



(10) **DE 10 2011 055 272 B4** 2021.08.12

(12)

Patentschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2011 055 272.3**
(22) Anmeldetag: **11.11.2011**
(43) Offenlegungstag: **16.05.2013**
(45) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: **12.08.2021**

(51) Int Cl.: **G01N 21/63 (2006.01)**

Innerhalb von neun Monaten nach Veröffentlichung der Patenterteilung kann nach § 59 Patentgesetz gegen das Patent Einspruch erhoben werden. Der Einspruch ist schriftlich zu erklären und zu begründen. Innerhalb der Einspruchsfrist ist eine Einspruchsgebühr in Höhe von 200 Euro zu entrichten (§ 6 Patentkostengesetz in Verbindung mit der Anlage zu § 2 Abs. 1 Patentkostengesetz).

(73) Patentinhaber:
**PreSens Precision Sensing GmbH, 93053
Regensburg, DE**

(74) Vertreter:
**Reichert & Lindner Partnerschaft Patentanwälte,
93049 Regensburg, DE**

(72) Erfinder:
Liebsch, Gregor, 93083 Obertraubling, DE

DE	196 34 873	A1
DE	10 2009 013 147	A1
GB	2 113 837	A
US	5 315 993	A
EP	0 927 366	B1
EP	0 442 060	A2

Liebsch, G.; Klimant, I.; Frank, B.; Holst, G.;
Wolfbeis, O. S.: Luminescence Lifetime Imaging
of Oxygen, pH, and Carbon Dioxide Distribution
Using Optical Sensors. In: Appl. Spectrosc., Vol.
54, No. 4, 2000, S. 548 - 559

(56) Ermittelter Stand der Technik:

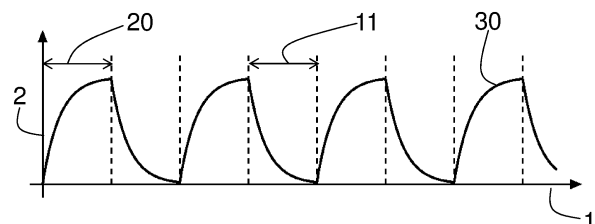
DE	31 10 943	C2
DE	37 32 217	B4
DE	195 11 869	B4
DE	37 32 216	A1
DE	101 52 994	A1

Liebsch, G.; Klimant, I.; Krause, C.; Wolfbeis,
O.S.: Fluorescent Imaging of pH with Optical
Sensors Using Time Domain Dual Lifetime
Referencing. In: Analyt. Chem., Vol 73, No. 17,
Sep 2001, S. 4354 - 4363

(54) Bezeichnung: **Verfahren zur Bestimmung eines relaxationszeitabhängigen Parameters zu einem System**

(57) Hauptanspruch: Verfahren zur Bestimmung wenigstens eines Parameters zu einem System (105), wobei das System (105) mindestens eine Relaxationszeit aufweist, und der wenigstens eine Parameter von der mindestens einen Relaxationszeit abhängt, gekennzeichnet durch die folgenden Schritte:

- Anregen des Systems (105) durch eine erste Folge (21) von elektromagnetischen Anregungspulsen (5) mit einem ersten definierten zeitlichen Pulsabstand (11) zwischen aufeinanderfolgenden Anregungspulsen (5);
- Ermitteln eines ersten Antwort-Signals durch kontinuierliche Zeitintegration, also ununterbrochene Zeitintegration während der Folge von Anregungspulsen (5), eines Zeitverlaufs einer ersten Antwort (31) des Systems (105) auf die erste Folge (21) von Anregungspulsen (5);
- Ermitteln zumindest eines zweiten Antwort-Signals durch kontinuierliche Zeitintegration eines Zeitverlaufs zumindest einer zweiten Antwort (32) des Systems (105); und
- Bestimmen des wenigstens einen Parameters unter Einbeziehung des ersten Antwort-Signals und des zumindest einen zweiten Antwort-Signals.



Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Bestimmung wenigstens eines Parameters zu einem System, wobei das System mindestens eine Relaxationszeit aufweist und der wenigstens eine Parameter von zumindest einer Relaxationszeit des Systems abhängt. Insbesondere betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Bestimmung eines solchen Parameters zu einem durch elektromagnetische Strahlung angeregten System.

[0002] Die deutsche Offenlegungsschrift DE 196 34 873 A1 beschreibt eine Vorrichtung und ein Verfahren zur Unterscheidung von mindestens zwei unterschiedlich fluoreszierenden Arten von Molekülgruppen, die an Analytmoleküle gebunden sind, durch zeitaufgelöste Fluoreszenzmessung. Dabei wird eine Lichtquelle zur Beleuchtung eines Probevolumens für ein Zeitintervall T_1 aktiviert, anschließend nach einem Zeitintervall T_2 ein Detektor für eine Zeit T_3 aktiviert. Aus dem Zeitverlauf der im Zeitintervall T_3 aufgenommenen Detektorsignale wird ermittelt, welche der mindestens zwei Molekülgruppen im Probevolumen enthalten ist.

[0003] Das US-Patent US 5 315 993 A offenbart eine Sonde und eine Vorrichtung zur Überwachung einer Vielzahl von Parametern in einer Umgebung unter Ausnutzung einer Lumineszenz-Erscheinung. Ein Lumineszenz-Mittel wird hierzu mit einer Vielzahl von Anregungslichtkomponenten, deren Amplituden mit bestimmten Modulationsfrequenzen zeitmoduliert werden, bestrahlt. Die Lumineszenz-Antwort umfasst eine Vielzahl von Lumineszenzlichtkomponenten, welche den Modulationen des Anregungslichts entsprechende Modulationen aufweisen. Über eine Fouriertransformation ergeben sich spektrale Daten, welche in Modellgleichungen eingehen, aus denen dann unter anderem die Lebensdauer einzelner Lumineszenzlichtkomponenten bestimmt werden kann.

[0004] Die deutsche Offenlegungsschrift DE 101 52 994 A1 beschreibt ein Verfahren zur gleichzeitigen optischen Bestimmung von pH-Wert und Gelöstsauerstoff einer überwiegend wässrigen Probe. Dabei wird eine einzige Sensormatrix verwendet, die mindestens zwei Indikatorfarbstoffe enthält, die für die Messgrößen pH-Wert und Gelöstsauerstoff zumindest ein differenzierbares optisches Signal liefern. In einer offenbarten Ausprägung des Verfahrens werden pH-Wert und Gelöstsauerstoff durch die Messung der Abklingzeit einer Fluoreszenzantwort der Indikatoren nach pulsformiger Anregung bestimmt.

[0005] Die europäische Patentanmeldung EP 0 442 060 A2 betrifft eine ratiometrische Lumineszenz-Messung zur Bestimmung einer Veränderlichen, beispielsweise der Konzentration eines Stoffes.

Hierzu werden ein erstes lumineszierendes Material mit einem ersten Absorptionsband und ein zweites lumineszierendes Material mit einem zweiten Absorptionsband verwendet, das erste und das zweite Absorptionsband überlappen nicht vollständig. In einander abwechselnden ersten und zweiten Beleuchtungsintervallen werden die lumineszierenden Materialien mit einem ersten Anregungslicht innerhalb des ersten, aber außerhalb des zweiten Absorptionsbandes, bzw. mit einem zweiten Anregungslicht innerhalb des zweiten, aber außerhalb des ersten Absorptionsbandes beleuchtet. Die entsprechend während erster bzw. zweiter Antwortintervalle detektierten Lumineszenzantworten des ersten bzw. zweiten lumineszierenden Materials werden ausgewertet und zur Bestimmung der Veränderlichen herangezogen.

[0006] Der Artikel „Luminescence Lifetime Imaging of Oxygen, pH, and Carbon Dioxide Distribution Using Optical Sensors“ von G. Liebsch, I. Klimant, B. Frank, G. Holst und O.S. Wolfbeis in Applied Spectroscopy 54, Nummer 4 (2000), Seite 548 bis 559, beschreibt die Bestimmung diverser Veränderlicher für Proben in den Kavitäten einer Mikrotiterplatte durch die Abhängigkeit der Fluoreszenzlebensdauer von als Sensor verwendeten Materialien von der jeweiligen Veränderlichen. Die Fluoreszenzlebensdauer wird wie folgt ermittelt: die Fluoreszenz wird durch einen Lichtpuls angeregt, nach dessen Ende wird während zwei zeitlich beabstandeten Intervallen bevorzugt gleicher Zeitdauer jeweils die Fluoreszenzantwort der Sensoren aufintegriert. Aus dem Quotienten der so erhaltenen Integralwerte wird die Fluoreszenzlebensdauer bestimmt. Gegenüber rein intensitätsbasierten Methoden hat diese auf einem Quotienten von Messgrößen beruhende, ratiometrische Methode den Vorteil, von den lokalen Absolutwerten der Anregungsenergie praktisch unabhängig zu sein.

[0007] Der Artikel „Fluorescent Imaging of pH with Optical Sensors Using Time Domain Dual Lifetime Referencing“ von G. Liebsch, I. Klimant, C. Krause und O.S. Wolfbeis in Analytical Chemistry Vol. 73, No. 17, September 1, 2001, Seiten 4354 bis 4363 betrifft die Bestimmung der pH-Verteilung in Mikrotiterplatten und auf einer Oberfläche. Hierzu wird eine Kombination zweier lumineszierender Materialien, welche zueinander in einem festen Mengenverhältnis stehen, verwendet: ein fluoreszierendes Material, dessen Fluoreszenzabklingdauer vom pH-Wert abhängt, und ein phosphoreszierendes Material, dessen Phosphoreszenzabklingdauer pH-unabhängig ist. Die lumineszierenden Materialien werden durch Beleuchtung angeregt, und während der Anregungsdauer wird innerhalb eines ersten Intervalls die kombinierte Fluoreszenz- und Phosphoreszenzantwort der Materialien aufintegriert. Unmittelbar nach Ende der Anregung wird die Aufzeichnung der Lumineszenzantwort der Materialien für eine Zeitspanne unterbrochen, welche lang genug ist, die Fluoreszenz prak-

tisch vollständig abklingen zu lassen. Anschließend wird während eines zweiten Zeitintervalls, das bevorzugt ebenso lang ist, wie das erste Intervall, die Phosphoreszenzantwort des phosphoreszierenden Materials aufintegriert. Aus dem Quotienten der beiden erhaltenen Integralwerte kann letztlich auf den pH-Wert geschlossen werden.

