



Kurzbericht

**Modellregion Bioökonomie im Rheinischen Revier
Kompetenzzentrum zur Biologischen Transformation der Materialwissenschaft
und Produktionstechnik (Bio4MatPro).**

**Bio4Monitoring
Bio4MatPro – BL5-1 – Ankerpeptid basierte Überwachung von
Leichtbaustrukturen**

Förderkennzeichen: 031B1155

Zuwendungsempfänger: Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen

Institut für Strukturmechanik und Leichtbau (SLA)
Herr Univ.-Prof. Dr.-Ing. Kai-Uwe Schröder
Wüllnerstraße 7
52062 Aachen

Institut für Biotechnologie (ABBt)
Prof. Dr. rer. nat. Ulrich Schwaneberg
Worringerweg 3
52074 Aachen

Lehrstuhl für Bildverarbeitung (LfB)
Prof. Dr.-Ing. Volkmar Schulz
Kopernikusstraße 16
52074 Aachen

Projektlaufzeit: 01.01.2022 – 30.06.2024 (inkl. 3 Monate Verlängerung)

Projektleitung: Herr Univ.-Prof. Dr.-Ing. Kai-Uwe Schröder

Autoren: Kai-Uwe Schröder
Patrick J. Bakkes
Johannes Stegmaier

Das diesem Bericht zugrundeliegende BMBF-Forschungsvorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) unter dem Förderkennzeichen 031B1155 gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

1. Aufgabenstellung

Das Projekt Bio4Monitoring ist Teil des Kompetenzzentrums zur Biologischen Transformation der Materialwissenschaft und Produktionstechnik, kurz Bio4MatPro, und befasst sich mit der Entwicklung neuartiger Messsysteme zur Bauzustandsüberwachung von Leichtbaustrukturen. Das Konsortium aus den RWTH-Aachen-Instituten SLA, ABBt und LfB hat seine jeweiligen Kernkompetenzen in den Bereichen Strukturmechanik und Leichtbau, Biotechnologie sowie Bildgebung und Computer Vision gebündelt, um neuartige Technologien aufbauend auf biobasierten Beschichtungen für die Bauteilzustandsüberwachung auf Proof-of-Concept-Level zu liefern. Solche biobasierten Systeme sind in der Anwendung kosteneffizienter, nachhaltiger in der Nutzung, einfacher und flexibler als bestehende Systeme und besitzen daher ein großes Marktpotenzial.

Die einzelne Forschungseinrichtung ist jeweils hauptverantwortlich für die Entwicklung einer Projektlinie: **SLA–Bio4Strain**, **ABBt–PepCrack** und **LfB–BioMeasure**. Allerdings gibt es in den einzelnen Teilarbeitspaketen zahlreiche Schnittpunkte; die erforderlichen bi- und trilateralen Beiträge werden durch die räumliche Nähe der drei Projektpartner begünstigt. Die Projektlinien fließen am Ende zur Entwicklung eines industriell anwendbaren Gesamtkonzepts zusammen. Dieses sollte im Anschluss durch ein neu zu gründendes Start-Up zur Serienreife gebracht und vertrieben werden. Das Projekt besteht aus drei Entwicklungslinien:

- (1) **Bio4Strain**: Entwicklung eines Messverfahrens basierend auf einer biobasierten Beschichtung zur in-situ Dehnungsmessung an Leichtbaustrukturen.
- (2) **PepCrack**: Entwicklung einer selektiv haftenden Peptidbeschichtung zur frühzeitigen Entdeckung von Rissen in Leichtbaustrukturen.
- (3) **BioMeasure**: Entwicklung des zugehörigen Mess- und Datenverarbeitungssystems mit dem Ziel einer automatisierten Messung.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Das **Institut für Strukturmechanik und Leichtbau der RWTH Aachen (SLA)** verfolgt einen ganzheitlichen Ansatz bestehend aus der Auslegung und Optimierung strukturmechanischer Komponenten. Die dabei entwickelten analytischen und numerischen Modelle werden durch Experimente validiert. Diese bilden wiederum die Grundlage für das messtechnische Know-how des SLAs. Eines der Kernthemen des SLAs ist das Feld Structural Health Monitoring (SHM) und Ermüdung^{1,2,3,4}.

¹ Schröder, K-U. und Preisler, A. (2020): Leichtbau 4.0: Grundlagen und Potentiale des Structural Health Monitorings. In: Frenz, Walter (Hrsg.): Handbuch Industrie 4.0: Recht, Technik, Gesellschaft. 1. Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer.

² Preisler, A. (2020): Efficient Damage Detection and Assessment Based on Structural Damage Indicators. Aachen, Germany, RWTH Aachen University, Faculty of Mechanical Engineering. PhD thesis.

³ Preisler, A. et al. (2019): Faseroptische Schadensüberwachung von GFK-Blattfedern mittels struktureller Schadensindikatoren. In: Wiedemann, Martin; Melz, Tobias (Hrsg.): Smarte Strukturen und Systeme – Tagungsband des 4SMARTS-Symposiums. Düren: Shaker Verlag, S. 299–309.

⁴ Huang, T. et al. (2018): A baseline-free structural damage indicator based on node displacement of structural mode shapes. In: Journal of Sound and Vibration 433, p. 366–384.

Das SLA beschäftigt sich hier zum einen mit der ermüdungsgerechten Auslegung von Bauteilen und zum anderen mit der Überwachung der strukturellen Integrität im Betrieb. Im Rahmen von Bio4Monitoring bringt das SLA seine Kompetenzen in der Versuchstechnik, der Strukturmechanik und Strukturüberwachung ein und beschäftigt sich vor allem mit der Interpretation der Messdaten. Es ist verantwortlich für die Durchführung und Auswertung aller mechanischen Tests sowie für die physikalische-basierte Signalbewertung des zu entwickelnden tragbaren Messgeräts.

Das **Institut für Biotechnologie der RWTH Aachen (ABBt)** ist führend auf dem Gebiet des Protein-Engineering (gelenkte Evolution und rationales Design) für materialwissenschaftliche Anwendungen und Biokatalyse. Die wissenschaftliche Kompetenz des Schwaneberg-Teams basiert auf einer Reihe von entwickelten Methoden und Technologieplattformen für die gelenkte Evolution, welche Diversitätsgenerierungsmethoden, die Entwicklung von Hochdurchsatz-Screening-Systemen und computergestützte Werkzeuge umfassen. So wurde bis heute eine Plattform mit >100 verschiedenen Ankerpeptiden sowie >20 bioadhäsiven Peptiden generiert. Die Adhäsionspeptiden-Plattform bietet die Möglichkeit, Peptide bei Raumtemperatur in Wasser (z. B. durch Dip-Coating oder Spin-Coating) an Materialien wie Polypropylen (PP), Polyethylenterephthalat (PET), Polystyrol (PS), Zähne, Blätter, Früchte und andere Oberflächen zu binden^{5,6}. Es wurden robuste gelenkte Evolutionsprotokolle (PePevo) für Ankerpeptide entwickelt und veröffentlicht, um Ankerpeptide für die Anwendungsanforderungen maßzuschneidern⁷.

