zu visualisieren, um Reaktionsprodukte zu differenzieren oder um mithilfe der Änderung der Lumineszenz sekundäre Parameter wie z.B. den Sauerstoffpar-

tialdruck zu messen. Hierbei wird die Bezeichnung Fluoreszenz häufig synonym für das Phänomen Photolumineszenz verwendet, die eigentlich sowohl die Fluoreszenz als auch die Phosphoreszenz umfasst, die beide auf der Absorption von energiereichem Licht und der Emission von energieärmerem Licht beruhen. Aufgrund der spektralen Verschiebung kann man das Anregungslicht zumeist durch optische Filter von der deutlich schwächeren Emission trennen.

Bei der Fluoreszenz kann man sowohl die Intensität und die Polarisation des Lichts als Messparameter verwenden sowie die Verweildauer im angeregten Zustand, denn diese ist charakteristisch für das jeweilige Molekül. Die Verweildauer ist auch messbar, wenn das An-

regungslicht abgeschaltet wird, denn dann nimmt die Lumineszenz entsprechend der charakteristischen Abklingzeit des Moleküls ab. Diese Abklingzeit (Decay Time) oder Lebensdauer (Lifetime) ist also eine weiterer Parameter, der Fluoreszenz beschreibt und als zusätzliche Messgröße geeignet ist. Gerade im Bereich optisch chemischer Sensoren, die z.B. Sauerstoff, pH, Kohlendioxid, Temperatur usw. messen und jeweils für die Messung das

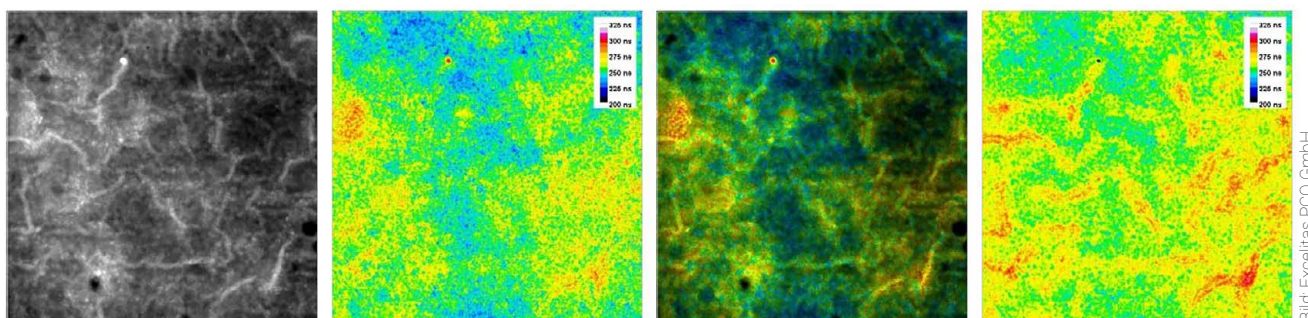


Bild 2 | Messresultate einer Perowskit-Silizium Probe (v.l.n.r.): Fluoreszenzintensität; Falschfarbendarstellung der Fluoreszenzabklingzeitverteilung in [ns]; dieselbe Abklingzeitverteilung mit der Fluoreszenzintensität als Helligkeitsgewichtung; Falschfarbendarstellung der Fluoreszenzabklingzeitverteilung in [ns] abgeleitet vom Modulationsindex.

Messsystem aus Detektor/Kamera und chemischem Sensor kalibrieren müssen, ist eine Messgröße, die nicht von der Anzahl der Farbstoffmoleküle oder der Menge des Anregungslichts beeinflusst wird, von Vorteil.