[0008] Lumineszenzbasierte Messverfahren sind für den Nachweis und die quantitative Bestimmung einer Vielzahl von Analyten bekannt. Beruht das Verfahren auf der Intensität der Lumineszenzerscheinung, so ist eine reproduzierbare Beleuchtung der untersuchten Probe, bei flächiger Beleuchtung einer ausgedehnten Probe auch die räumliche Homogenität der Beleuchtungsstärke von entscheidender Bedeutung. Andere Untersuchungsmethoden beruhen auf der Abklingdauer der Lumineszenzerscheinung und nutzen aus, dass diese Abklingdauer bei etlichen lumineszenten Stoffen von bestimmten Veränderlichen der Umgebung abhängt; Beispiele für solche Veränderliche sind pH-Wert, Konzentration eines Stoffes, oder Temperatur. Bei derartigen Untersuchungsmethoden, für welche sich im oben genannten Stand der Technik Beispiele finden, wird die Lumineszenzantwort eines als Sensormaterial verwendeten Stoffes über definierte Zeitintervalle aufintegriert, und die so erhaltenen Integralwerte ins Verhältnis gesetzt. Durch diese Quotientenbildung, weswegen man die Methoden auch als ratiometrisch klassifiziert, wird die Abhängigkeit von Schwankungen der Beleuchtungsstärke deutlich reduziert. Bei diesen Methoden wird nicht zwangsläufig explizit die Abklingdauer oder Relaxationszeit der Lumineszenzerscheinung bestimmt, sondern häufig stattdessen ein Parameter, der von der Relaxationszeit abhängt, beispielsweise der Quotient der genannten Integralwerte. Ist eine jeweils zu bestimmende Veränderliche gegen einen entsprechenden jeweiligen Parameter kalibriert, kann der Wert der Veränderlichen aus der Lumineszenzantwort bestimmt werden. Eine Schwierigkeit bei diesen Methoden besteht jedoch darin, die definierten Zeitintervalle für die Integration der Lumineszenzantwort in der Messanordnung hinreichend präzise zu realisieren. Hierzu ist ein gewisser technischer Aufwand erforderlich, welcher mit entsprechenden Kosten verbunden ist. Ferner ist die verwendete Technik sehr empfindlich, was die Verwendung insbesondere als tragbare Geräte für den Feldeinsatz problematisch macht, insbesondere wiederum unter Kostengesichtspunkten.

[0009] Aufgabe der Erfindung ist es daher, ein Verfahren anzugeben, mit dem sich eine Bestimmung wenigstens eines Parameters zu einem System, wobei der Parameter von mindestens einer Relaxationszeit des Systems abhängt, in einfacher und kostengünstiger Weise durchführen lässt.

[0010] Die Aufgabe wird gelöst durch ein Verfahren gemäß Anspruch 1.

[0011] In dem erfindungsgemäßen Verfahren wird das System durch eine erste Folge von elektromagnetischen Anregungspulsen angeregt. Aufeinanderfolgende Anregungspulse der ersten Pulsfolge weisen dabei einen ersten definierten zeitlichen Pulsabstand zueinander auf. Auf die erste Folge von Anregungspulsen reagiert das System mit einer ersten Antwort, deren Zeitverlauf kontinuierlich über die Zeit integriert wird. Es ist für den Fachmann hierbei selbstverständlich, dass die Antwort des Systems mit jeweils geeigneten Detektoren, beispielsweise einem CCD-Chip, detektiert wird, was mit einer Signalumwandlung, beispielsweise von optischen in elektrische Signale, einhergehen kann. Dem Fachmann sind ferner entsprechende Integrationsvorrichtungen geläufig. Die Integration der ersten Antwort des Systems erfolgt kontinuierlich, also ununterbrochen, während der ersten Folge von Anregungspulsen und ist daher insbesondere nicht auf bestimmte definierte Zeitintervalle innerhalb einer Pulsdauer oder einer Abklingphase nach einem Anregungspuls beschränkt. Daher entfällt der technische Aufwand, diese definierten Zeitintervalle messtechnisch zu realisieren. Für das erfindungsgemäße Verfahren können daher insbesondere auch Detektoren eingesetzt werden, die im Vergleich zu den Verfahren aus dem Stand der Technik, bei denen die Integration über definierte Zeitintervalle innerhalb der Dauer eines Pulses und / oder der Abklingphase nach einem Anregungspuls erfolgt, relativ langsam reagieren und eine relativ geringe Sensitivität aufweisen. Dennoch sind mit dem Verfahren brauchbare Ergebnisse erzielbar. So ergibt sich die Möglichkeit zu beträchtlicher Kosteneinsparung. Die kontinuierliche Integration über die Zeit des Zeitverlaufs der ersten Antwort des Systems ergibt ein erstes Antwort-Signal.

[0012] In einem anderen Verfahrensschritt wird ein zweites Antwort-Signal durch kontinuierliche Zeitintegration eines Zeitverlaufs zumindest einer zweiten Antwort des Systems ermittelt. Unter Einbeziehung des ersten Antwort-Signals und des zumindest einen zweiten Antwort-Signals wird schließlich der wenigstens eine Parameter zu dem System bestimmt. Bestimmung umfasst hier sowohl die Ermittlung des wenigstens einen Parameters bis auf fach- und methodenspezifische Fehlergrenzen als auch lediglich eine Eingrenzung des wenigstens einen Parameters auf einen bestimmten Bereich. Dieser bestimmte Bereich kann sowohl durch eine Obergrenze und eine Untergrenze, als auch nur durch entweder eine Obergrenze oder eine Untergrenze gekennzeichnet sein. In bevorzugten Ausführungsformen involviert die Ermittlung des wenigstens einen Parameters die Bildung eines Quotienten aus dem ersten Antwort-Signal und mindestens einem zweiten Antwort-Signal, so dass das Verfahren ein ratiometrisches ist, mit dem bereits

angesprochenen Vorteil der Reduktion der Abhängigkeit von Schwankungen der Beleuchtungsstärke.

[0013] Es sei an dieser Stelle noch ausdrücklich betont, dass die Kennzeichnung einer Antwort des Systems als erste Antwort oder als zweite Antwort nichts über die Zeitordnung der genannten Antworten aussagt, gleiches gilt für das erste Antwort-Signal und das zweite Antwort-Signal, und ebenso für die erste Pulsfolge und die im Folgenden noch einzuführenden zweiten Pulsfolgen. In bevorzugten Ausführungsformen sind die Antworten des Systems Lumineszenzerscheinungen. Lumineszenz umfasst mindestens Fluoreszenz und Phosphoreszenz.

[0014] Generell kann es sich bei dem wenigstens einen Parameter, welcher von zumindest einer Relaxationszeit abhängt, beispielsweise um die zumindest eine Relaxationszeit selbst handeln. Es ist aber auch denkbar, dass beispielsweise ein Quotient aus zwei Antwort-Signalen als ein zu bestimmender Parameter verwendet wird; auch eine Vielzahl von Quotienten aus unterschiedlichen Antwort-Signalen kann bestimmt werden, wobei dann jeder Quotient einen zu bestimmenden Parameter darstellt. Selbstverständlich sind auch andere mathematische Operationen mit den ermittelten Antwort-Signalen zur Bestimmung eines oder mehrerer Parameter zu dem System denkbar.

[0015] In bestimmten Ausführungsformen des Verfahrens wird zumindest eine zweite Antwort des Systems dadurch erzeugt, dass das System mit einer zweiten Folge von elektromagnetischen Anregungspulsen angeregt wird. Aufeinanderfolgende Anregungspulse der zweiten Folge von Anregungspulsen weisen einen zweiten definierten zeitlichen Pulsabstand zueinander auf, welcher vom ersten definierten zeitlichen Pulsabstand verschieden ist. In einer Weiterbildung dieser Ausführungsform wird das System durch eine Vielzahl von zweiten Folgen von elektromagnetischen Anregungspulsen angeregt. Zu jeder verwendeten zweiten Folge von Anregungspulsen wird jeweils ein zweites Antwort-Signal ermittelt. Jede zweite Folge von Anregungspulsen weist jeweils einen zweiten definierten zeitlichen Pulsabstand auf, wobei zumindest zwei solche zweiten definierten zeitlichen Pulsabstände voneinander verschieden sind.

[0016] In einer bevorzugten Ausgestaltung des Verfahrens wird zumindest eine zweite Antwort des Systems dadurch erzeugt, dass das System mit einer zweiten Folge von elektromagnetischen Anregungspulsen angeregt wird. Aufeinanderfolgende Anregungspulse der zweiten Folge von Anregungspulsen weisen einen zweiten definierten zeitlichen Pulsabstand zwischen aufeinanderfolgenden Pulsen auf, welcher vom ersten definierten zeitlichen Pulsabstand verschieden ist. Diese Ausgestaltung zeichnet sich dadurch aus, dass zunächst ein Schwell-

wert für die Antworten des Systems festgelegt wird. Der erste definierte zeitliche Pulsabstand wird derart gewählt, dass die erste Antwort des Systems, welche nach einem Anregungspuls zunächst über dem Schwellwert liegt, im Zeitverlauf den Schwellwert innerhalb des gewählten ersten definierten zeitlichen Pulsabstandes unterschreitet. Der zweite definierte zeitliche Pulsabstand wird dagegen derart gewählt, dass eine zweite Antwort des Systems, welche nach einem Anregungspuls zunächst über dem Schwellwert liegt, im Zeitverlauf den Schwellwert innerhalb des gewählten zweiten definierten zeitlichen Pulsabstandes nicht unterschreitet. Besonders bevorzugt wird der Schwellwert für die Antworten des Systems so festgelegt, dass der Schwellwert im Wesentlichen dem spezifischen Rauschen einer zur Detektion der Systemantworten verwendeten Messanordnung entspricht, das heißt, dass eine Antwort des Systems, welche den Schwellwert unterschreitet, im Rahmen der Messgenauigkeit der Messanordnung mit Null verträglich ist. Daher kann man in diesem Falle sagen, dass ein System, dessen Antwort auf eine Anregung den Schwellwert schließlich unterschritten hat, für praktische Zwecke vollständig relaxiert ist.