In den Forschungslinien PepCrack und Bio4Strain setzt ABBt seine Expertise ein, um geeignete Ankerpeptide für die selektive Beschichtung von Zielmaterialien zu identifizieren. In gelenkten Evolutionskampagnen sollte die Bindung der Ankerpeptidkandidaten an die ausgewählten Materialien mit Hilfe der bewährten KnowVolution-Strategie optimiert werden. Die KnowVolution (Knowledge gaining directed evolution)⁸ Strategie wird verwendet, um Ankerpeptidvarianten mit deutlich verbesserten selektiven Oberflächenbindungseigenschaften zu erzeugen. KnowVolution wird in vier Phasen unterteilt: (1) Identifizierung potenziell vorteilhafter Aminosäure Positionen; (2) Bestimmung vorteilhafter Aminosäure-Austausche; (3) Computergestützte, strukturelle Analyse; und (4) Rekombination vorteilhafter Substitutionen, um Verbesserungen zu maximieren. Die integrierte computergestützte Analyse liefert ein molekulares Verständnis der Auswirkungen jeder identifizierten Position und minimiert den experimentellen Screening-Aufwand bei gleichzeitiger Maximierung der Peptidverbesserungen.

Der **Lehrstuhl für Bildverarbeitung der RWTH Aachen (LfB)** verfügt über umfassende Expertise zur Konzeption von Messsystemen im Bereich der industriellen Bildverarbeitung und der robusten, quantitativen Auswertung der erhobenen Messdaten. Vorarbeiten umfassen die Quantifizierung und Bewertung von Überhöhungen im 3D-Druck^{9,10}, die Anomalie-Erkennung

⁵ Meurer, R. A. et al. (2017): Biofunctional Microgel-Based Fertilizers for Controlled Foliar Delivery of Nutrients to Plants, In: Angewandte Chemie (International ed. in English) 56, Nr. 26, p. 7380–7386.

⁶ Rübsam, K. et al. (2017): Anchor peptides: A green and versatile method for polypropylene functionalization. In: Polymer 116, Nr. 15, p. 124–132.

⁷ Rübsam K. et al. (2018): Directed evolution of polypropylene and polystyrene binding peptides. In: Biotechnology and bioengineering 115, Nr. 2, p. 321–330.

⁸ Cheng, F. et al. (2015): Directed evolution 2.0: improving and deciphering enzyme properties. In: Chemical communications (Cambridge, England) 51, Nr. 48, p. 9760–9772.

⁹ Zur Jacobsmühlen, J. et al. (2016): In-Situ Surface Roughness Measurement of Laser Beam Melted Parts: a Feasibility Study of Layer Image Analysis. In: DDMC: Fraunhofer Direct Digital Manufacturing Conference : Berlin, March 16-17, 2016 : proceedings. Stuttgart : Fraunhofer Verlag, S. 231–236.

¹⁰ Zur Jacobsmühlen, J. et al. (2017): Compound quality assessment in laser beam melting processes using layer images. In: 2017 IEEE International Instrumentation and Measurement Technology Conference (I2MTC) : IEEE, 2017 - 2017, p. 1–6.

bei industriellen Bauteilen^{11,12}, sowie die bildbasierte Auswertung mikroskopischer Fluoreszenz-Aufnahmen unterschiedlicher biochemischer Proben^{13,14}. Das Methodenspektrum umfasst dabei sowohl sämtliche klassische Bildverarbeitungstechniken als auch aktuelle forschungsnahe AI-basierte Methoden. Im Rahmen von Bio4Monitoring bringt der LfB seine Kompetenzen zur Konzeption bildbasierter Messsysteme sowie zur industriellen Bildverarbeitung ein und beschäftigt sich vor allem mit der Erfassung und quantitativen Auswertung der Bilddaten. Der LfB ist gemeinsam mit ABBt und SLA für den Aufbau und die Etablierung des bildgestützten Messsystems zur Fluoreszenzdetektion verantwortlich und entwickelt die dazugehörige automatische Bildauswertung.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Die Bearbeitung des Vorhabens **031B1155** war im Förderzeitraum von 2 Jahren und 3 Monate durch die Bearbeitung von vier Arbeitspaketen und den entsprechenden Meilensteinen geplant (**Tabelle A**). Im Laufe der Projektlaufzeit wurde der Arbeitsplan zweimal angepasst.

Tabelle A.: Ursprünglicher Arbeitsplan.

Bio4Monitoring Arbeitspakete	Verantwortlich			21				2022				2023				
	ABBt	SLA	LfB	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
1 Bio4Strain																
1.1 Anforderungskatalog und Testdefinition	•	•	•													
1.2 Auswahl und Leistungscharakterisierung von Ankerpeptiden	•	•	•													
1.3 KnowVolution von AP zur Verbesserung der Oberflächenabdeckung auf 1 Zielmaterial aus AP 1.1.	•	•	•													
1.4 Formulierung der analytischen Grundlagen zur Dehnungsberechnung		•	•													
1.5 Numerische Modellierung des Versuchsaufbaus		•	•													
1.6 Validierung der Dehnungsmessung unter unterschiedlichen Lastkombinationen		•	•													
1.7 Evaluierung von Bio4Strain im Kontext der Bauteilzustandsüberwachung von Leichtbaustrukturen	•	•	•													
2 PepCrack																
2.1 Anforderungskatalog und Testdefinition	•	•	•													
2.2 Auswahl und Leistungscharakterisierung von Ankerpeptiden	•	•	•													
2.3 KnowVolution von AP zur Verbesserung der Oberflächenabdeckung auf 1 Zielmaterial aus AP 2.1.	•	•	•													
2.4 Formulierung der analytischen Grundlagen zur Rissbewertung		•	•													
2.5 Validierung der Rissdetektion im Vergleich zu Konkurrenzprodukten im Ermüdungsversuch		•	•													
2.6 Evaluierung von PepCrack im Kontext der Bauteilzustandsüberwachung von Leichtbaustrukturen	•	•	•													
3 BioMeasure																
3.1 Experimenteller Bildgebungsaufbau		•	•													
3.2 Optimierung der Fluoreszenz-Bildgebung		•	•													
3.3 Bildverarbeitungs-Algorithmen		•	•													
3.4 Vergleich mit geometrischem System		•	•													
3.5 Bewertung der Robustheit		•	•													
4 Überführung in ein industriell-anwendbares Konzept																
4.1 Integration in das Gesamtkonzept Strukturüberwachung	•	•	•													
4.2 Produktentwicklung. Inkl. Unterauftrag: Entwicklung von AP-Fluorophor-Konjugat-Sprühformulierungen	•	•	•													
4.3 Gründung des Start-Ups	•	•	•													
Meilensteine																
MS1 Analytische Grundlagen zur Auswertung des Dehnungssignal formuliert		•	•													
MS2 Analytische Grundlagen zur Rissbewertung (Risslänge, Risstiefe, K-Faktor) formuliert		•	•													
MS3 Erfolgreiche automatisierte Bildverarbeitung von Bio4Strain und PepCrack.		•	•													
MS4 Festlegung auf 1 bis 3 Varianten zur Produktentwicklung von Bio4Strain für mindestens ein relevantes Material	•	•	•													
MS5 Festlegung auf 1 bis 3 Varianten zur Produktentwicklung von PepCrack für mindestens ein relevantes Material	•	•	•													
MS6 Grundlegende Software zur automatisierten Bildverarbeitung zur weiteren Produktentwicklung entwickelt		•	•													

