

# Fluoreszenzuntersuchungen mit hoher zeitlicher, spektraler und räumlicher Auflösung

017

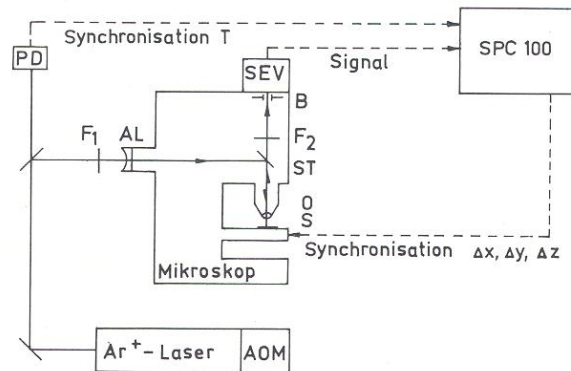
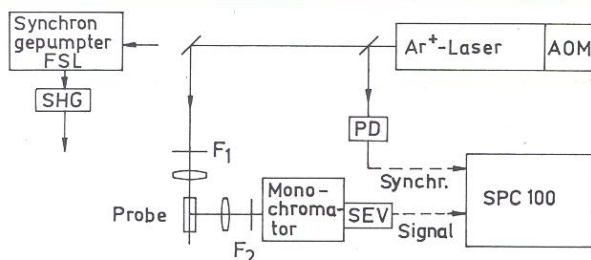
Von Karsten KÖNIG und Heidrun WABNITZ

Fluoreszenzmethoden finden eine breite Anwendung in Spektroskopie und Mikroskopie bei der Untersuchung biologisch-medizinischer Objekte. Die nach Lichtabsorption von fluoreszierenden Substanzen emittierte Strahlung kann z. B. hinsichtlich der Intensität, der spektralen Zusammensetzung (Fluoreszenzanregungsspektren), der Quantenausbeute und der Polarisation analysiert werden. Weitere Informationen sind zu erhalten, wenn der zeitliche Verlauf der Fluoreszenz nach impulsförmiger Anregung gemessen wird, wobei die charakteristischen Zeiten (Fluoreszenzabklingzeit, Lebensdauer des angeregten Zustandes von Molekülen) im Nanosekunden- und Subnanosekundenbereich liegen.

Die im folgenden vorgestellte Apparatur beruht auf der Methode der zeitkorrelierten Einzelphotonenzählung, die sich im Vergleich zu anderen zeitauflösenden Methoden durch sehr hohe Empfindlichkeit und Genauigkeit, einen großen Dynamikbereich, hohe Zuverlässigkeit und relativ einfache Handhabung auszeichnet und dadurch für Untersuchungen an biologisch-medizinischen Objekten besonders geeignet ist [1].

Mit der Methode der Einzelphotonenzählung wird die Messung von sehr geringen Lichtintensitäten auf die Zählung der elektrischen Impulse zurückgeführt, die bei Auftreffen einzelner Photonen auf einen als Lichtempfänger dienen-

**Bild 1:** Anordnung zur Fluoreszenzuntersuchung mit zeitlicher (0,3 ns) und spektraler (10 nm) Auflösung, (PD: Photodiode, SHG: Anordnung zur Erzeugung der Zweiten Harmonischen, F<sub>1</sub>: Abschwächungsfilter, F<sub>2</sub>: Filter zur Streulichtunterdrückung)



**Bild 2:** Anordnung zur Kombination von zeitlicher und räumlicher (0,6 μm) Auflösung (AL: Anpaßlinse, ST: Strahlteiler, O: Objektiv, S: x, y-Scanningtisch, B: Blende)

den Sekundärelektronenervielfacher (SEV) erzeugt werden. Bei Anregung der Fluoreszenz mit ultrakurzen Lichtimpulsen und Registrierung der Häufigkeit der Fluoreszenzphotonen in Abhängigkeit vom zeitlichen Abstand zum Anregungsimpuls erhält man die Fluoreszenzabklingkurve.

In Bild 1 ist ein Schema der Apparatur dargestellt. Zunächst werden Impulse mit einem Abstand von 8 ns und einer Dauer von etwa 100 ps in einem modensynchronisierten Argonionenlaser (ILA 120 von Carl Zeiss Jena mit

akustischem Modelocker AOM 100 von ZWG der AdW Berlin) erzeugt. Sie können entweder direkt zur Anregung der Fluoreszenz verwendet werden, oder sie dienen als Pumpstrahlung für einen in größeren spektralen Bereichen durchstimmbaren synchron gepumpten Farbstofflaser. Anregungsstrahlung im nahen UV-Bereich läßt sich z. B. durch Erzeugung der Zweiten Harmonischen in einem nichtlinearen Kristall gewinnen. Tabelle 1 gibt einen Überblick über verfügbare Wellenlängen und Leistungen.

Die Fluoreszenzstrahlung wird auf den Eintrittsspalt eines Monochromators (Spekol, Carl Zeiss Jena, spektrale Bandbreite etwa 10 nm) abgebildet und vom SEV (ELU 18 FM, UdSSR bzw. FEU-77, UdSSR) in Verbindung mit dem Meßsystem SPC 100 (ZOS der AdW Berlin [2]) registriert. Dabei wird eine Zeitauflösung von etwa 300 ps Halbwertsbreite erreicht. Die Anordnung erlaubt die Registrierung von Fluoreszenzabklingkurven sowie von zeitaufgelösten Spektren, denen eine simultane Erfassung der Gesamtintensität in drei beliebig wählbaren Zeitabschnitten der Abklingkurven in Abhängigkeit von der Wellenlänge zu Grunde liegt.