[0017] In einer anderen vorteilhaften Ausgestaltung des Verfahrens wird das System durch eine Vielzahl von zweiten Folgen von elektromagnetischen Anregungspulsen angeregt. Zu jeder verwendeten zweiten Folge von Anregungspulsen wird jeweils ein zweites Antwort-Signal ermittelt. In dieser Ausgestaltung wird zunächst ein Schwellwert für die Antworten des Systems festgelegt. Der erste definierte zeitliche Pulsabstand wird derart gewählt, dass die erste Antwort des Systems den Schwellwert innerhalb des gewählten ersten definierten zeitlichen Pulsabstandes unterschreitet; für die Auswahl des Schwellwerts gelten dieselben Anmerkungen wie in dem vorstehend beschriebenen Ausführungsbeispiel. Die zweiten definierten zeitlichen Pulsabstände für die zur Anregung des Systems sukzessive verwendeten zweiten Folgen von Anregungspulsen ergeben sich durch schrittweise Reduktion des ersten definierten zeitlichen Pulsabstandes.

[0018] In manchen Ausführungsformen des Verfahrens ist zumindest eine zweite Antwort des Systems durch die Antwort des Systems auf eine kontinuierliche Anregung gegeben. Diese Antwort und das zugehörige, durch kontinuierliche Integration über die Zeit daraus erhaltene zweite Antwort-Signal stellen einen Referenzwert für das erste Antwort-Signal und etwaige weitere zweite Antwort-Signale dar. Man kann das zweite Antwort-Signal zur kontinuierlichen Anregung auch als Antwort-Signal für Pulsabstand Null interpretieren.

[0019] In Ausprägungen des Verfahrens ist zumindest eine zweite Antwort des Systems durch eine weitere Antwort des Systems auf die erste Folge

von Anregungspulsen gegeben. Dabei kann es sich beispielsweise um die Antwort eines lumineszierenden Stoffes auf die erste Folge von Anregungspulsen handeln, wobei, für eine jeweils gegebene Messanordnung, die Antwort dieses lumineszierenden Stoffes lediglich von der Beleuchtungsstärke abhängt, und es so gestattet, zeitliche und / oder räumliche Schwankungen der Beleuchtungsstärke zu erkennen und diese Schwankungen bei der Bestimmung des wenigstens einen Parameters zu berücksichtigen, etwa indem die Auswirkungen solcher Schwankungen aus anderen Antworten des Systems herausgerechnet werden.

[0020] Der Frequenzbereich der elektromagnetischen Strahlung, welche für die Anregungspulse verwendet wird, richtet sich nach den jeweiligen Messaufgaben, also danach, welcher Frequenzbereich zur Anregung der interessierenden Antwort des Systems erforderlich ist. Üblicherweise liegen die verwendeten Frequenzen in einem Bereich vom Infrarotlicht bis in den ultravioletten Spektralbereich.

[0021] In vorteilhaften Ausgestaltungen des Verfahrens umfasst das System ein Objekt und zumindest ein sensorisches Mittel zur Erfassung wenigstens einer Veränderlichen des Objekts. Dabei hängt jeweils zumindest eine Relaxationszeit des zumindest einen sensorischen Mittels, und somit also eine Relaxationszeit des Systems, von der wenigstens einen Veränderlichen des Objekts ab. Auf diese Weise kann mit diesen Ausgestaltungen des Verfahrens durch die Bestimmung des wenigstens einen Parameters zu dem System, der von der zumindest einen Relaxationszeit abhängt, der Wert der wenigstens einen Veränderlichen des Objekts bestimmt werden. Dabei kann eine vorausgehende Kalibrierung des wenigstens einen Parameters gegen die wenigstens eine Veränderliche erforderlich sein. Es ist nicht unbedingt notwendig, zur Bestimmung der wenigstens einen Veränderlichen des Objekts die zumindest eine Relaxationszeit explizit zu bestimmen. Bei einer zu bestimmenden Veränderlichen des Objekts kann es sich beispielsweise um eine Konzentration eines Stoffes, einen Druck, einen Partialdruck eines Gases, einen pH-Wert, oder eine Temperatur handeln. Ebenso kann jede weitere Veränderliche bestimmt werden, für welche geeignete sensorische Mittel, welche eine von der jeweils zu bestimmenden Veränderlichen abhängige Relaxationszeit aufweisen, zur Verfügung stehen. Dem Fachmann sind zahlreiche derartige sensorische Mittel bekannt, Beispiele dafür und für zu bestimmende Veränderliche finden sich im zitierten Stand der Technik.

[0022] Die Bestimmung einer Veränderlichen eines Objekts über eine Bestimmung eines relaxationszeit-abhängigen Parameters nach dem erfindungsgemäßen Verfahren ist vielfältig einsetzbar. So ist etwa die Untersuchung einer Probe oder einer Anordnung ei-

ner Vielzahl von Proben möglich; die eine Probe beziehungsweise die Vielzahl von Proben entspricht dabei dem Objekt. Jeder Probe wird bei einer solchen Untersuchung zumindest ein sensorisches Mittel zugeordnet, und für jede Probe werden jeweils ein erstes Antwort-Signal und jeweils zumindest ein zweites Antwort-Signal ermittelt. Eine spezifische Ausgestaltung hiervon findet sich bei einer Mikrotiterplatte, wobei in Kavitäten der Mikrotiterplatte jeweils eine Probe und zumindest ein sensorisches Mittel enthalten sind. Gerade bei solchen Anordnungen ist es vorteilhaft, das erste Antwortsignal und das zumindest eine zweite Antwortsignal jeweils simultan für eine Vielzahl von Proben zu ermitteln, indem jeweils eine Vielzahl von Proben simultan angeregt wird, und die entsprechenden Antworten des sensorischen Mittels simultan aufgezeichnet werden. Beispielsweise können bei einer Mikrotiterplatte oder einer ähnlichen, kompakten matrixartigen Anordnung von Proben eine Vielzahl von Proben dadurch angeregt werden, dass die Anregung durch flächenartige Beleuchtung der Anordnung erfolgt, so dass im Beleuchtungsfeld eine Vielzahl von Proben erfasst sind; insbesondere ist es möglich, die gesamte Anordnung, etwa die gesamte Mikrotiterplatte, zu beleuchten.

[0023] In anderen Ausführungsformen des Verfahrens ist das zumindest eine sensorische Mittel auf einer Oberfläche des Objekts angeordnet, um wenigstens eine Veränderliche auf der Oberfläche des Objekts orts aufgelöst zu erfassen. Hierzu kann das sensorische Mittel beispielsweise auf einer Trägerfolie angebracht sein, welche auf die Oberfläche des Objekts aufgebracht wird. Das erfindungsgemäße Verfahren wird dabei in einer orts aufgelösten Ausprägung durchgeführt. Die Antworten des Systems werden orts aufgelöst erfasst und kontinuierlich über die Zeit integriert, so dass sich orts aufgelöste Antwort-Signale ergeben, aus denen der wenigstens eine Parameter ebenso orts aufgelöst bestimmt wird. Aus dem wenigstens einen orts aufgelöst ermittelten Parameter ergibt sich eine Verteilung der zumindest einen Veränderlichen auf der Oberfläche des Objekts. Auch hierbei kann selbstverständlich eine vorhergehende Kalibrierung des wenigstens einen Parameters gegen die zumindest eine Veränderliche notwendig sein.

[0024] In bestimmten Ausgestaltungen des Verfahrens weist zumindest ein sensorisches Mittel zumindest eine inerte Relaxationszeit auf, das heißt, eine Relaxationszeit, welche von der wenigstens einen Veränderlichen des Objekts nicht abhängt. Ein Antwort-Signal, welches einer Antwort mit dieser Relaxationszeit entspricht, kann als Referenz für die Beleuchtungsstärke dienen. Dies ist besonders auch bei der vorstehend beschriebenen orts aufgelösten Ausbildung des Verfahrens vorteilhaft, da so Inhomogenitäten der Beleuchtungsstärke erkannt und bei der Bestimmung des wenigstens einen Parameters

aus den Antwort-Signalen berücksichtigt werden können. Für Ausführungsformen, in denen die Antworten des Systems durch Lumineszenzerscheinungen gegeben sind, ist es besonders vorteilhaft, wenn die Antwort des Systems, welche zu der inerten Relaxationszeit gehört, in einem Spektralbereich liegt, welcher verschieden ist von dem Spektralbereich, in welchem die Antworten des Systems liegen, deren Relaxationszeit von einer Veränderlichen des Systems abhängt.

[0025] In speziellen Ausführungsformen lassen sich bei Verwendung eines sensorischen Mittels mit zumindest einer inerten Relaxationszeit auch Inhomogenitäten innerhalb des sensorischen Mittels erkennen und bei der Auswertung ausgleichen. Wird beispielsweise ein sensorisches Mittel verwendet, dessen Antwort in einer Lumineszenzerscheinung besteht, so hängt die Intensität der Lumineszenz an einer bestimmten Stelle des sensorischen Mittels nicht nur von der Beleuchtungsstärke und etwaigen Veränderlichen eines Objekts ab, sondern auch von der Konzentration eines lumineszierenden Stoffes oder lumineszierender Partikel an der bestimmten Stelle des sensorischen Mittels. Um Inhomogenitäten in der Verteilung des lumineszierenden Stoffes oder der lumineszierenden Partikel zu begegnen, können Stoffe oder Partikel verwendet werden, die wenigstens zwei unterschiedliche Lumineszenzerscheinungen zeigen. Eine Lumineszenzerscheinung, welche eine von wenigstens einer Veränderlichen des Objekts abhängige Relaxationszeit aufweist, und eine Lumineszenzerscheinung, welche eine inerte Relaxationszeit aufweist. Dadurch kann die an einer gegebenen Stelle des sensorischen Mittels vorliegende Konzentration des lumineszierenden Stoffes oder der lumineszierenden Partikel durch Einbeziehung der Lumineszenzerscheinung mit der inerten Relaxationszeit in die Bestimmung des wenigstens einen Parameters berücksichtigt werden.