Aufgrund von Verzögerungen bei der Anwerbung und Wechsel von Personal verzögerte sich die Arbeit. In der Anfangsphase des Projekts ist es den Projektpartnern des Lehrstuhls für Biotechnologie (ABBt) sowie dem Lehrstuhl für Bildverarbeitung (LfB) trotz starker

¹¹ Rippel, O. et al. (2020): Modeling the Distribution of Normal Data in Pre-Trained Deep Features for Anomaly Detection. 28.05.2020

¹² Rippel, O. et al. (2021): Estimating the Probability Density Function of New Fabrics for Fabric Anomaly Detection. In: Proceedings of the 10th International Conference on Pattern Recognition Applications and Methods: SCITEPRESS - Science and Technology Publications, 2021 - 2021, p. 463–470.

¹³ Hoppe Alvarez, L. et al. (2019): Deformation of Microgels at Solid-Liquid Interfaces Visualized in Three-Dimension. In: Nano letters 19, Nr. 12, p. 8862–8867.

¹⁴ Bug, D. et al. (2019): Supervised and Unsupervised Cell-Nuclei Detection in Immunohistology. In: 2nd MICCAI Workshop on Computational Pathology (COMPAY).

Bemühungen nicht gelungen, qualifiziertes Personal zur Bearbeitung des Projekts zu finden. In August 2022 ist es ABBt gelungen, einen geeigneten Kandidaten (PostDoc) zu finden, welcher Vollzeit das Projekt betreuen konnte. Von Seiten des LfB musste ein neuer Hauptverantwortlicher (Professor) gesucht werden, um die Projektaufgaben zu übernehmen und qualifiziertes Personal zu finden. Der Lehrstuhl für Bildverarbeitung beschäftigte ab September 2022 eine/n Vollzeitbeschäftigte/n (MSc. 1 von 01.09.2022 – 15.03.2023 und MSc. 2 von 01.06.2023 – 30.06.2024).

Zudem stellte sich in der ersten Phase des Projekts heraus, dass das angestrebte Messprinzip in der Entwicklungslinie Bio4Strain nicht realisierbar war. In Absprache mit dem Projektträger wurde daraufhin das Projekt umstrukturiert, wobei weitere Forschungsaktivitäten im Teilbereich Bio4Strain gestrichen und Ressourcen auf die Bereiche PepCrack und BioMeasure verlegt wurden (**Tabelle B**).

Die Verzögerung bei der Einstellung von Personal führte zu einer Verzögerung bei der Anschaffung des erforderlichen industriellen hochauflösenden Kamerasystems, das für den Nachweis fluoreszierender Ankerpeptide unverzichtbar ist. Die ersten Fluoreszenzbilder mit dem Kamerasystem konnten daher erst im April 2023 aufgenommen werden. Eine unerwartete Abweichung von der spezifizierten Leistung des gekauften LED führte dabei zu einer unerwünschten Überlappung zwischen dem Anregungslicht und der Fluoreszenzemission, wodurch die vom Ankerpeptid emittierte Fluoreszenz maskiert wurde. Um dies zu minimieren, musste ein zusätzlicher Bandpassfilter beschafft werden. Die Verzögerung der ersten Bildaufnahmen wiederum hatten zur Folge, dass die Algorithmenentwicklung erst nach der Bereitstellung einiger Testaufnahmen aufgenommen werden konnte.

Tabelle B: Überarbeiteter Arbeitsplan nach Umstrukturierung des Projekts.

Bio4Monitoring	Arbeitsanteil in PM															
	ABbt			SLA		LfB		2022				2023				24
Arbeitspakete	E13	E13	E8	HiWi	E13	HiWi	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	
1 Bio4Strain																
1.1 Anforderungskatalog und Testdefinition			1.5	1.5												
1.2 Auswahl und Leistungscharakterisierung von Ankerpeptiden	1.0															
1.3 Validierung des Messprinzips der Intensitätsänderung	2.0	4.0	3.0	4.0	1.0											
2 PepCrack																
2.1 Anforderungskatalog und Testdefinition			1.5	1.5												
2.2 Auswahl und Leistungscharakterisierung von Ankerpeptiden	1.0															
2.3 Identifizierung und Ausarbeitung eines Geschäftsmodells			1.5	1.5												
2.4 KnowVolution von AP zur Verbesserung der selektiven Bindung an Zielmaterialien aus AP2.1	8.0															
2.5 Formulierung der analytischen Grundlagen zur Rissbewertung			2.0	2.0												
2.6 Validierung der Rissdetektion im Vergleich zu Konkurrenzprodukten im Ermüdungsversuch	1.0	3.5	3.0	3.5	1.0	2.0										
2.7 Evaluierung von PepCrack im Kontext der Bauteilzustandsüberwachung von Leichtbaustrukturen	2.0	3.0	3.0	2.0	2.0	2.0										
3 BioMeasure																
3.1 Experimenteller Bildgebungs Aufbau					1.0	4.0										
3.2 Optimierung der Fluoreszenz-Bildgebung					1.0	4.0										
3.3 Bildverarbeitungs-Algorithmen					4.0											
3.4 Vergleich mit geometrischem System		1.0	1.0	2.0	2.0											
3.5 Bewertung der Robustheit		1.0	1.0	1.0	2.0											
4 Überführung in ein industriell anwendbares Konzept																
4.1 Integration in das Gesamtkonzept Strukturüberwachung	1.0	2.0	2.0	2.0	2.0											
4.2 Produktentwicklung, Inkl. Unterauftrag: Entwicklung von AP-Fluorophor-Konjugat-Sprühformulierungen	2.0	4.0	4.0	1.0												
4.3 Gründung des Start-Ups	2.0	2.0	2.0	2.0												
Gesamt	20.0	27.0	6.0	27.0	18.0	18.0										