Bildhafte Erfassung der Fluoreszenzabklingzeiten

Neben den Messverfahren, die Einzeldetektoren verwenden und die Proben abscannen, um die örtliche 2D-Verteilung der Fluoreszenzabklingzeiten zu ermitteln, gibt es seit ca. zehn Jahren auch Kamerasysteme, die diese Verteilung mithilfe eines Bildsensors messen. Die Systeme reichen von Bildverstärker-Kameras (LinCam – Photon-score), über modulierbare CMOS Bildsensor Kameras (PCO.FLIM X – Excelitas PCO) bis hin zu neueren SPAD-Array basierenden Kamerasystemen (512² – PI Imaging, vTau – Lambert Instruments, FLIMera – Horiba oder Hermes – MPD). Die Methode der bildhaften Erfassung von Fluoreszenzabklingzeiten wird üblicherweise Fluorescence Lifetime Imaging (FLIM) genannt. In der allgemeinen Wahrnehmung wird FLIM hauptsächlich im Life-Science-Bereich eingesetzt, aber ist FLIM wirklich nur auf diesen Bereich beschränkt?

Altholz und Solarzellen

Die TH Rosenheim (Prof. Martin Versen) und die TH Aachen (Prof. Stephan Kallweit) haben zusammen mit

weiteren Forschungs- und Industriepartnern erfolgreich das Forschungsprojekt FrIDAH (Fluoreszenz-ID von Altholz) beim BMBF durchgeführt. Hierbei wurde für eine nachhaltigere Nutzung von Altholz untersucht ob eine Roboter gestützte FLIM-Untersuchung von Altholzbruchstücken es ermöglicht, größere Mengen davon dem Verarbeitungsprozess wieder zuzuführen anstatt sie zu verbrennen. Dabei entnimmt ein Kamera-basierter Roboterarm Holzstücke und platziert sie auf einem Messtisch auf dem die Fluoreszenzabklingzeitmessung erfolgt. Die Bilder werden in Echtzeit durch ein trainiertes Klassifikations-Netzwerk ausgewertet, und der Roboterarm platziert dann die Probe in eine entsprechende Ergebnisbox. In Bild 1 sind die Ergebnisbilder zweier Holzproben dargestellt (falschfarbencodierte, normierte Fluoreszenz (I.); Ergebnis der Fluoreszenzabklingzeitmessung in einem Phasor Plot (r.)). Das Phasorplot Ergebnis wird mithilfe eines Klassifikators ausgewertet.

Ein weiterer Einsatzbereich ist die Qualitätskontrolle von Solarzellen. Das Mineral Perowskit wird zusammen mit Silizium verarbeitet, um Solarzellen zu entwickeln, die es erlauben auch langwelligere Lichtstrahlung zur Stromerzeugung zu nutzen, um so den Wirkungsgrad von Solarzellen zu verbessern. Hierbei zeigt Perowskit eine Fluoreszenz deren Abklingzeit u.a. vom Mischungsverhältnis zwi-

schen Perowskit und Silizium beeinflusst ist. In Bild 2 sind Resultate einer solchen Halbleiterprobe gezeigt bei denen die Abklingzeiten im Bereich von 100ns und mehr liegen.

Kunststoffe und Umweltanalytik

Andere Untersuchungen haben gezeigt, dass die meisten Kunststoffe bei geeigneter Anregung fluoreszieren. Dies ermöglicht die Erkennung und Differenzierung von Mikroplastik-Partikeln in verschiedenen Umgebungen. Die Messergebnisse von isolierten Kunststoffproben zeigen, dass FLIM-Ergebnisse geeignet sind, um Kunststoffe zu unterscheiden. Weitere Anwendungsgebiete sind Umweltanalytik oder die Qualitätskontrolle von Fisch, um herauszufinden ob das jeweilige Fisch-Muskelfleisch mit Mikroplastik belastet ist. Hier ist die FLIM-Messung eine Ergänzung zu den hyper- bzw. multispektralen Messungen. Dies alles sind nur ein paar Beispiele für mögliche industrielle Anwendungen von FLIM, die sich bis zu Sicherheitstechnik, mit speziellen Farbstoffmarkierungen zur Überwachung von Sauerstoff und anderen Parametern in der Prozesstechnik und Verpackungsindustrie fortsetzen lassen. Von daher gibt es für Fluoreszenzabklingzeiten im Bild durchaus eine Vielzahl möglicher industrieller Anwendungen. ■

www.excelitas.com