Abklingzeiten im Bereich von etwa 0,5 ns

bis 20 ns können einfach durch Auswertung logarithmierter Abklingkurven gewonnen werden. Kürzere Zeitkonstanten bis herab zu etwa 100 ps lassen sich unter Einsatz von Entfaltungsprozeduren ermitteln. Das im weiteren verwendete Programm [3] zur iterativen Rückfaltung und Anpassung nach der Methode der kleinsten Quadrate erlaubt zudem die Ermittlung der Abklingzeiten  $\tau_i$  und der Amplituden  $A_i$  für ein mehrfach-exponentielles Abklingverhalten der Form  $\sum A_i \exp(-t/\tau_i)$

mit bis zu vier Komponenten. Dabei ist auch eine globale Entfaltung möglich, d. h. die gemeinsame Auswertung mehrerer Abklingkurven z. B. bei unterschiedlichen Fluoreszenzwellenlängen unter der Voraussetzung gleicher Abklingzeiten  $\tau_i$ , aber unterschiedlicher  $A_i$ .

Die beschriebene empfindliche Fluoreszenzmethode läßt sich mit mikroskopischer räumlicher Auflösung kombinieren, um die Fluoreszenzeigenschaften innerhalb von Zellen und Geweben untersuchen zu können.

Bild 2 zeigt schematisch die Kopplung eines Fluoreszenzmikroskops (JENALUMAR) und eines x, y-Scanningtisches (Schrittweite: 0,5  $\mu\text{m}$ ) mit dem Meßsystem für zeitkorrelierte Einzelphotonenzählung SPC 100 [4]. Entsprechend den in der Laserrastermikroskopie (LRM) üblichen Verfahren wird der Laserstrahl zu einem sehr kleinen Fleck auf der Probe fokussiert (hier: 0,6  $\mu\text{m}$ ), die relativ dazu

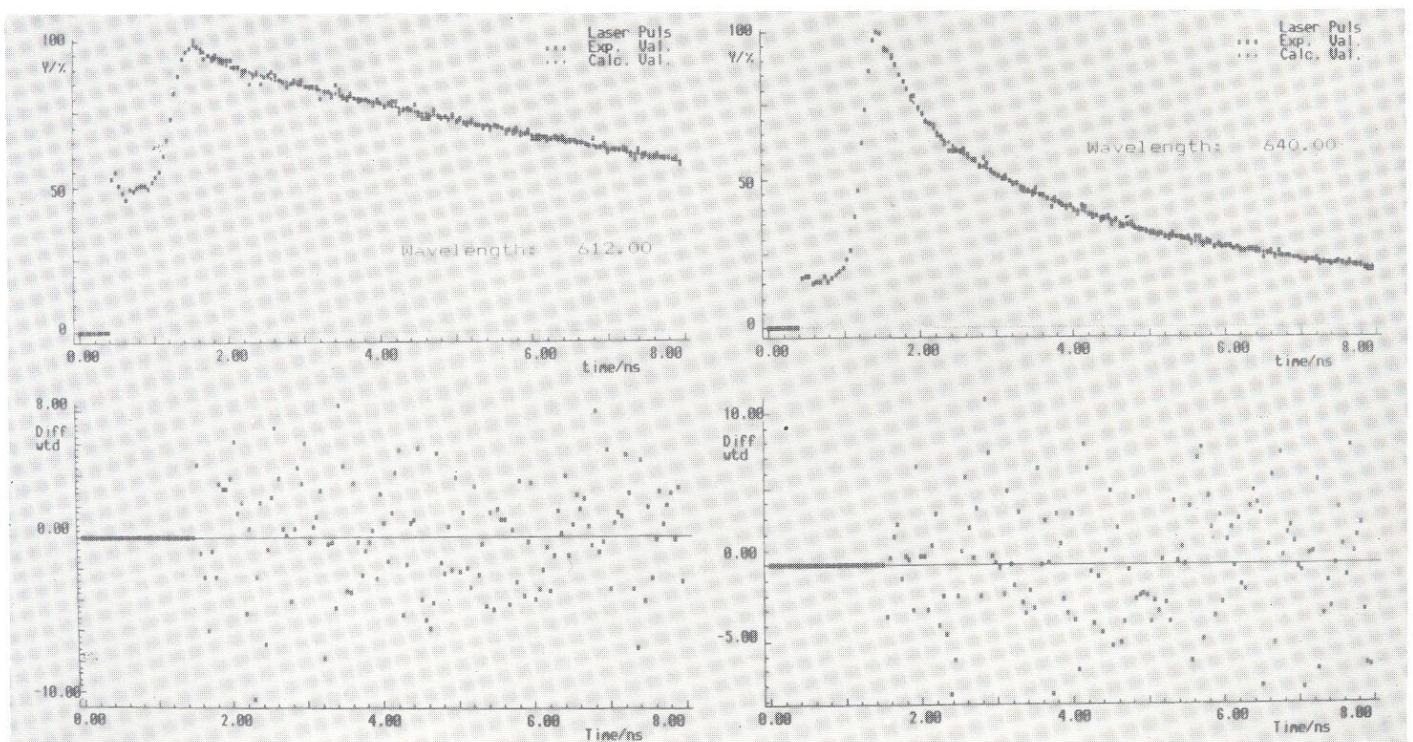
**Tabelle 1:** Verfügbare Quellen ultrakurzer Anregungslichtimpulse (Impulsabstand  $\approx 8$  ns, Impulsdauer  $\approx 100$  ps für Argonionenlaser,  $\leq 10$  ps für Farbstofflaser)