[0026] An dieser Stelle sei noch ein genereller Vorteil gepulster Anregung erwähnt, der nicht auf das erfindungsgemäße Verfahren beschränkt ist: Aufgrund des Fehlens einer Beaufschlagung des Systems mit elektromagnetischer Anregungs-Strahlung innerhalb der Pulsabstände ergibt sich ein verstärkter Kontrast für die Systemantwort, somit eine verbesserte Genauigkeit der Detektion der Systemantwort und daher letztlich eine gesteigerte Genauigkeit etwa bei der Bestimmung der wenigstens einen Veränderlichen.

[0027] Nachfolgend werden Ausführungsbeispiele des erfindungsgemäßen Verfahrens unter Bezugnahme auf die beigefügten Zeichnungen näher erläutert.

Fig. 1a zeigt eine erste Folge von Anregungspulsen mit einem ersten definierten zeitlichen Pulsabstand.

Fig. 1b zeigt eine zweite Folge von Anregungspulsen mit einem zweiten definierten zeitlichen Pulsabstand.

Fig. 2a zeigt den Zeitverlauf einer Antwort des Systems auf eine Folge von Anregungspulsen mit einem ersten definierten zeitlichen Pulsabstand.

Fig. 2b zeigt den Zeitverlauf einer Antwort des Systems auf eine Folge von Anregungspulsen mit einem zweiten definierten zeitlichen Pulsabstand.

Fig. 2c zeigt den Zeitverlauf einer Antwort des Systems auf eine Folge von Anregungspulsen mit einem weiteren zweiten definierten zeitlichen Pulsabstand.

Fig. 2d zeigt eine Antwort des Systems auf eine kontinuierliche Anregung.

Fig. 3 zeigt den Zeitverlauf von Antworten des Systems auf eine Folge von Anregungspulsen für verschiedene Relaxationszeiten des Systems.

Fig. 4a zeigt den Zeitverlauf einer ersten Antwort des Systems auf eine erste Folge von Anregungspulsen mit einem ersten definierten zeitlichen Pulsabstand in Relation zu einem Schwellwert.

Fig. 4b zeigt den Zeitverlauf einer zweiten Antwort des Systems auf eine zweite Folge von Anregungspulsen mit einem zweiten definierten zeitlichen Pulsabstand in Relation zu einem Schwellwert.

Fig. 5 zeigt schematisch eine mögliche Anordnung, mit der das erfindungsgemäße Verfahren durchgeführt werden kann.

Fig. 6 zeigt schematisch eine weitere mögliche Anordnung, mit der das erfindungsgemäße Verfahren durchgeführt werden kann.

[0028] In den Figuren werden für gleiche oder gleich wirkende Elemente identische Bezugszeichen verwendet. Ferner werden der Übersicht halber nur diejenigen Bezugszeichen in den Figuren dargestellt, die für die Erläuterung der jeweiligen Figur erforderlich sind.

[0029] **Fig. 1a** zeigt eine erste Folge **21** von Anregungspulsen **5**. Auf der Abszisse **1** ist die Zeit, auf der Ordinate **2** die Stärke der Anregungspulse **5** aufgetragen. Die Anregungspulse **5** weisen jeweils eine Pulsdauer **20** auf. In der ersten Folge **21** von Anregungspulsen **5** haben aufeinanderfolgende Anregungspul-

se **5** einen ersten definierten zeitlichen Pulsabstand **11** voneinander.

[0030] **Fig. 1b** zeigt eine zweite Folge **22** von Anregungspulsen **5**. Auf der Abszisse **1** ist die Zeit, auf der Ordinate **2** die Stärke der Anregungspulse **5** aufgetragen. Die Anregungspulse **5** weisen jeweils eine Pulsdauer **20** auf. In der zweiten Folge **22** von Anregungspulsen **5** haben aufeinanderfolgende Anregungspulse **5** einen zweiten definierten zeitlichen Pulsabstand **12** voneinander, welcher in dieser Darstellung kleiner ist als der in **Fig. 1a** gezeigte erste definierte zeitliche Pulsabstand **11**.

[0031] In den **Fig. 1a** und **Fig. 1b** haben die Anregungspulse **5** Rechteckform. Dies ist jedoch nur eine mögliche Pulsform und soll nicht als Einschränkung der Erfindung aufgefasst werden; dem Fachmann ist bekannt, dass auch andere Pulsformen existieren, und es ist für den Fachmann selbstverständlich, dass das erfindungsgemäße Verfahren auch mit anderen Pulsformen als Rechteckpulsen durchgeführt werden kann.

[0032] **Fig. 2a** zeigt schematisch den Zeitverlauf einer Systemantwort **30** auf eine Folge von Anregungspulsen **5** (siehe **Fig. 1a** und **Fig. 1b**) mit einem ersten definierten zeitlichen Pulsabstand **11**. Auf der Abszisse **1** ist die Zeit aufgetragen, auf der Ordinate **2** ein Wert, welcher die Stärke der Systemantwort **30** charakterisiert; im Fall, dass die Systemantwort **30** eine Lumineszenzerscheinung ist, ist ein solcher Wert beispielsweise durch die Intensität der Lumineszenzstrahlung gegeben, oder durch ein daraus messtechnisch durch einen Detektor, etwa durch einen CCD-Chip einer Kamera **113** (siehe **Fig. 5** und **Fig. 6**), erzeugtes elektrisches Signal. In **Fig. 2a** ist dargestellt, dass während der Dauer **20** eines Anregungspulses **5** die Systemantwort **30** jeweils anwächst, wohingegen während des ersten definierten zeitlichen Pulsabstandes **11** die Systemantwort **30** jeweils abfällt. Dieser Abfall ist durch mindestens eine Relaxationszeit der Systemantwort **30** bestimmt; dem Fachmann ist klar, dass in diesem Zusammenhang Relaxationszeit der Systemantwort synonym zu Relaxationszeit des Systems gebraucht ist.

[0033] **Fig. 2b** ist analog zu **Fig. 2a**, zeigt jedoch schematisch den Zeitverlauf einer Systemantwort **30** auf eine Folge von Anregungspulsen **5** (siehe **Fig. 1a** und **Fig. 1b**) mit einem zweiten definierten zeitlichen Pulsabstand **12**. Der zweite definierte zeitliche Pulsabstand **12** ist hier geringer als der erste definierte zeitliche Pulsabstand **11** in **Fig. 2a**. Die Pulsdauer **20** eines Anregungspulses **5** sowie die Relaxationszeit der Systemantwort **30** haben hingegen die gleichen Werte wie in **Fig. 2a**.

[0034] **Fig. 2c** ist analog zu **Fig. 2a**, zeigt jedoch schematisch den Zeitverlauf einer Systemantwort

30 auf eine Folge von Anregungspulsen **5** (siehe **Fig. 1**) mit einem weiteren zweiten definierten zeitlichen Pulsabstand **13**. Der weitere zweite definierte zeitliche Pulsabstand **13** ist hier geringer als der zweite definierte zeitliche Pulsabstand **12** in **Fig. 2b**, und hier damit selbstverständlich ebenfalls geringer als der erste definierte zeitliche Pulsabstand **11** in **Fig. 2a**. Die Pulsdauer **20** eines Anregungspulses **5** sowie die Relaxationszeit der Systemantwort **30** haben hingegen die gleichen Werte wie in **Fig. 2a**.

[0035] In den **Fig. 2a**, **Fig. 2b** und **Fig. 2c** ist deutlich erkennbar, dass ein kürzerer definierter zeitlicher Pulsabstand **11**, **12**, **13** bei ansonsten identischen Bedingungen dazu führt, dass die jeweiligen lokalen Minima der jeweiligen Systemantwort **30** bei höheren Werten der Systemantwort **30** liegen und sich im Mittel ein höherer Wert der Systemantwort **30** ergibt. Dies bedeutet, dass bei Integration der Systemantwort **30** über eine definierte Zeitspanne, welche sich über eine Vielzahl von Pulsdauern **20** und von definierten zeitlichen Pulsabständen **11**, **12**, **13** erstreckt, der Wert des so erhaltenen Integrals im Falle der **Fig. 2c** höher ist als im Falle der **Fig. 2b**, und im Falle der **Fig. 2b** wiederum höher ist als im Fall der **Fig. 2a**. Je länger die definierte Zeitspanne für die Integration ist, desto größer, und damit desto deutlicher, werden die Unterschiede zwischen den Integralwerten. Auf diese Weise ergibt sich durch die Integration eine erhöhte Auflösung des Verfahrens hinsichtlich der Relaxationszeit, und es wird auch möglich, eine vergrößerte Bandbreite an Relaxationszeiten zu erfassen und zu unterscheiden. Größere Unterschiede zwischen den Integralwerten bedeuten auch größere Unterschiede zwischen den Antwort-Signalen und damit eine zuverlässigere Bestimmung wenigstens eines Parameters, der von zumindest einer Relaxationszeit abhängt. Da die Integration kontinuierlich über eine Vielzahl von Pulsdauern **20** und von definierten zeitlichen Pulsabständen **11**, **12**, **13** erfolgt, ist es nicht erforderlich, zur Aufzeichnung der jeweiligen Systemantwort einen Detektor einzusetzen, der Reaktionszeiten deutlich unterhalb der Pulsdauer **20** oder der definierten zeitlichen Pulsabstände **11**, **12**, **13** aufweist. Ein solcher Detektor wäre hingegen für Verfahren nach dem Stand der Technik erforderlich, bei denen die Integration auf Zeitintervalle beschränkt ist, die innerhalb der Dauer eines Anregungspulses und / oder innerhalb eines Pulsabstandes liegen.

[0036] **Fig. 2d** ist analog zu **Fig. 2a**, zeigt jedoch schematisch den Zeitverlauf einer Systemantwort **30** auf eine kontinuierliche Anregung. Die Relaxationszeit der Systemantwort hat denselben Wert wie in den Fällen der **Fig. 2a**, **Fig. 2b** und **Fig. 2c**. Wird die Systemantwort **30** zu der kontinuierlichen Anregung über eine vorgegebene definierte Zeitspanne integriert, so ergibt sich im Vergleich zu den Fällen der **Fig. 2a**, **Fig. 2b** und **Fig. 2c** bei ansonsten gleichen Bedin-

gungen ein Maximalwert der entsprechenden Integrale der jeweiligen Systemantwort **30** über eine identische vorgegebene definierte Zeitspanne.