Meilensteine	
MS1	Messprinzip der Dehnungsmessung durch Intensitätsänderung validiert (Abbruchkriterium Bio4Strain)
MS2	1 bis 3 Geschäftsmodelle formuliert
MS3	Messprinzip der Rissdetektion mittels selektiv haftender Fluorophore validiert (Abbruchkriterium PepCrack)
MS4	Festlegung von 1 bis 3 Varianten zur Produktentwicklung von PepCrack auf Basis der überprüften Geschäftsmodelle
MS5	Erfolgreiche automatisierte Bildverarbeitung von PepCrack
MS6	Grundlegende Software zur automatisierten Bildverarbeitung zur weiteren Produktentwicklung entwickelt

Aufgrund der technischen Komplikationen und der verschiedenen Verzögerungen im Projekt wurde am 12.07.2023 ein Treffen mit Vertretern von Projektträger angesetzt, bei dem die realistisch erfüllbaren Meilensteine neu formuliert wurden (**Tabelle C**). Die Projektpartner und Projektträger hielten eine Ausgründung des Projekts zu diesem Zeitpunkt nicht für sinnvoll.

Die weiteren Arbeiten konzentrierten sich darauf, das Forschungsprojekt so weit wie möglich voranzutreiben, um TRL5 zu erreichen (**Tabelle C**). Um den letzten Meilenstein erfolgreich ab

zu schließen, wurde eine kostenneutrale Verlängerung um 3 Monate (01.04.2024 – 30.06.2024) beantragt und bewilligt. Die eingetretene Verzögerung hatte keine Auswirkungen auf die Partner und gefährdete nicht das Erreichen der neu formulierten Projektziele (**MS1 - MS5**).

Tabelle C: Neu formulierte Meilensteine mit entsprechendem Translation Readiness Level (TRL).

TRL	Meilenstein
1	MS1 - Bindungseigenschaften von fluoreszierenden Ankerpeptiden an ausgewählte Metalle und schützende Oberflächenbeschichtungen.
2	MS2 - Materialspezifische Bindung von fluoreszierenden Ankerpeptiden zum Nachweis von Defekten in Oberflächenbeschichtungen.
3	MS3 - Demonstration/Visualisierung von Oberflächendefekten durch fluoreszierende Ankerpeptide mittels Fluoreszenzmikroskopie.
4	MS4 - Demonstration/Visualisierung von Oberflächendefekten mittels fluoreszierender Ankerpeptide unter Verwendung eines industriellen Kamerasystems.
5	MS5 - Demonstrator: Visualisierung auf einem beweglichen/rollenden Kamerasystem unter Verwendung von Proben mit mehreren verschiedenen Arten von Oberflächendefekten

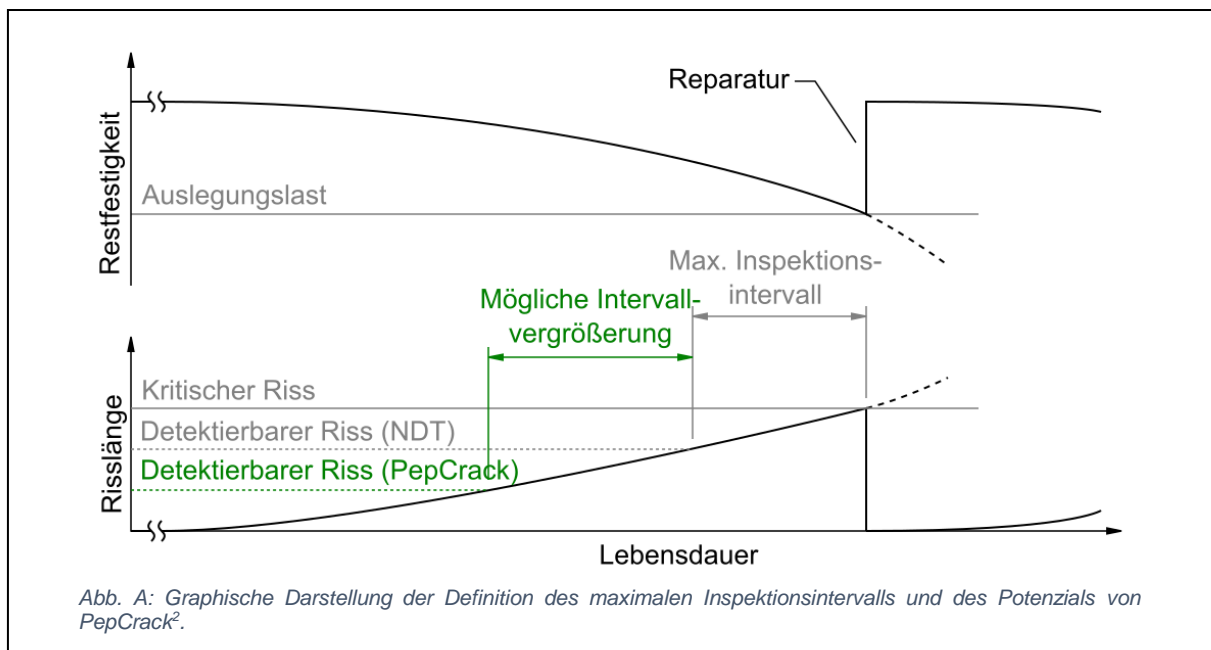
4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde Angaben bekannter Konstruktionen, Verfahren und Schutzrechte

Eine der größten Herausforderungen des modernen Leichtbaus ist der Umgang mit Unsicherheiten, wie z.B. der Streuung von Materialparametern, den Abweichungen zwischen realen und angenommenen Lasten und der möglichen Präsenz von Defekten¹⁵. Diese Unsicherheiten können zu einer frühzeitigen Rissinitiierung und -wachstum führen und gefährden somit den sicheren Betrieb tragender Strukturen. Der Umgang mit diesen Unsicherheiten hat zu der Entwicklung von drei unterschiedlichen Auslegungsphilosophien geführt¹⁵. Das **Safe-Life** Konzept legt die Struktur unter Berücksichtigung sehr konservativer Sicherheitsfaktoren für eine festdefinierte Lebensdauer aus und vermeidet so durch eine deutliche Überdimensionierung die Präsenz von möglichen Schäden. Ein ausfallsicheres Design (**Fail-Safe**) toleriert das Auftreten von Beschädigungen, sofern ein redundanter Lastpfad vorhanden ist, ein Schadenswachstum verhindert wird und so die Sicherheit der Struktur auch im Schadensfall gegeben ist. Eine schadenstolerante Auslegung (**Damage Tolerant**) toleriert generell die Möglichkeit von Schädigungen, sofern diese durch wiederkehrende Inspektionen rechtzeitig detektiert und behoben werden können. Hier wird die Ersparnis von Gewicht durch den Aufwand der regelmäßigen Inspektionen erkaufte.