Quelle	Wellenlänge in nm	mittlere Ausgangsleistung in mW
Argonionenlaser (modensynchronisiert)	514 458	500 70
Farbstofflaser (synchron gepumpt)		
Dinatriumfluorescein	530–590	alle: 10–100
Rhodamin 110	540–585	
Rhodamin 6G	560–640	
Rhodamin B	600–690	
Pyridin 1	650–760	
Zweite Harmonische (z.B. für Pyridin 1 – FSL in $\text{LiIO}_3$ erzeugt)	um 350	$\approx 0,15$

**Tabelle 2:** Amplituden  $A_1$  (bezogen auf unbestrahlte Probe) in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdosis,  $\lambda_F = 640$  nm (Entfaltung bei fest vorgegebenen  $\tau$ -Werten)

	0 J	2,5 J	250 J
$A_1$ (12 ns)	1,00	0,51	0,07
$A_2$ (2,2 ns)	1,00	1,31	0,69
$A_3$ (200 ps)	1,00	1,01	0,71

**Bild 3:** Fluoreszenz-Abklingverhalten in Abhängigkeit von der Fluoreszenzwellenlänge (Kurven normiert) und Verteilung der gewichteten Residuen nach der Entfaltung. Bei optimaler Anpassung liegt eine statistische Verteilung der Residuen um die Nulllinie vor.



bewegt wird. Außer Fluoreszenzabklingkurven an einzelnen ausgewählten Punkten des Objektes lassen sich damit Linien- und zweidimensionale Rasterbilder von Fluoreszenzeigenschaften aufnehmen. Dazu wird die Fluoreszenzintensität in verschiedenen zeitlichen Intervallen der Abklingkurve registriert. Der Parameter

$$\tau^*(x, y) = T / \ln(N_I / N_{II})$$

( $N_I, N_{II}$ : Anzahl der Fluoreszenzphotonen in zwei unmittelbar aufeinanderfolgenden Zeitintervallen der Breite  $T$ ) erlaubt Aussagen zum ortsabhängigen Fluores-

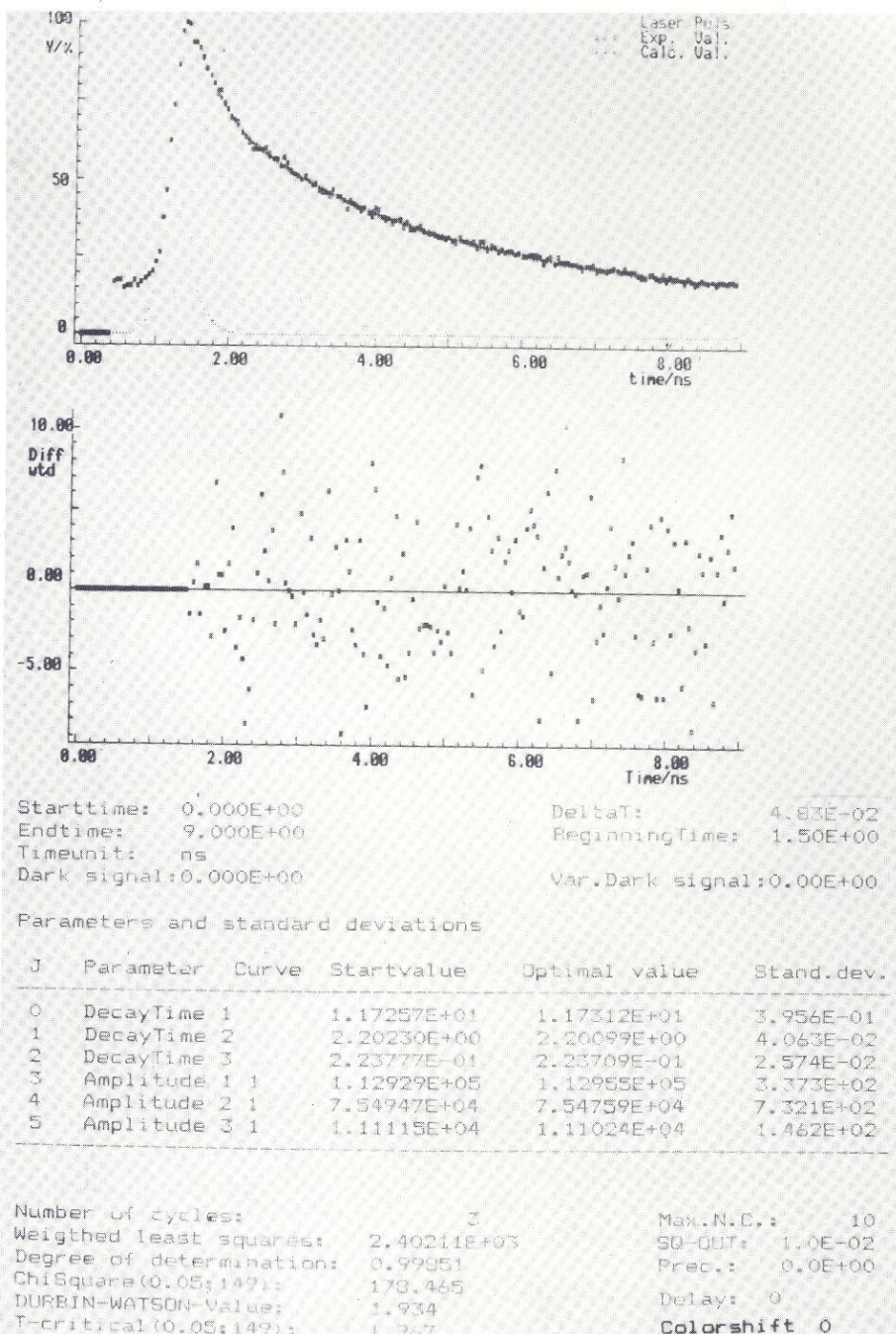
zenzabklingverhalten und fällt für monoexponentielles Abklingen  $A \cdot \exp(-t/\tau)$  mit der Abklingzeit  $\tau$  zusammen. Gleichzeitig wird die Photonenzahl im gesamten Zeitintervall zwischen zwei Anregungsimpulsen ermittelt. Sie ist ein Maß für die mittlere (stationäre) Fluoreszenzintensität  $I_F$ .