[0037] In **Fig. 3** ist auf der Abszisse **1** die Zeit, auf der Ordinate **2** ein Wert, welcher die Stärke der Systemantwort charakterisiert, aufgetragen, wie schon im Falle der **Fig. 2a**, **Fig. 2b**, **Fig. 2c**, **Fig. 2d**. In schematischer Darstellung gezeigt sind Systemantworten **33**, **34**, **35** auf eine Folge von Anregungspulsen **5** (siehe **Fig. 1a** und **Fig. 1b**) mit Pulsdauer **20** und definiertem zeitlichen Pulsabstand **10**, wobei die Systemantworten **33**, **34**, **35** unterschiedliche Relaxationszeiten aufweisen. Während der Dauer **20** eines Anregungspulses **5** wächst die Systemantwort **33**, **34**, **35** jeweils an, wohingegen während des definierten zeitlichen Pulsabstandes **10** die Systemantwort **33**, **34**, **35** jeweils abfällt. Der Abfall ist durch die jeweilige Relaxationszeit bestimmt; dabei ist die Relaxationszeit im Fall der Systemantwort **33** kürzer als die Relaxationszeit im Fall der Systemantwort **34**, und diese wiederum kürzer als im Falle der Systemantwort **35**.

[0038] Es wird deutlich, dass mit anwachsender Relaxationszeit sich im Zeitverlauf ein höherer Wert der jeweiligen Systemantwort **33**, **34**, **35** ergibt. Daher ergibt sich bei Integration der jeweiligen Systemantwort **33**, **34**, **35** über eine definierte Zeitspanne ein umso höherer Wert, je größer die Relaxationszeit ist. Je länger die definierte Zeitspanne ist, desto größer, und damit desto deutlicher, werden die Unterschiede zwischen den Integralwerten. Auf diese Weise ergibt sich durch die Integration eine erhöhte Auflösung des erfindungsgemäßen Verfahrens hinsichtlich der Relaxationszeit, und es wird auch möglich, eine vergrößerte Bandbreite an Relaxationszeiten zu erfassen und zu unterscheiden. Größere Unterschiede zwischen den Integralwerten bedeuten auch größere Unterschiede zwischen den Antwort-Signalen und damit eine zuverlässigere und genauere Bestimmung wenigstens eines Parameters, der von zumindest einer Relaxationszeit abhängt.

[0039] **Fig. 4a** zeigt den Zeitverlauf einer ersten Antwort **31** des Systems **105** (siehe **Fig. 5** und **Fig. 6**) auf eine erste Folge **21** (siehe **Fig. 1a**) von Anregungspulsen **5** (siehe **Fig. 1a** und **Fig. 1b**) mit einem ersten definierten zeitlichen Pulsabstand **11**. Auf der Abszisse **1** ist dabei die Zeit aufgetragen, auf der Ordinate **2** ein Wert, der die Stärke der ersten Antwort **31** des Systems **105** repräsentiert. Ferner ist ein Schwellwert **40** gezeigt.

[0040] **Fig. 4b** zeigt den Zeitverlauf einer zweiten Antwort **32** des Systems **105** (siehe **Fig. 5** und **Fig. 6**) auf eine zweite Folge **22** (siehe **Fig. 1b**) von Anregungspulsen **5** (siehe **Fig. 1a** und **Fig. 1b**) mit einem zweiten definierten zeitlichen Pulsabstand **12**. Auf der Abszisse **1** ist dabei die Zeit aufgetragen, auf der Ordinate **2** ein Wert, der die Stärke der zweiten Ant-

wort **32** des Systems **105** repräsentiert. Ferner ist ein Schwellwert **40** gezeigt.

[0041] Der Schwellwert **40** hat im Fall der **Fig. 4a** denselben Wert wie im Fall der **Fig. 4b** und ist dabei so gewählt, dass die erste Antwort **31** des Systems **105** und die zweite Antwort **32** des Systems **105** nach einem Anregungspuls **5** zunächst jeweils über dem Schwellwert **40** liegen.

[0042] Der erste definierte zeitliche Pulsabstand **11** im Falle der **Fig. 4a** ist so gewählt, dass die erste Antwort **31** den Schwellwert **40** während des ersten definierten zeitlichen Pulsabstandes **11** unterschreitet. Der zweite definierte zeitliche Pulsabstand **12** ist so gewählt, dass die zweite Antwort **32** den Schwellwert **40** während des zweiten definierten zeitlichen Pulsabstandes **12** nicht unterschreitet. Der zweite definierte zeitliche Pulsabstand **12** ist hierbei kürzer als der erste definierte zeitliche Pulsabstand **11**.

[0043] Bevorzugt wird der Schwellwert **40** so gewählt, dass ein Unterschreiten des Schwellwerts **40** im Rahmen der Genauigkeit der verwendeten Messanordnung **100** (siehe **Fig. 5** und **Fig. 6**) mit einem Wert Null der ersten **11** bzw. zweiten **12** Antwort des Systems **105** verträglich ist. Ein Unterschreiten des Schwellwerts **40** ist dann praktisch mit einer vollständigen Relaxation des Systems **105** nach einem oder mehreren Anregungspulsen **5** gleichzusetzen.

[0044] **Fig. 5** zeigt den schematischen Aufbau einer möglichen Messanordnung **100**, mit der das erfindungsgemäße Verfahren durchgeführt werden kann. Für den Fachmann ist selbstverständlich, dass das erfindungsgemäße Verfahren auch mit anderen technischen Mitteln durchführbar und nicht auf die gezeigte Anordnung beschränkt ist. Das System **105**, zu dem wenigstens ein Parameter bestimmt werden soll, umfasst in der gezeigten Ausführungsform ein Objekt **120** und ein sensorisches Mittel **115**. Das sensorische Mittel **115** weist dabei wenigstens eine Relaxationszeit auf, die von einer Veränderlichen des Objekts **120** abhängt. Eine Lichtquelle **110** emittiert Anregungslicht, angedeutet durch die Pfeile **131**, zur Anregung einer Lumineszenzerscheinung in dem sensorischen Mittel **115**, welches in der hier gezeigten Ausführungsform als eine auf dem Objekt **120** aufgebraute Schicht vorliegt. Das vom sensorischen Mittel **115** emittierte Lumineszenzlicht, angedeutet durch die Pfeile **132**, welches in dem gezeigten Ausführungsbeispiel eine andere Wellenlänge als das Anregungslicht aufweist, wird durch einen dichroitischen Strahlteiler **114** auf eine Kamera **113** gelenkt. Die Kamera **113** ist mit einer Auswerteeinheit **111** verbunden. Kamera **113**, Lichtquelle **110** und Auswerteeinheit **111** werden durch eine Steuereinheit **112** gesteuert. Wie in der Zeichnung angedeutet, können weitere optische Elemente **116**, **117** vorgesehen sein.

[0045] Aufgabe der Steuereinheit **112** ist es unter anderem, die Lichtquelle **110** zur Abgabe vom Anregungspulsen **5** (siehe **Fig. 1a** und **Fig. 1b**) in Form von Lichtpulsen definierter Pulsdauer **20** (siehe **Fig. 1a** und **Fig. 1b**) und mit definiertem zeitlichen Pulsabstand **10**, **11**, **12**, **13** (siehe **Fig. 1a**, **Fig. 1b**, **Fig. 2a**, **Fig. 2b**, **Fig. 2c**, **Fig. 3**) zwischen aufeinanderfolgenden Anregungspulsen **5** zu veranlassen. Mit Beginn der Emission einer Folge von Anregungspulsen **5** durch die Lichtquelle **110** löst die Steuereinheit **112** auch den Beginn der Integration des Zeitverlaufs der durch die Kamera **113** aufgezeichneten Antwort des Systems **105**, d.h. hier des sensorischen Mittels **115**, in Form vom Lumineszenzlicht aus. Mit der Steuereinheit **112** ist es ferner möglich, die Anzahl der Pulse in einer Folge von Anregungspulsen **5** einzustellen sowie eine Anzahl von Wiederholungen einer Messung vorzugeben, beispielsweise zur Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses oder zur Ermittlung der zeitlichen Veränderung einer Veränderlichen des Objekts **120**. Die Steuereinheit **112** erlaubt es auch, für eine Serie von Folgen von Anregungspulsen **5** die jeweils zu verwendenden Pulsdauern **20** und definierten zeitlichen Pulsabstände **10**, **11**, **12**, **13** vorzugeben, und generell die Abfolge von zu verwendenden Anregungen, also Folgen von Anregungspulsen **5** oder kontinuierliche Anregung, auszuwählen. Ebenso kann ein Soll-Wert für die Intensität des Beleuchtungslichts gewählt werden.

[0046] Die Auswerteeinheit **111** ermittelt die ersten und zweiten Antwort-Signale durch kontinuierliche Zeitintegration der jeweiligen Antworten des Systems **105** über eine durch die Steuereinheit **112** vorgebbare Zeitspanne, bestimmt daraus den wenigstens einen Parameter zu dem System **105**, und daraus die zumindest eine Veränderliche des Objekts. Bei einem flächig ausgedehnten sensorischen Mittel **115**, wie in der **Fig. 5** gezeigt, kann dies orts aufgelöst erfolgen.

[0047] Selbstverständlich kann die Messanordnung **100** auch dazu ausgebildet sein, eine Vielzahl von Veränderlichen des Objekts **120** zu bestimmen, wobei eine jede Veränderliche gemäß dem erfindungsgemäßen Verfahren bestimmt wird. Zu diesem Zweck kann die Lichtquelle **110** auch dazu ausgebildet sein, Licht aus unterschiedlichen Wellenlängenbereichen auszusenden, um das sensorische Mittel **115** zu einer für die Bestimmung einer jeweiligen Veränderlichen erforderlichen Lumineszenz anzuregen. Es ist für einen Fachmann selbstverständlich, dass dabei geeignete Filter in den Strahlengängen von der Lichtquelle **110** zum sensorischen Mittel **115**, und vom sensorischen Mittel **115** zur Kamera **113** vorgesehen sein können. Ferner ist für den Fachmann klar, dass in bestimmten Ausgestaltungen der Messanordnung **100** bei Verwendung von Filtern insbesondere vor der Kamera **113**, an Stelle des dichroitischen Strahlteilers **114** ein gewöhnlicher Strahlteiler verwendet werden kann.