Die Prüftechnik, insbesondere die **zerstörungsfreie Prüfung (ZfP)**, gewinnt im Leichtbau immer mehr an Bedeutung. Zum einen finden bei der Auslegung einer neuen Struktur unzählige Versuche auf Coupon-, Komponenten- und Verbundebene statt. Diese Versuche werden oft mit aufwendigen bzw. teuren Prüfverfahren, wie die **Digital Image Correlation**

¹⁵ Wiedemann, J.: Leichtbau (2007): Elemente und Konstruktion. 3. Aufl. Berlin, Heidelberg : Springer (Klassiker der Technik).

(DIC), überwacht, um lokale Dehnungen erfassen zu können. Zum anderen führt die zunehmende Bedeutung des Leichtbaus zu einer Vielzahl von Strukturen, die schadenstolerant ausgelegt sind. Eine schadenstolerante Auslegung erlaubt generell die Möglichkeit von Schädigungen, sofern diese durch wiederkehrende Inspektionen rechtzeitig detektiert und behoben werden können. Es steigt somit auch der generelle Inspektions- und Überwachungsbedarf. Neben der einfachen visuellen Inspektion ist unter anderem das Farbeindringverfahren zur Risserkennung weit verbreitet. Ein wichtiges Kriterium ist hier die Genauigkeit und Sensitivität des Prüfverfahrens. Je zuverlässiger bereits kleine Risse detektiert werden können, umso größer kann das Inspektionsintervall gewählt werden (**Abb. A**) oder alternativ das Strukturgewicht weiter reduziert werden.



Kerntechnologie von Bio4Monitoring ist die Entwicklung **maßgeschneiderter Beschichtungssysteme basierend auf fluoreszierenden Ankerpeptiden**. Ankerpeptide (Ap) sind kleine Peptide, die mit verschiedenen Materialoberflächen wie z. B. Metallen, Legierungen oder Polymeren eine stoffschlüssige Bindung eingehen können. Mit der bewährten KnowVolution-Strategie⁸, die in der AG Schwaneberg etabliert wurde, kann die Bindung in Bezug auf Stärke, Spezifität und Reversibilität individuell maßgeschneidert werden. Um die gebundenen Ankerpeptide sichtbar zu machen, werden sie genetisch an ein fluoreszierendes Reportermolekül wie z. B. grün fluoreszierendes Protein (GFP) fusioniert.

Die Betrachtung von gezielt entwickelten **Ankerpeptiden** in Kombination mit einem **Fluoreszenz-Tracker** führt zu einer komplett neuen Produktkette im Bereich der ZfP. Ankerpeptide ermöglichen eine **selektive Haftung** an gewünschten Materialien. Ankerpeptide sind proteinbasierte Adhäsionspromotoren, die durch einfaches Eintauchen in Wasser bei Raumtemperatur oder Sprühen auf verschiedene Materialoberflächen aufgebracht werden können und so eine dichte Immobilisierung von funktionalen Einheiten (z. B.

Fluoreszenzreportern; $>10^6$ pro cm^2) auf diversen Oberflächen ermöglichen^{16,17,18}. Ankerpeptide sind nur 1 - 3 nm groß (100.000x dünner als ein Papierplatt) und können somit selbst in kleinste Risse eindringen und können in hoher Anzahl zu niedrigem Kosten produziert werden. So kann mit einem Gramm Ankerpeptid (1 €) eine dichte Peptid-Monolage auf einer Fläche von 600 m^2 erzeugt werden (Kosten pro m^2 0,0017 €). Durch Protein Engineering-Methoden wie der gelenkten Evolution können beispielsweise die Bindungsstärke, die thermische Beständigkeit sowie die Bindungsspezifität gezielt optimiert werden. Durch Fusion von Proteinen mit Ankerpeptiden können beispielsweise zusätzlich katalytisch aktive oder biologisch „erkennbare“ funktionale Oberflächen generiert werden^{19,20,21}.

Das Forschungsteam rund um Prof. Schwaneberg hat ein Peptid-Polymer-Evolutionsprotokoll (PePevo-Protokoll) für Ankerpeptide entwickelt und in einer gelenkten Evolutionskampagne des Ankerpeptids LCI und Tachystatin A2 zur verbesserten Polypropylen- und Polystyrolbindung in Gegenwart von Tensiden validiert⁷. Diese Technologie wurde vor kurzem durch die Entwicklung eines Zelloberflächen-Display-Screening-Systems weiterentwickelt, bei dem zunächst Varianten des adhäsionsfördernden Peptids auf der Oberfläche einer Zelle präsentiert werden. Durch anschließendes Screening von 10 Millionen Ankerpeptid-Varianten können so innerhalb eines Tages Peptide mit erhöhter Bindungsstärke identifiziert werden. Dies ermöglicht es, die Bindungsstärke von LCI an Polypropylen in einer einzigen Evolutionsrunde um das 12-fache zu erhöhen. Die entwickelten Peptid-Engineering-Protokolle sind auf jede Festkörperoberfläche anwendbar und können zur Anpassung der Peptiddichte auf der Zieloberfläche verwendet werden⁷. So können Ankerpeptide entwickelt werden, die eine Bindung mit einer Aluminiumoberfläche eingehen, sich aber vom z. B. Epoxidlack schlicht abwischen lassen. Durch eine solche selektive Bindung werden unter anderem komplett neue Formen der Rissdetektionen ermöglicht. Der Fluoreszenz-Tracker erfüllt dabei in diesem Kontext die Aufgabe, den Riss sichtbar zu machen. Dabei ist eine deutlich erhöhte Sensitivität gegenüber herkömmlichen Prüfverfahren (wie das Farbeindringverfahren) zu erwarten, so dass Inspektionsintervalle angepasst werden können (**Abb. A**).