Der Einsatz von Blenden geeigneter Größe in der Bildebene des Mikroskops (konfokale LRM, [5]) erlaubt darüber hinaus eine Tiefendiskriminierung (bis auf etwa  $1 \mu\text{m}$  genau), so daß sich im Prinzip

mikroskopische 3D-Bilder biologischer Objekte erhalten lassen [6].

Die Einsatzmöglichkeiten der beschriebenen Anordnung sollen anhand von in-vitro und in-vivo Messungen näher erläutert werden, die mit dem in der Tumordiagnostik und Tumorthherapie verwendeten, im roten Spektralbereich fluoreszierenden Tumormarker Hämatoporphyrin-Derivat (HpD) durchgeführt wurden. HpD ist ein Gemisch verschiedener metallfreier Porphyrine, die in wäßriger Lösung in monomerer und aggregierter Form vorliegen. Insbesondere kovalent gebundene Dimere spielen eine wesentliche Rolle im Prozeß der tumorselektiven Anlagerung [7,8,9].

**Bild 4:** Ergebnisse der Kurvenentfaltung einer  $10^{-4}$  M HpD-PBS-Lösung,  $\lambda_F = 642$  nm, normiert ( $\sum A_i = 100\%$ ), Kanalbreite: 48,3 ps, Abklingzeiten in ns. Drei fluoreszierende Komponenten mit den Abklingzeiten  $\tau_1 \approx 12$  ns,  $\tau_2 \approx 2,2$  ns und  $\tau_3 \approx 200$  ps und einem Amplitudenverhältnis von etwa 93:6:1 können bestimmt werden.

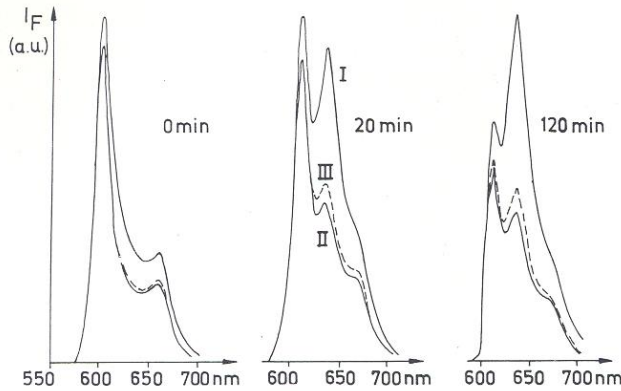


### Fluoreszenzabklingkurven

Bild 3 zeigt zunächst typische Fluoreszenzabklingkurven einer  $10^{-4}$  M Lösung von HpD in Phosphatpuffer (PBS, pH = 7,4) bei Anregung mit 514 nm-Strahlung geringer Intensität ( $2 \text{ mW/cm}^2$ ) in Abhängigkeit von der Fluoreszenzwellenlänge. Das unterschiedliche Abklingverhalten deutet auf die Existenz verschiedener fluoreszierender Komponenten hin, die hinsichtlich ihres Spektral- und Zeitverhaltens differenziert werden können. Während der Bereich um 612 nm durch einen annähernd monoexponentiellen Abfall mit einer Abklingzeit  $\tau > 8$  ns (Restfluoreszenz bei Eintreffen des nachfolgenden Anregungsimpulses:  $I_F > I_{\text{Max}}/e$ ) gekennzeichnet ist, wird die Fluoreszenzkinetik im längerwelligen Spektralbereich, insbesondere bei 640 nm, auch durch kurzlebige Fluoreszenzkomponenten geprägt. Wie die Auswertung mit dem Entfaltungsprogramm [3] zeigt, ist die 612 nm-Fluoreszenz im wesentlichen auf eine einzige Fluoreszenzkomponente mit einer Abklingzeit  $\tau \approx 12$  ns zurückzuführen, und die 640 nm-Fluoreszenz läßt sich durch ein mehrfach-exponentielles Abklingverhalten charakterisieren.

Die in der unteren Grafik dargestellte Verteilung der gewichteten Differenzen von experimenteller und angepaßter Abklingkurve (Residuen) sowie die Ergebnisse des  $\chi^2$ -Tests, des Durbin-Watson-Tests und des F-Tests (Signifikanz der Existenz mehrerer Abklingzeiten) berechtigen zu einer Annahme von drei fluoreszierenden Komponenten.