[0048] **Fig. 6** zeigt den schematischen Aufbau einer weiteren möglichen Messanordnung **100**, mit der das erfindungsgemäße Verfahren durchgeführt werden kann. Alle wesentlichen Elemente wurden bereits im Zusammenhang mit der **Fig. 5** beschrieben und diskutiert. In dieser Ausführungsform ist die Lichtquelle **110** ein um das Objektiv der Kamera **113** angeordnetes Ringlicht. Das von der Lichtquelle **110** ausgesendete Anregungslicht ist durch die Pfeile **131** angedeutet, von dem sensorischen Mittel **115** emittiertes Lumineszenzlicht ist durch den Pfeil **132** angedeutet. Auch hier können im Strahlengang weitere optische Elemente **116** vorgesehen sein. Es ist insbesondere möglich, das Licht von der Lichtquelle durch Filter an die Messaufgaben anzupassen, und / oder Filter für das vom System **105** ausgehende Lumineszenzlicht vor dem Objektiv der Kamera **113** vorzusehen.

[0049] In Zusammenhang mit den **Fig. 5** und **Fig. 6** ist es für den Fachmann offensichtlich, dass das Anregungslicht sowie das Lumineszenzlicht durch Vakuum oder ein Medium, beispielsweise Luft, ein anderes Gas oder Gasgemisch oder eine Flüssigkeit, propagieren kann. Ebenso ist es möglich, Anregungslicht und / oder Lumineszenzlicht in Lichtleitern zu führen.

[0050] Statt der Kamera kann, je nach Messaufgabe, auch jede andere Lichtdetektorvorrichtung verwendet werden, mit der das Lumineszenzlicht empfangen und zur erfindungsgemäßen Auswertung umgewandelt werden kann, beispielsweise ein Photodetektor. Für eine orts aufgelöste Durchführung des Verfahrens ist eine orts aufgelöste Aufzeichnung der Sensorantworten erforderlich; hierfür ist beispielsweise eine Kamera besonders geeignet. Ist eine orts aufgelöste Erfassung nicht erforderlich, so kann etwa eine Photozelle verwendet werden.

[0051] Die Erfindung wurde unter Bezugnahme auf bevorzugte Ausführungsformen beschrieben. Es ist dem Fachmann jedoch bekannt, dass Änderungen und Modifikationen möglich sind, ohne den Schutzbereich der nachfolgenden Ansprüche zu verlassen.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Bestimmung wenigstens eines Parameters zu einem System (105), wobei das System (105) mindestens eine Relaxationszeit aufweist, und der wenigstens eine Parameter von der mindestens einen Relaxationszeit abhängt, **gekennzeichnet durch** die folgenden Schritte:

a) Anregen des Systems (105) durch eine erste Folge (21) von elektromagnetischen Anregungspulsen (5) mit einem ersten definierten zeitlichen Pulsabstand (11) zwischen aufeinanderfolgenden Anregungspulsen (5);

b) Ermitteln eines ersten Antwort-Signals durch kontinuierliche Zeitintegration, also ununterbrochene Zeitintegration während der Folge von Anregungspulsen (5), eines Zeitverlaufs einer ersten Antwort (31) des Systems (105) auf die erste Folge (21) von Anregungspulsen (5);
 c) Ermitteln zumindest eines zweiten Antwort-Signals durch kontinuierliche Zeitintegration eines Zeitverlaufs zumindest einer zweiten Antwort (32) des Systems (105); und
 d) Bestimmen des wenigstens einen Parameters unter Einbeziehung des ersten Antwort-Signals und des zumindest einen zweiten Antwort-Signals.

2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei zumindest eine zweite Antwort (32) des Systems (105) durch eine zweite Folge (22) von elektromagnetischen Anregungspulsen (5) mit einem zweiten definierten zeitlichen Pulsabstand (12, 13) zwischen aufeinanderfolgenden Anregungspulsen (5) erzeugt wird, wobei der zweite definierte zeitliche Pulsabstand (12, 13) vom ersten definierten zeitlichen Pulsabstand (11) verschieden ist.

3. Verfahren nach Anspruch 2, wobei das System (105) durch eine Vielzahl von zweiten Folgen (22) von elektromagnetischen Anregungspulsen (5) angeregt wird, und zu jeder zweiten Folge (22) von Anregungspulsen (5) jeweils ein zweites Antwort-Signal ermittelt wird, wobei jede zweite Folge (22) von Anregungspulsen (5) jeweils einen zweiten definierten zeitlichen Pulsabstand (12, 13) aufweist, derart, dass zumindest zwei solche zweiten definierten zeitlichen Pulsabstände (12, 13) verschieden sind.

4. Verfahren nach Anspruch 2, welches die weiteren Schritte umfasst:

- Festlegen eines Schwellwerts (40) für die Antworten (31, 32) des Systems (105);
- Auswahl des ersten definierten zeitlichen Pulsabstandes (11) derart, dass die erste Antwort (31) des Systems (105) den Schwellwert (40) innerhalb des gewählten ersten definierten zeitlichen Pulsabstandes (11) unterschreitet;
- Auswahl eines zweiten definierten zeitlichen Pulsabstandes (12, 13) derart, dass eine zweite Antwort (32) des Systems (105) den Schwellwert (40) innerhalb des gewählten zweiten definierten zeitlichen Pulsabstandes (12, 13) nicht unterschreitet.

5. Verfahren nach Anspruch 3, welches die weiteren Schritte umfasst:

- Festlegen eines Schwellwerts (40) für die Antworten (31, 32) des Systems (105);
- Auswahl des ersten definierten zeitlichen Pulsabstandes (11) derart, dass die erste Antwort (31) des Systems (105) den Schwellwert (40) innerhalb des gewählten ersten definierten zeitlichen Pulsabstandes (11) unterschreitet;

- Festlegung der sukzessive verwendeten zweiten definierten zeitlichen Pulsabstände (12, 13) durch schrittweise Reduktion des ersten definierten zeitlichen Pulsabstandes (11).

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei zumindest eine zweite Antwort (32) des Systems (105) durch die Antwort des Systems (105) auf eine kontinuierliche Anregung gegeben ist.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei zumindest eine zweite Antwort (32) des Systems (105) durch eine weitere Antwort des Systems (105) auf die erste Folge (21) von Anregungspulsen (5) gegeben ist.

8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei Schritt d eine Verhältnisbildung zwischen dem ersten Antwort-Signal und zumindest einem zweiten Antwort-Signal umfasst.

9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Anregung des Systems (105) jeweils durch Licht erfolgt.

10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei es sich bei der ersten Antwort (31) des Systems (105) und der zumindest einen zweiten Antwort (32) des Systems (105) um eine Fluoreszenz-, Phosphoreszenz- oder Lumineszenz-Erscheinung handelt.

11. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei das System (105) ein Objekt (120) und zumindest ein sensorisches Mittel (115) zur Erfassung wenigstens einer Veränderlichen des Objekts (120) umfasst, wobei jeweils zumindest eine Relaxationszeit des zumindest einen sensorischen Mittels (115) von der wenigstens einen Veränderlichen des Objekts (120) abhängt.

12. Verfahren nach Anspruch 11, wobei die zumindest eine Veränderliche des Objekts (120) eine Konzentration eines Stoffes, ein Druck, ein Partialdruck eines Gases, ein pH-Wert oder eine Temperatur ist.

13. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 oder 12, wobei das Objekt (120) eine Anordnung mindestens zweier Proben ist, jeder Probe jeweils zumindest ein sensorisches Mittel (115) zugeordnet ist, und für jede einzelne Probe jeweils ein erstes Antwort-Signal und jeweils zumindest ein zweites Antwort-Signal ermittelt werden.

14. Verfahren nach Anspruch 13, wobei in Kavitäten einer Mikrotiterplatte jeweils eine Probe und zumindest ein sensorisches Mittel (115) enthalten sind.