Die Verwendung von Ankerpeptiden als Adhäsionsvermittler stellt eine kostengünstige Strategie für In-situ-Dehnungsmessungen (**Bio4Strain**) und die Rissfrüherkennung (**PepCrack**) dar. In der Forschungslinie **Bio4Strain** wird von den Wissenschaftlern der Biotechnologie und des Leichtbaus gemeinsam eine Technologieplattform für die biologische Transformation von Dehnungsmesssystemen entwickelt, die auf der Konstruktion oben genannter fluoreszierender Ankerpeptide für metallische und Polymer-Oberflächen aufsetzt (bis zu sechs Werkstoffsysteme; aus etablierte Adhäsionsvermittlerbibliothek). Die Bio4Strain-Plattform ermöglicht die echtzeitfähige Dehnungsmessung auf großflächigen Strukturen aus Leichtmetalllegierungen oder Faserverbundwerkstoffen auf flexible, kostengünstige und allgemein anwendbare Art und Weise. Die Dehnungsmessung ist ein Schlüsselement in der Test- und Zulassungsprozedur von Bauteilen, da Spannungen und Dehnungen die Lebensdauer eines Bauteils bestimmen. Die zu entwickelnde Technologie besitzt das

¹⁶ Sanghvi A. B. et al. (2005): Biomaterials functionalization using a novel peptide that selectively binds to a conducting polymer. In: Nature materials 4, Nr. 6, p. 496–502.

¹⁷ Iijima, K. et al. (2016): Surface functionalization of polymer substrates with hydroxyapatite using polymer-binding peptides. In: Journal of materials chemistry. B 4, Nr. 21, p. 3651–3659.

¹⁸ Mao, M. et al. (2024) Material-specific binding peptides empower sustainable innovations in plant health, biocatalysis, medicine and microplastic quantification. Chem Soc Rev., Jun 17;53(12): p. 6445-6510.

¹⁹ Care, A. et al. (2015): Solid-binding peptides: smart tools for nanobiotechnology. In: Trends in biotechnology 33, Nr. 5, p. 259–268.

²⁰ Bolivar, J. M. et al. (2017): Oriented Coimmobilization of Oxidase and Catalase on Tailor-Made Ordered Mesoporous Silica. In: Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids 33, Nr. 20, p. 5065–5076.

²¹ Schwinges, P. et al. (2019): A bifunctional dermaseptin–thanatin dipeptide functionalizes the crop surface for sustainable pest management. In: Green Chemistry 21, Nr. 9, p. 2316–2325.

Potenzial, eine kostengünstige, echtzeitfähige und oberflächenbasierte Dehnungsmessung für die Material- und die Bauteilprüfung im Allgemeinen bereitzustellen, die sich durch eine größere Anpassungsfähigkeit und einfachere Anwendung im Vergleich zu bestehenden Verfahren wie z. B. DIC auszeichnet. Dadurch ist diese Technologie grundsätzlich automatisierbar, was insbesondere in den Feldern der Qualitätssicherung, Wartung und Inspektion viele neue Anwendungsoptionen eröffnet.

In der Forschungslinie **PepCrack** sollte eine neuartige Technologie zur **Rissfrüherkennung** an metallischen Strukturen auf Basis von Ankerpeptiden entwickelt werden. Besonders bei metallischen Strukturen in der Luftfahrt wird derzeit ein großer Aufwand betrieben, um Risse zu erkennen. Ein großer Teil dieser Inspektionen wird ohne zusätzliche Hilfsmittel durchgeführt. Der Riss muss also mit dem bloßen Auge sichtbar sein. Diese Anforderung ist ein Kostentreiber bei der Festlegung der regelmäßigen Inspektionsintervalle. Um dem abzuweichen, wurde in der Forschungslinie PepCrack ein Beschichtungssystem basierend auf Ankerpeptiden entwickelt. Um Risse sichtbar zu machen, werden die fluoreszierenden Ankerpeptide zusätzlich mit der Fähigkeit zur selektiven Bindung an die metallische Oberfläche und nicht an den Decklack entwickelt. Die PepCrack-Technologie ist ein relativ einfaches und kostengünstiges System, das die Erkennung kleiner Risse in einem frühen Stadium durch einfache Fluoreszenzdetektion ermöglicht. Eine selektive Markierung von Rissen ist noch nicht realisiert und nach unserem Kenntnisstand bieten für diese vor-Ort-Anwendungen nur biologische Bausteine wie Peptide/Proteine wie Antikörper die strukturelle Vielfalt für eine feste und selektive Bindung. In der Luftfahrtanwendung wird dadurch die Sicherheit verbessert, und die Zeitintervalle zwischen den Inspektionen könnten erhöht werden (Kosteneinsparung). Im Laufe des Projekts wurden jedoch Erkenntnisse und Einsichten gewonnen, die den Schwerpunkt von PepCrack von einer neuartigen Methode zur Erkennung von Ermüdungsrissen in Metallen auf eine neue Methode zur Erkennung von Defekten in Schutzschichten auf Metallen lenkten.

In der Entwicklungslinie **BioMeasure** (LfB) wurde das Kamera- und Messsystem etabliert, das die Fluoreszenzdetektion vornimmt. Das Fluoreszenzsignal wurde nach Bildaufnahme verwendet, um Defekte innerhalb der Proben automatisiert erkennen zu können. Hierfür wurden Anomaliedetektionsalgorithmen entwickelt, die auf einem populären, quelloffenen Vision-Language-Modell (VLM) basieren. Dieses Modell erlaubt eine präzise und effiziente Verarbeitung von visuellen Daten, auch bei geringer Datenmenge. Es wurde speziell für die Anomalieerkennung optimiert, um eine schnelle Anpassung an neue Probenarten und eine robuste Detektionsqualität zu gewährleisten. Entwicklungsschwerpunkte des Messsystems waren dabei die Robustheit und Automatisierbarkeit des Verfahrens, sowie der mögliche Einsatz des entwickelten Systems in weiteren Anwendungsfeldern, was durch die Verwendung und Bereitstellung von Open-Source Software ermöglicht wird. Über eine grafische Benutzerschnittstelle kann zudem eine interaktive Kalibrierung vor Beginn der Messung durchgeführt werden und das Verfahren anschließend schnell und automatisch ablaufen.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Kooperationen mit anderen Stellen bezüglich der Bio4Monitoring Thematik fanden nicht statt.