Wie weiterführende konzentrationsabhängige Fluoreszenzmessungen sowie die Untersuchung bei Verwendung Deaggregation verursachender Lösungsmittel ergaben, kann die lange Abklingzeit von  $\tau_1 \approx 12$  ns den Monomeren, die beiden anderen Zeiten  $\tau_2 \approx 2$  ns und  $\tau_3 \approx 200$  ps Aggregaten zugeordnet werden.



**Bild 5:** Zeitaufgelöste normierte Spektren einer HpD-PBS-Lösung in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdosis (80 mW, 514 nm). Zeitintervalle: I: (0,1–1,0) ns; II: (1–7) ns; III: (0–7) ns ( $t = 0$  im Kurvenmaximum). Das Spektrum in Intervall III entspricht näherungsweise dem stationären HpD-Fluoreszenzspektrum.

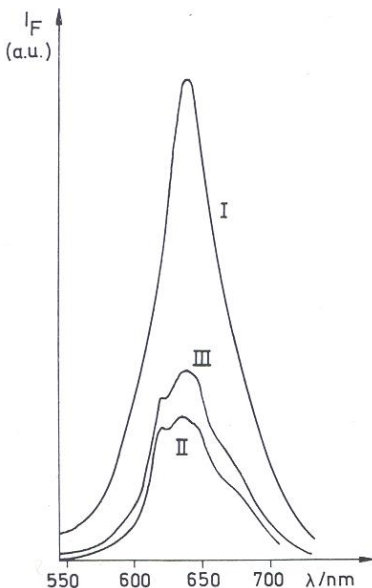
**Zeitaufgelöste Fluoreszenzspektren**

Unterliegt HpD einer starken Lichteinstrahlung oder wird die Strahlungsdosis der Fluoreszenzanregungsstrahlung erhöht, ändert sich das Abklingverhalten. Insbesondere ist infolge Photobleaching eine Reduktion der Monomerfluoreszenz (Abnahme von  $A_1$ ) sowie eine relative, aber auch absolute Zunahme der 2 ns-Komponente zu beobachten, die auf eine Generation fluoreszierender Photoprodukte mit ähnlicher spektraler und zeitlicher Charakteristik wie die von HpD-

Aggregaten zurückzuführen ist. In Bild 5 sind zeitaufgelöste Fluoreszenzspektren in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdosis dargestellt, die dies verdeutlichen.

Die Einteilung der Zeitintervalle wurde so gewählt, daß das Intervall III nahezu den gesamten Zeitbereich zwischen zwei aufeinanderfolgenden Anregungsimpulsen umfaßt und somit ein Maß für die gesamte mittlere Intensität darstellt, während das Intervall I mit 0,1 ns  $< t < 1,0$  ns vorwiegend die Komponenten mit kurzer Abklingzeit erfaßt. Intervall II überdeckt den Zeitbereich 1 ns  $< t < 7$  ns.

**Bild 6:** Zeitaufgelöste Spektren (I: [0,1–1,2] ns; II: [1,2–7,0] ns; III: [0–8] ns) einer bestrahlten HpD-PBS-Lösung (800 J, HBO 200)



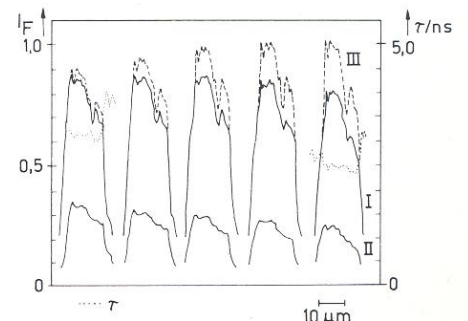
Wie aus dem Bild erkennbar ist, entsteht bei Bestrahlung eine zusätzliche Fluoreszenzbande bei etwa 640 nm, die sich durch eine kurze Abklingzeit auszeichnet. Wie weiterführende Untersuchungen belegen, ist die Generation dieser Bande außer von der Strahlungsdosis und der Anregungswellenlänge auch von der HpD-Konzentration und dem Sauerstoffgehalt der Probe abhängig [8]. Die Fluoreszenzintensität bei 640 nm fällt nach Erreichen eines Maximalwertes bei weiterer Bestrahlung infolge von Degradationsprozessen wieder ab (Tabelle 2).