15. Verfahren nach Anspruch 13 oder 14, wobei das erste Antwort-Signal und das zumindest eine

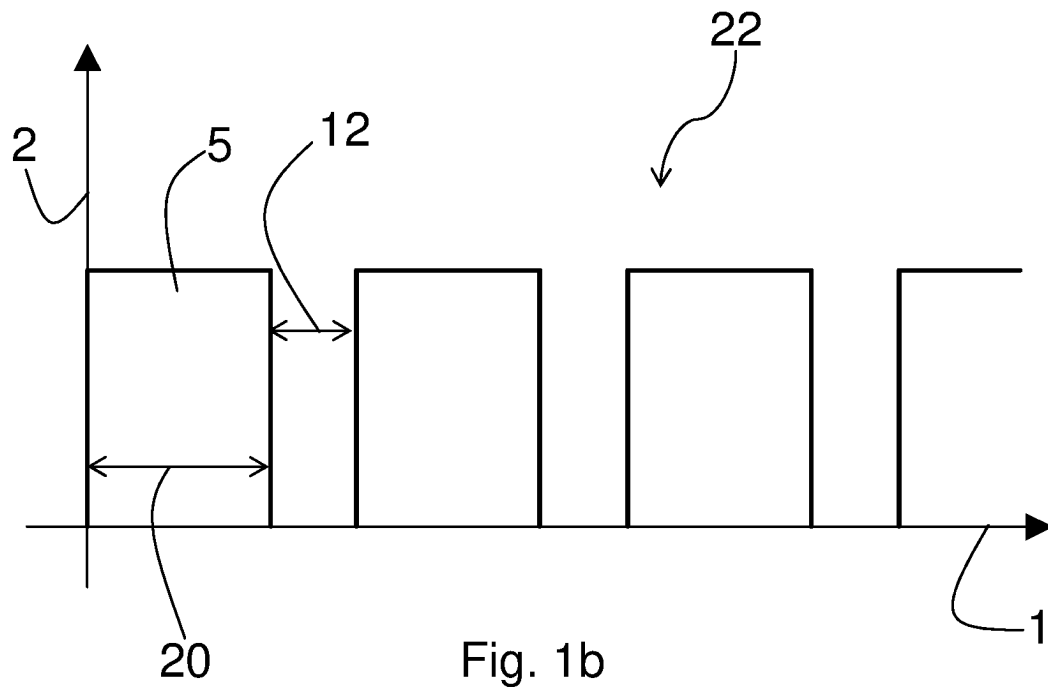
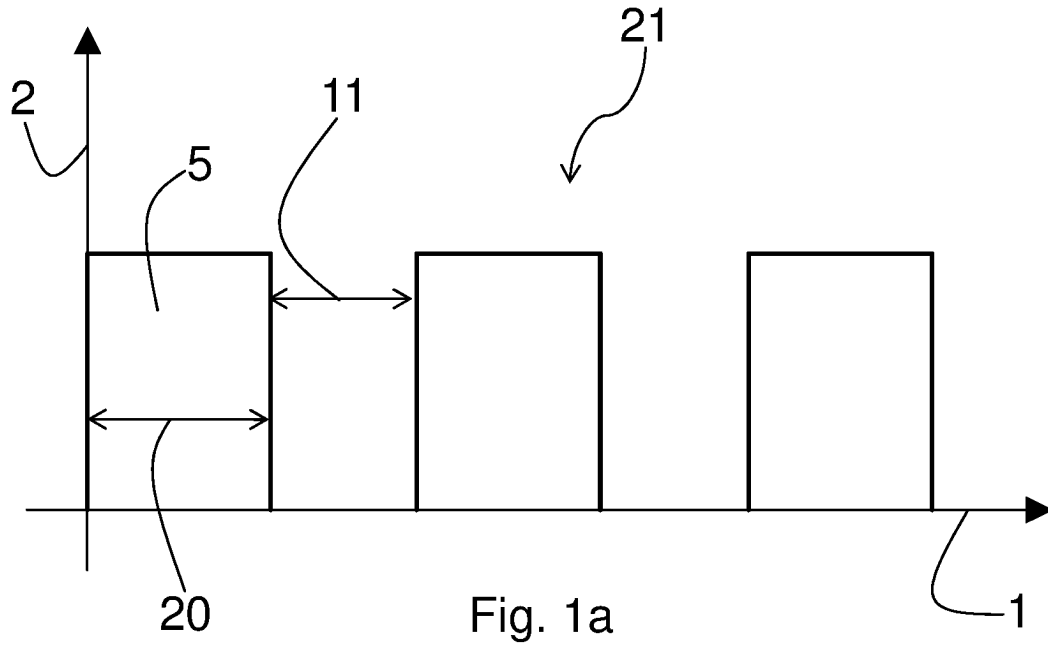
zweite Antwort-Signal jeweils simultan für eine Vielzahl von Proben ermittelt werden.

16. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 oder 12, wobei das zumindest eine sensorische Mittel (115) auf einer Oberfläche des Objekts (120) angeordnet ist, die Zeitverläufe der Antworten (30, 31, 32) des Systems (105) orts aufgelöst kontinuierlich aufgezeichnet werden, die Antwort-Signale entsprechend orts aufgelöst ermittelt werden, der wenigstens eine Parameter ortsabhängig bestimmt wird, und eine Verteilung der zumindest einen Veränderlichen auf der Oberfläche des Objekts (120) entsprechend ortsabhängig ermittelt wird.

17. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 16, wobei das sensorische Mittel (115) eine Relaxationszeit aufweist, welche von der wenigstens einen Veränderlichen des Objekts (120) nicht abhängt.