Abschlussbericht

**Modellregion Bioökonomie im Rheinischen Revier
Kompetenzzentrum zur Biologischen Transformation der Materialwissenschaft
und Produktionstechnik (Bio4MatPro).**

**Bio4Monitoring
Bio4MatPro – BL5-1 – Ankerpeptid basierte Überwachung von
Leichtbaustrukturen**

Förderkennzeichen: 031B1155

Zuwendungsempfänger: Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen

Institut für Strukturmechanik und Leichtbau (SLA)
Herr Univ.-Prof. Dr.-Ing. Kai-Uwe Schröder
Wüllnerstraße 7
52062 Aachen

Institut für Biotechnologie (ABBt)
Prof. Dr. rer. nat. Ulrich Schwaneberg
Worringerweg 3
52074 Aachen

Lehrstuhl für Bildverarbeitung (LfB)
Prof. Dr.-Ing. Volkmar Schulz
Kopernikusstraße 16
52074 Aachen

Projektlaufzeit: 01.01.2022 – 30.06.2024 (inkl. 3 Monate Verlängerung)

Projektleitung: Herr Univ.-Prof. Dr.-Ing. Kai-Uwe Schröder

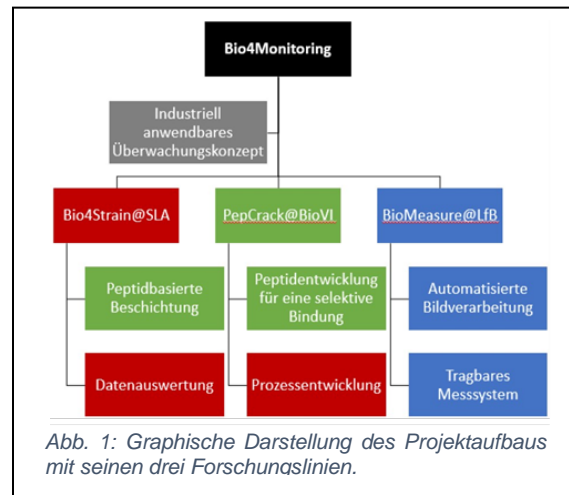
Autoren: Kai-Uwe Schröder
Patrick J. Bakkes
Johannes Stegmaier

Das diesem Bericht zugrundeliegende BMBF-Forschungsvorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) unter dem Förderkennzeichen 031B1155 gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

1. Darstellung der Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen, mit Gegenüberstellung der Ziele

Das Projekt setzt sich aus drei Entwicklungslinien zusammen, die am Ende zu einem markttauglichen Structural-Health-Monitoring-(SHM)-Gesamtsystem zusammengeführt werden (**Abb. 1**). Die drei Entwicklungslinien sind:

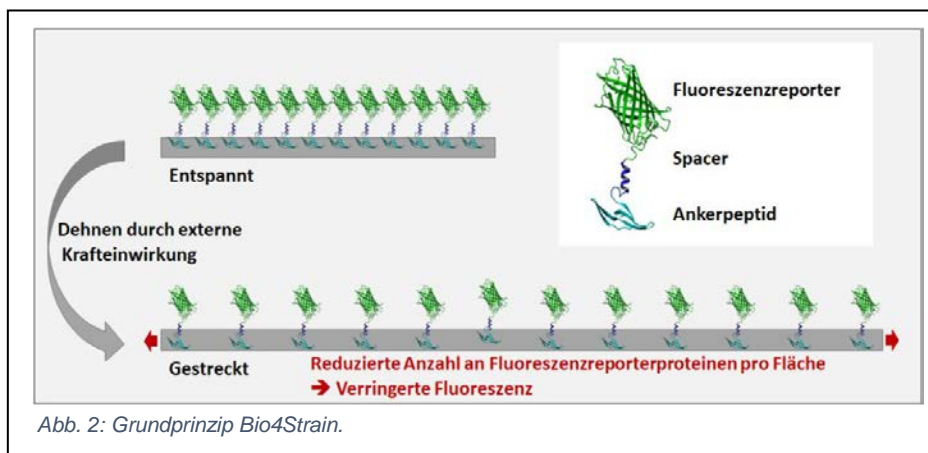
- **AP1 Bio4Strain:** Entwicklung eines Messverfahrens basierend auf einer biobasierten Beschichtung zur in-situ Dehnungsmessung an Leichtbaustrukturen
- **AP2 PepCrack:** Entwicklung einer selektiv haftenden Peptidbeschichtung zur frühzeitigen Entdeckung von Rissen in Leichtbaustrukturen.
- **AP3 BioMeasure:** Entwicklung des zugehörigen Mess- und Datenverarbeitungssystems mit dem Ziel einer automatisierten Messung und Auswertung über moderne Machine Learning Algorithmen.



AP1 – Bio4Strain.

Status: Abgeschlossen – nicht realisierbar (SLA, ABBt, LfB).

Das Bio4Strain-System sollte eine neuartige Methode zur Zustandsüberwachung von Leichtbaustrukturen darstellen, aufbauend auf biobasierten Beschichtungen. Bio4Strain sollte die in-situ Dehnungsmessung durch fluoreszierende Ankerpeptide ermöglichen, die auf Materialoberflächen stoffschlüssig binden und durch einfaches Versprühen aufgetragen werden könnten (**Abb. 2**). Die Dehnungsmessung sollte in Echtzeit auf großflächigen Strukturen aus Leichtmetalllegierungen oder Faserverbundwerkstoffen erfolgen, was eine kostengünstige und flexible Anwendung ermöglichen würde. Die Messung der Leuchtstärke eines Flächenelements im belasteten und unbelasteten Zustand würde als Maß für die Dehnung dienen und könnte kostspielige Techniken wie die Digital Image Correlation (DIC) ersetzen.



Im folgenden Abschnitt werden die durchgeführten Arbeiten in der Projektklinie Bio4Strain vorgestellt. Da sich bereits in den ersten Arbeitsmonaten eine Nichtmachbarkeit der beantragten Art und Weise der biobasierten Dehnungsmessung ergeben hat, wird im Bericht insbesondere darauf eingegangen, wie der Schluss der Nichtmachbarkeit zustande kommt. Weiterhin wurde das Gesamtvorhaben in Abstimmung mit dem Projektträger umstrukturiert, sodass die ursprünglich geplanten Ressourcen von Bio4Strain in PepCrack überführt wurden.

AP 1.1 – Bio4Strain: Anforderungskatalog und Testdefinition.

Status: Abgeschlossen (100% fertiggestellt - SLA).

Das Ziel des Vorhabens war die Realisierung eines kosteneffizienten, einfachen und flexiblen Systems, das großflächige Strukturen in Echtzeit zerstörungsfrei auf ihre Dehnung überwacht. Die biobasierte Beschichtung ermöglicht nicht nur eine nachhaltige Nutzung, sondern auch eine breitspurige Bindung an verschiedene Materialien, während das Kamerasystem eine hochgenaue und (quasi) echtzeitfähige Fluoreszenzdetektion gewährleistet. Ein Anforderungskatalog an das Gesamtsystem wurde erstellt, eine Testmatrix mit Kombinationen verschiedener mechanischer Tests (Zug, Schub, Lochprobe) und repräsentativer Materialien aus diversen Industriezweigen (Aluminium, Stahl, Edelstahl, CFK) wurde erstellt.