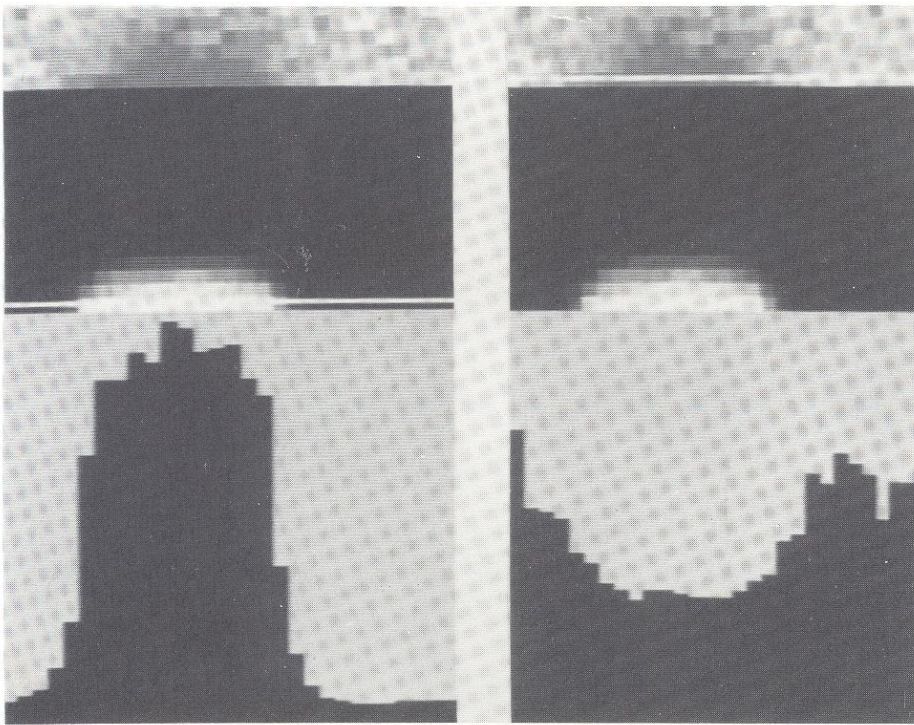
Zeitaufgelöste Spektren einer  $10^{-4}$  M HpD-PBS-Lösung, die der Bestrahlung mit einer Quecksilber-Hochdrucklampe (HBO 200, Narva Berlin) ausgesetzt war, zeigt Bild 6. Die Bestrahlungsdosis betrug 800 J. In allen Zeitbereichen dominiert die 640 nm-Fluoreszenz der Photoprodukte. Wie die Entfaltung der entsprechenden Abklingkurve ergab, beträgt der Anteil der kurzlebigen Komponenten  $A_2$  (2 ns)  $\approx 65\%$  und  $A_3$  (200 ps)  $\approx 28\%$ , während der Monomeranteil nur noch mit  $A_1$  (12 ns)  $\approx 7\%$  beiträgt.

Mit der vorgestellten Mikroskopanordnung (Bild 2) erfolgten zeit- und orts aufgelöste Fluoreszenzmessungen an HpD-inkubierten Ehrlich-Ascites-Carcinom (EAC)-Zellen [10]. Die Fluoreszenzintensität wurde über den gesamten roten Spektralbereich gemittelt. Bei einer verwendeten HpD-Konzentration in einer Zellsuspension ( $5 \times 10^6$  Zellen/ml) von 10  $\mu\text{g/ml}$  konnten deutliche, räumlich strukturierte Zellfluoreszenzen beobachtet werden, die auf eine unterschiedliche HpD-Anlagerung an die Zytomembran und im Zytoplasma/Zellkern zurückzuführen sind. Autofluoreszenz der Zellen und Streulichtanteil waren vernachlässigbar.

Wie Bild 7 zu entnehmen ist, konnte eine Zellfluoreszenz in einem Bereich von  $(20 \pm 2)$   $\mu\text{m}$  in gutem Kontrast zur Fluoreszenz des umgebenden HpD-haltigen Lösungsmittels registriert werden. Wie das  $\tau^*$ -Bild zeigt, erfolgt an der Zellmembran eine bevorzugte Anlagerung kurzlebiger Komponenten. Die wiederholte Ab rasterung des Zellareals (Linien-scan) bewirkt photoinduzierte Änderungen des Abklingverhaltens. Zunehmend dominieren die kurzlebigen Komponenten in-

**Bild 7:** Photoinduzierte Änderungen der orts aufgelösten Fluoreszenzintensität und der orts aufgelösten  $\tau$ -Werte (gepunktete Linie) in Abhängigkeit von Zeitintervallen und der Bestrahlungsdosis einer HpD-markierten EAC-Zelle (fünfmal die gleiche Zelle nacheinander vermessen). I: (0,7–3,6)ns; II: (3,6–6,5) ns; III: (0–8) ns;  $P = 7 \mu\text{W}$ ,  $\lambda_{\text{EXC}} = 514 \text{ nm}$ . Die Abnahme der Fluoreszenzintensität (fading) im Intervall II von Messung zu Messung ist auf das Ausbleichen der Monomere zurückzuführen. Die Zunahme im Intervall III läßt sich durch die Generation von Photoproduktion mit kurzer Abklingzeit erklären (kurzlebige Fluoreszenzkomponenten nur in III enthalten).





**Bild 8:** Zweidimensionales Rasterbild eines Teils einer HpD-inkubierten EAC-Zelle (Schrittweite 1  $\mu\text{m}$ ). Oben:  $\tau^*$  (x,y), darunter:  $I_F$  (x,y); im unteren Teil Histogramme entlang der eingezeichneten Linien. Intervallfestlegung wie bei Bild 7.

folge der Photoproduktgeneration, was mit einer Reduzierung des  $\tau^*$ -Wertes verbunden ist. Ein 2D-Bild einer HpD-inkubierten EAC-Zelle zeigt Bild 8.