Es folgen 5 Seiten Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen



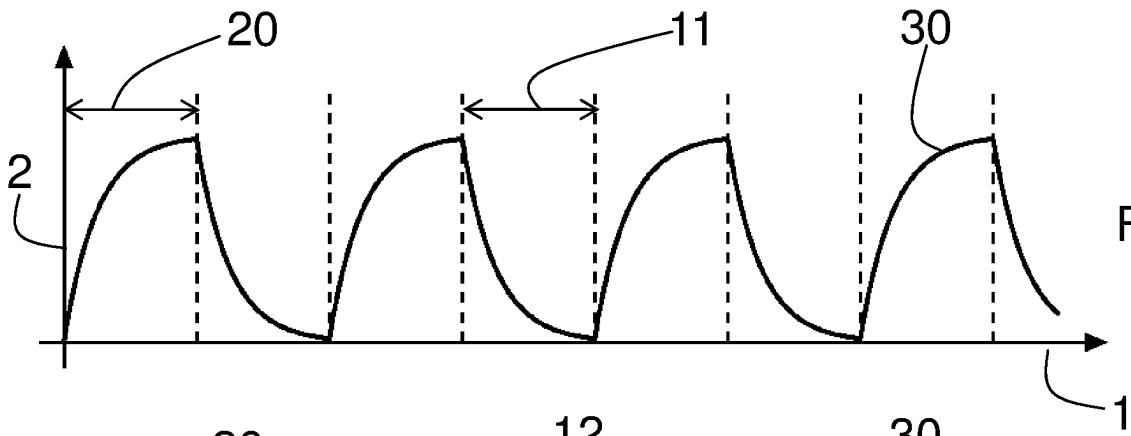


Fig. 2a

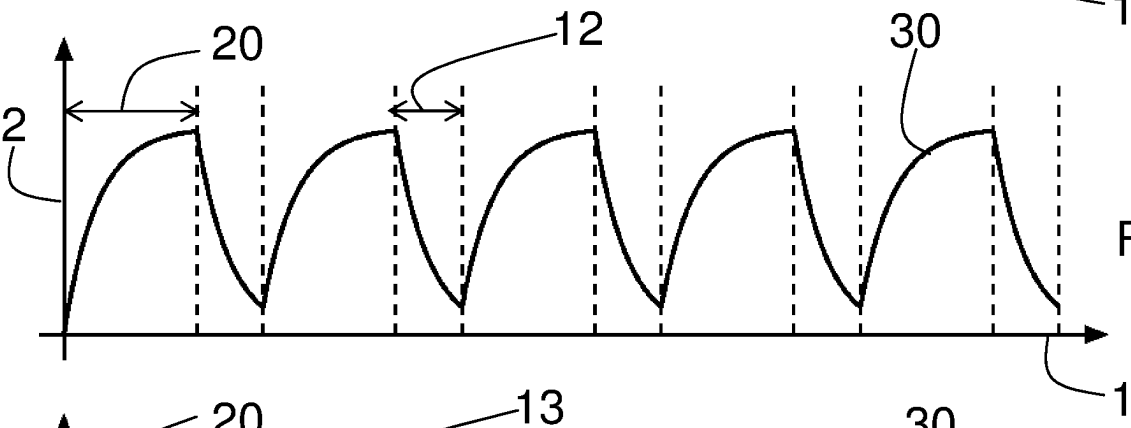


Fig. 2b

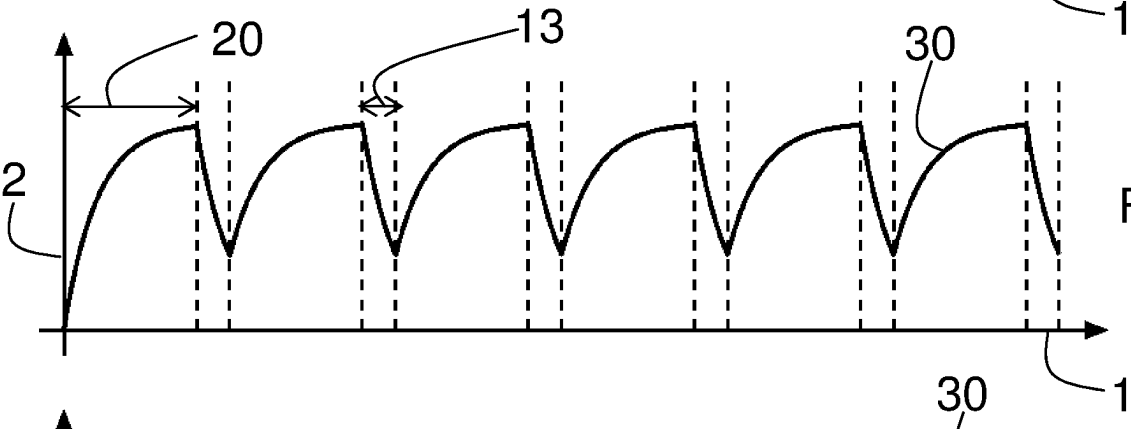


Fig. 2c

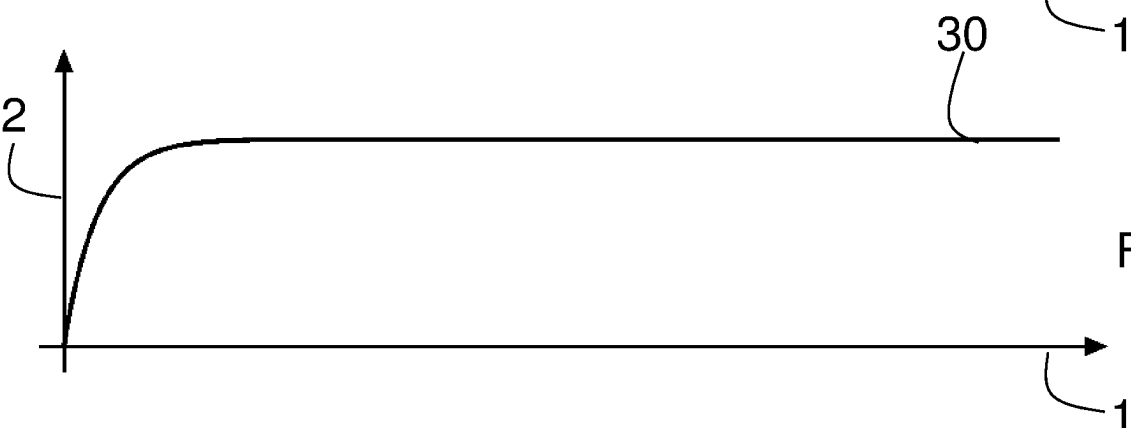


Fig. 2d

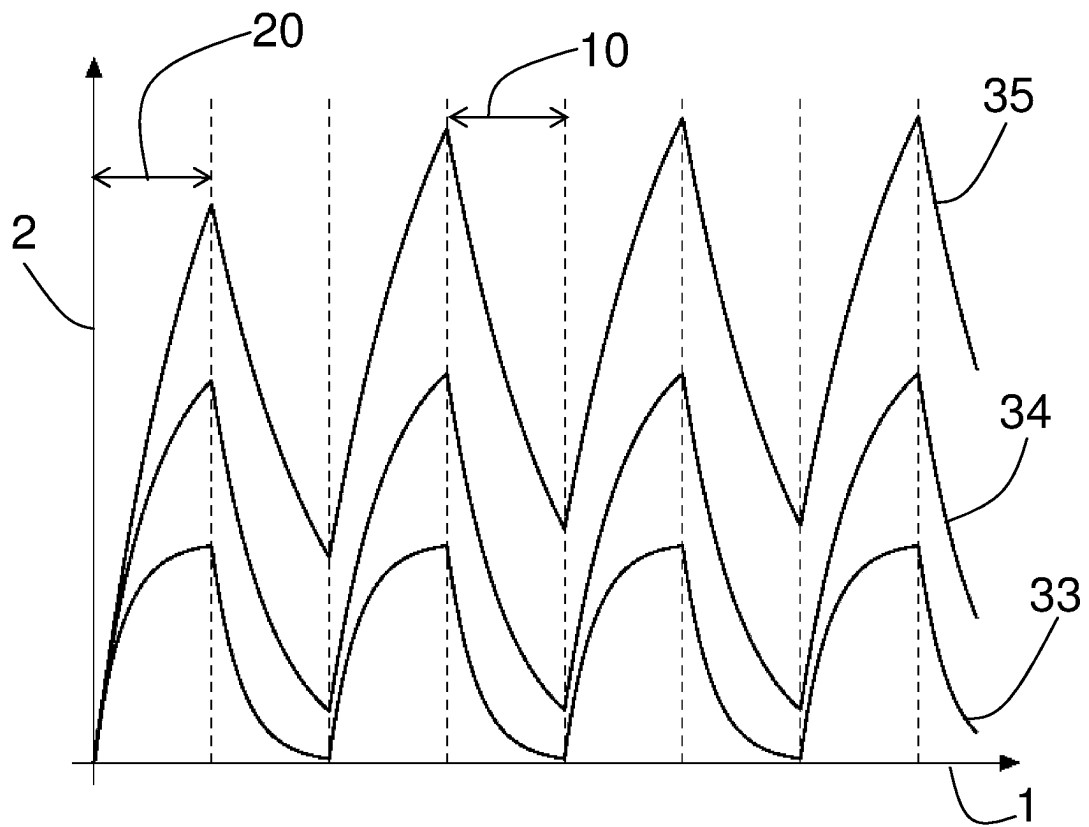
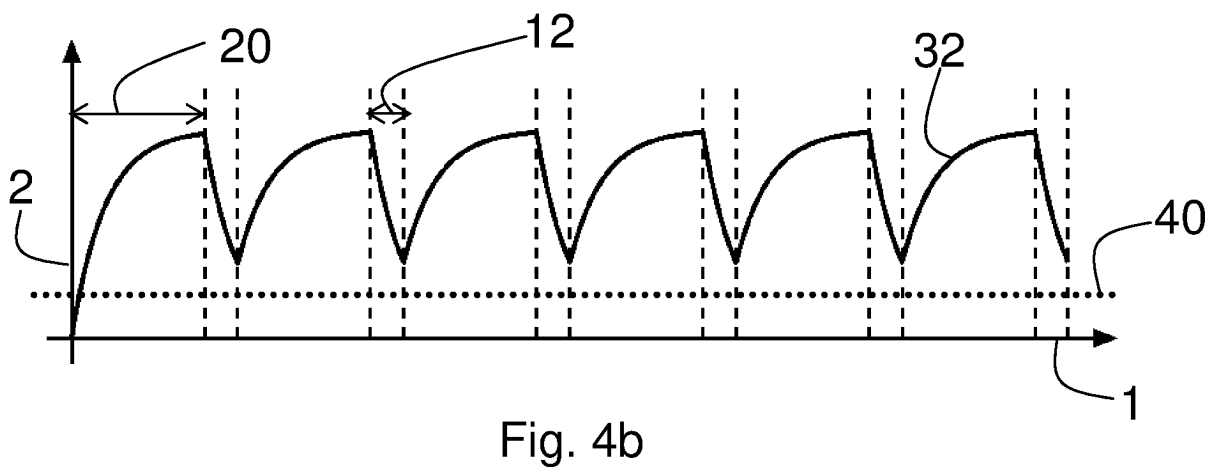
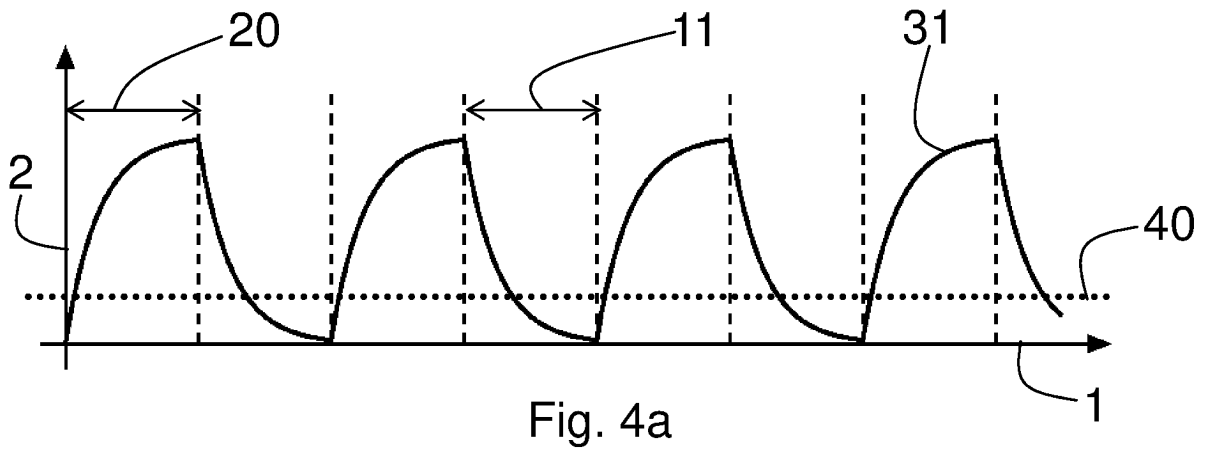


Fig. 3



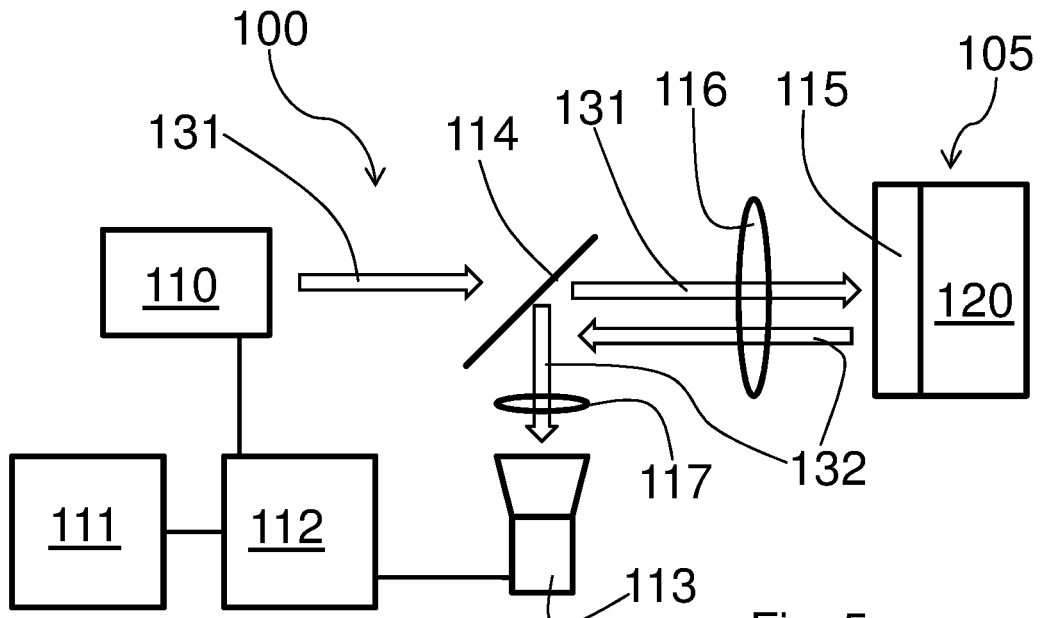


Fig. 5

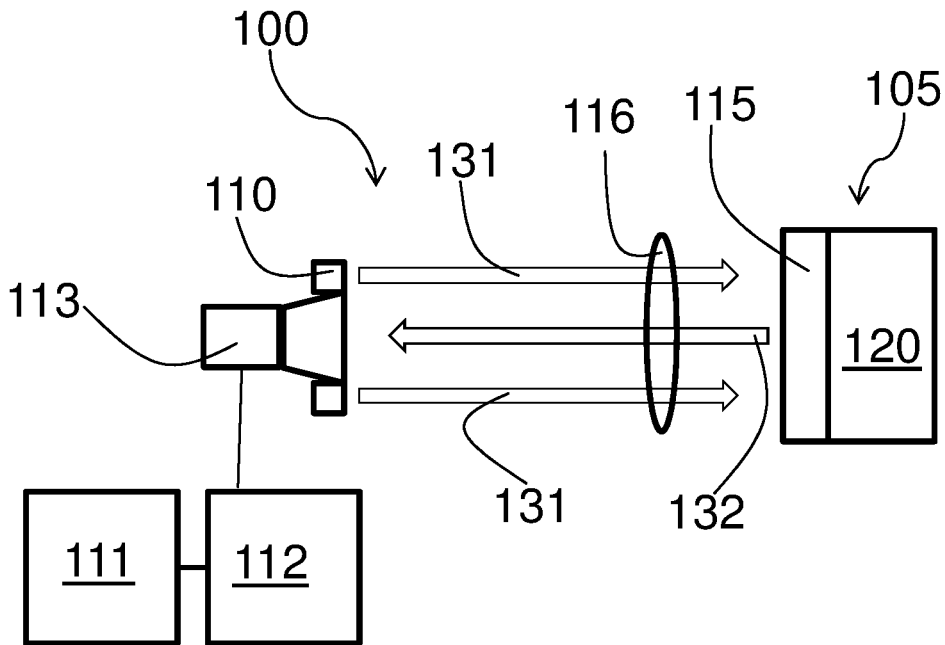


Fig. 6