### In-vivo Messung

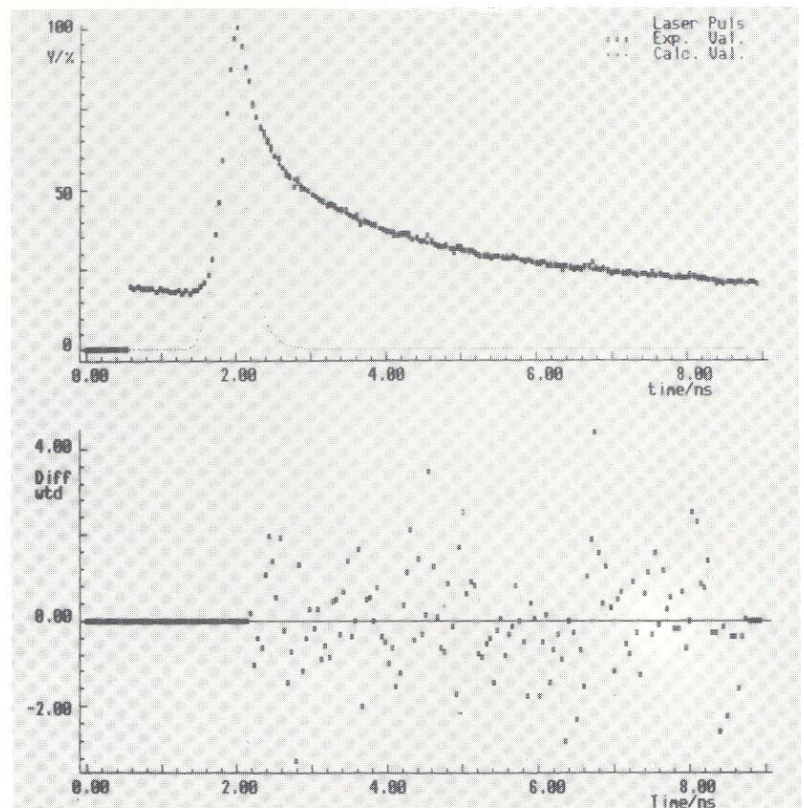
Für in-vivo Messungen wurden narkotisierte Mäuse mit einem freigelegten soliden Ehrlichcarcinom verwendet, denen zuvor 20 mg/kg HpD i.p. injiziert wurden. Das Fluoreszenzlicht wurde nach Unterdrückung von Streustrahlung mit dielektrischen Schichten per Lichtleitbündel zum Eintrittsspalt des Monochromators geführt. Die Fluoreszenz zeigt ein mehrfach-exponentielles Abklingverhalten (Bild 9), wobei die Entfaltung eine Überlagerung fluoreszierender Spezies mit  $\tau_1 \approx 15 \text{ ns}$  und  $\tau_2 \approx 1,4 \text{ ns}$  ergab sowie die Existenz einer sub-ns-Zeitkonstante, die jedoch mit Werten von  $\approx 2 \text{ ps}$  eher geringfügigen Streulichtanteilen zugeordnet werden kann. Wie die Messungen weiterhin zeigten, liegt in der Tumorumgebung ein höherer Monomeranteil (größerer relativer Anteil der Amplitude  $A_1$ ) als im Carcinom vor. Dies kann einerseits auf eine erhöhte Aggregatakkumulation innerhalb des Tumorgewebes zurückgeführt werden, insbesondere kovalent gebundene Dimere weisen eine bevorzugte Tumoranlagerung auf [9]. Andererseits können aber auch durch die Fluoreszenzanregungsstrahlung bevorzugt im Tumorgewebe Photoprodukte generiert werden, da hier eine

höhere HpD-Konzentration (höhere Absolutwerte  $A_i$ ) als in der Umgebung vorliegt [11].

### Schlußfolgerungen

Die vorgestellten Ergebnisse zeigen, daß die beschriebenen Meßanordnungen geeignet sind, zur Aufklärung von wesentlichen Fluoreszenzeigenschaften, hier von Tumormarkern, sowohl in Lösung als auch in biologisch-medizinischen Objekten (Zellen, Gewebe) beizutragen.

Insbesondere konnte eine genauere zeitliche und spektrale Charakterisierung von Bestandteilen des Porphyringemisches HpD getroffen und durch orts aufgelöste Messungen das Anlagerungsverhalten dieser Fluorophore an die Zytomembran von Tumorzellen sowie die bevorzugte Akkumulation im Tumorgewebe untersucht werden. Infolge der tumorspezifischen Anlagerung von HpD ist durch Fluoreszenzmessungen die Möglichkeit einer Diagnose maligner Geschwülste gegeben. Dabei sind photoinduzierte Änderungen des Fluoreszenzverhaltens von HpD infolge Ausbleichen und Photoproduktgeneration zu beachten.



**Bild 9:** In-vivo Fluoreszenzabklingkurve,  $\lambda_F = 650 \text{ nm}$ , vier Stunden nach HpD-Applikation (20 mg/kg) eines freigelegten soliden Ehrlichcarcinoms. Drei Abklingzeiten können ermittelt werden, wobei die sub-ns-Komponente auf geringfügige Streulichtanteile zurückzuführen ist.

- [1] Cundall, R. B.; Dale, R. E. (eds.): Time-Resolved Fluorescence Spectroscopy in Biochemistry and Biology. Plenum Press New York, London, 1983
- [2] Becker, W.: Time-Resolved Luminescence Spectroscopy by Time-Correlated Single Photon Counting Using Mode-Locked CW-Lasers. Preprint 85-5 des ZOS der AdW der DDR, Berlin, 1985
- [3] Opfermann, J.: Globale Entfaltung der Fluoreszenzkinetik. Turbopascal-Programm. FSU Jena, 1988
- [4] Gärtner, W.; Gröbler, B.; Schubert, D.; Wabnitz, H.; Wilhelm, B.: Fluorescence Scanning Microscopy Combined with Subnanosecond Time Resolution. Exp. Techn. Phys. **36** (1988) S. 443-451
- [5] Sheppard, C. J. R.; Wilson, T.: Depth of Field in the Scanning Microscope. Optics Lett. **3** (1978) S. 115-117
- [6] Wijnaendts van Resandt, R. W.; Marsman, H. J. B.; Kaplan, R.; Davoust, J.; Stelzer, E. H. K.; Stricker, R.: Optical Fluorescence Microscopy in Three Dimensions: Microtomography. J. Microsc. **138** (1985) S. 29-34
- [7] Doiron, D. R.; Gomer, C. J.: Porphyrin Localization and Treatment of Tumors. Liss. N.Y., 1983
- [8] König, K.: Beiträge zur selektiven Photochemotherapie und optischen Diagnostik von Tumoren. Promotion A, Jena 1989
- [9] Kessel, D.: Proposed Structure of the tumor-localizing fraction of HpD. Photochem. Photobiol. **2** (1986) S. 193-196
- [10] Bugiel, I.; König, K.; Wabnitz, H.: Investigation of Cells by Fluorescence Laser Scanning Microscopy with Subnanosecond Time Resolution. Laser in the Life Sci. **3** (1989) S. 47-53
- [11] König, K.; Wabnitz, H.; Dietel, W.; Zenkevich, E.; Frolov, A. A.; Kochubeev, G. A.: Fluorescence decay and triplet lifetime in the case of photoproduct formation. J. Photochem. Photobiol. B, eingereicht

## Summary

The present fluorescence measuring set based on the highly sensitive photon counting uses picosecond laser pulses to record decay processes with a temporal resolution of 300 ps and fluorescence spectra. When combined with a microscope these time-resolved fluorescence measurements can be effected with a spatial resolution of 0,6  $\mu\text{m}$ . Possible applications of this method are outlined exemplifying analyses of haemato-porphyrine derivative in solution, cell

suspensions and in vivo examination, special importance being attached to photo-induced alterations.

*Anschrift der Verfasser:*

*Dr. Karsten KÖNIG  
Dr. Heidrun WABNITZ  
Friedrich-Schiller-Universität Jena  
Sektion Physik  
Max-Wien-Platz 1  
Jena, 6900*

## Saubermacher aus Hamburg

### Резюме

Описываемая аппаратура для флуоресценции на базе высокочувствительного счета одиночных фотонов обеспечивает с использованием пикосекундных лазерных импульсов регистрацию процессов затухания с разрешающей способностью по времени 300 пс, а также спектров флуоресценции. Путем сочетания с микроскопом измерения флуоресценции подобного рода с разрешающей способностью по времени можно проводить с пространственной разрешающей способностью 0,6 мкм. Возможности применения этой методики поясняются на примере исследований производного гематопорфирина в растворах, клеточных суспензиях, а также на живом организме с особым учетом фотоиндуцированных изменений.

Maschinelle Reinigung und Desinfektion ist den manuellen Verfahren deutlich überlegen: Dosiermenge, Temperaturhöhe und -konstanz werden automatisch geregelt. Menschliches Fehlverhalten ist weitgehend ausgeschlossen.

Voraussetzung dafür ist der Einsatz von exakt auf Maschinen und Programmabläufe abgestimmten Reinigungs- und Desinfektionsmitteln, die die Chemische Fabrik Dr. Weigert mit ihrer umfangreichen Palette an Spezialprodukten von neodisher® für Laboratorien aller Anwenderbereiche zur Reinigung und Desinfektion von Gläsern und Geräten aber auch von Tierkäfigen und Gebäuden anbietet. Umfangreiche Forschungen und eine über 30jährige enge Zusammenarbeit mit Maschinenherstellern garantieren höchsten Problemlösungsstandard, gleichbleibende Spitzenqualität und vollen Materialschutz.

Die breite Produktpalette für maschinelle Verfahren wird durch schaumarme manuelle Reiniger ergänzt. Bei einer Tauchbad-Vorreinigung wird der nachfolgende maschinelle Prozeß nicht durch Schaumbildung beeinträchtigt.

Da die Anforderungen, die Wasserqualitäten, die technischen Abläufe und Möglichkeiten in jedem Labor grundsätzlich verschieden sind, läßt sich eine optimale Problemlösung oft nur durch individuelle Analyse, Beratung und Abstimmung

des Produkteinsatzes erarbeiten. Dazu stehen erfahrene Anwendungs- und Verfahrensberater zur Verfügung, die auch schwierigste Probleme lösen.

Mit ihrem weigomatic®-System stellt die Hamburger Firma gleichzeitig die perfekte Dosier- und Steuertechnik für maschinelle Reinigungs- und Desinfektionsverfahren zur Verfügung. Dieses flexible Baukastensystem verbindet Standardisierung mit individueller Anpassung und ermöglicht unkomplizierte Änderungen und Erweiterungen.

Ein regelmäßiger Service und schnelle Hilfe im Störfall gewährleisten in Verbindung mit der hohen Qualität einen jederzeit sicheren und wirtschaftlichen Betriebsablauf. Ein versierter und erfahrener Fachaußendienst steht im ständigen Einsatz, wenn es um Beratung, Ursachenforschung, Fehlersuche, Verfahrenssicherheit und -optimierung geht.

Und das alles bei weitem nicht nur im Labor. In Forschungsinstituten, Krankenhäusern, Großküchen, Bäckereien, und Brauereien, in Pharmazie und Kosmetikbetrieben, in der Milchwirtschaft, der Lebensmittel- und Getränkeindustrie sowie in zahlreichen anderen Einrichtungen haben sich die Hamburger Saubermacher weltweit bewährt.

(Chemische Fabrik Dr. Weigert, Mühlenhagen 85, Postfach 280140, D-2000 Hamburg 26)