Anforderungen an das Gesamtsystem in der Anwendung: Das optische Dehnungsmesssystem sollte mehrere Anforderungen erfüllen, um den Anwendungsfall bestmöglich abzudecken. Die Dehnungsmessung sollte in Echtzeit auf großflächigen Strukturen erfolgen und ein optisches Messverfahren nutzen, um eine zerstörungsfreie Prüfung zu ermöglichen. Um die Kosten im Vergleich zu bestehenden Systemen zu reduzieren, sollte eine günstige Sprühlösung entwickelt werden, die eine schnelle und großflächige Verarbeitung erlaubt. Die Nachhaltigkeit des Systems wurde durch die Verwendung einer biologisch abbaubaren Beschichtung gewährleistet. Zudem sollte das System einfacher und flexibler sein als bestehende Systeme, indem aufwendiges Auswaschen vereinfacht und eine aufwendige Kalibrierung vermieden werden.

Technische Anforderungen an die biobasierte Beschichtung: Die biolumineszierende Beschichtung sollte breitspurig an möglichst viele Materialien binden, um eine breite Anwendungspalette abzudecken. Um eine hohe Leuchtdichte auf den Bauteilen zu gewährleisten, soll darauf geachtet werden, dass das Photobleaching minimal ist. Zudem bewirkt Photobleaching zwischen zwei Messungen eine gemessene Intensitätsänderung und somit eine Störung der Messgröße. Außerdem ist eine homogene Leuchtdichte anzustreben, um genaue Messungen durchführen zu können.

Technische Anforderungen an das Messsystem: Das Messsystem sollte die Fluoreszenzdetektion durch ein Kamerasystem ermöglichen. Die Messung sollte mechanische Dehnungen in einem Bereich von mindestens 10^{-6} bis 10^{-4} % erfassen können. Um die Dehnungsinformationen anschaulich darzustellen, soll der Dehnungsverlauf als Farbverlauf auf das Bauteilbild abgebildet werden. Die Aufnahme von Bildserien und deren Auswertung sollte (quasi) in Echtzeit erfolgen, sodass die Resultate innerhalb weniger Minuten nach dem Test verfügbar sind. Das Messsystem sollte robust gegenüber Tageslicht sein, um eine zuverlässige Funktionalität unter realen Bedingungen zu gewährleisten. Zudem soll eine automatisierte Kalibrierung vor Beginn des Messablaufs implementiert werden, um eine hohe

Genauigkeit und Reproduzierbarkeit zu erzielen. Aufwendige manuelle Kalibrierungen sollen nach Möglichkeit vermieden werden.

Anwendungsbereiche: Das zu entwickelnde optische Dehnungsmesssystem soll sich für verschiedene Anwendungsbereiche eignen. Es kann in der Material- und Bauteilprüfung, insbesondere in Laboratorien und Zulassungsstellen, zur Qualitätssicherung, Wartung und Inspektion von Oberflächen eingesetzt werden. Die einfache Handhabung soll es zu einer vielseitigen Lösung für unterschiedlichste Industriezweige machen.

Materialauswahl: Um möglichst anwendungsnah zu testen, wurden die folgenden gängigen Leichtbaumaterialien für Strukturbauteile aus den Branchen Luftfahrt, Automobil, Anlagenbau sowie dem Baugewerbe identifiziert:

- Aluminium AlMg3 (Al5754-H22; mittelfest; Maschinenbau, Druckbehälterbau)
- Aluminium AlZnMgCu1.5 (Al7075-T651; hochfest; verbreitet in der Luftfahrt)
- Stahl St1203 (Karosserie-Blech für die Automobilindustrie)
- Stahl St1203 verzinkt (Karosserieblech für die Automobilindustrie)
- Edelstahl 1.4301 V2A (weitere Anwendungsbereiche in diversen Branchen)
- Kohlefasergewebe mit Epoxy L20 Matrix (Faserverbundstrukturen)

AP1.2 – Bio4Strain: Auswahl und Charakterisierung von Ankerpeptiden (Ap).

Status: Abgeschlossen (100% fertiggestellt - ABBt).

Eine Reihe von 16 bifunktionellen Fusions-Proteinen, bestehend aus dem fluoreszierenden Protein eGFP (grün fluoreszierendes Protein: „Tracker“) und verschiedenen Ankerpeptiden (Ap), wurde in *E. coli* produziert und anschließend auf Haftung an Aluminium AL5754 und Stahl S235JR geprüft. Die am besten geeignete Kombination aus AL5754 und eGFP-Snakin1 wurde für Proof-of-Concept-Experimente zur Echtzeit-In-situ-Messung der Materialdehnung ausgewählt (**AP1.3**).

AP1.3 – Bio4Strain: Validierung des Messprinzips der Intensitätsänderung.

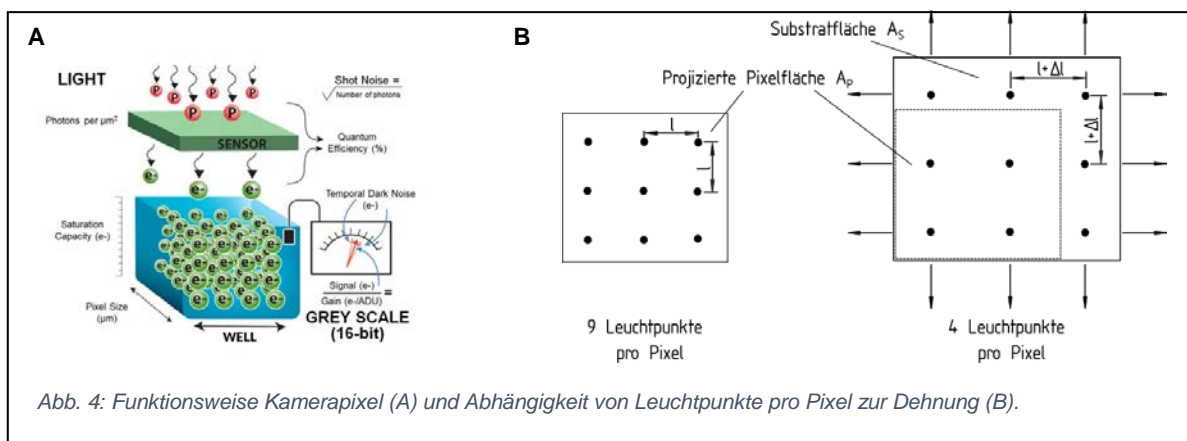
Status: Abgeschlossen, Proof-of-Concept nicht realisierbar (100% fertiggestellt – SLA, ABBt, LfB).

In den ersten Projektmonaten wurde maßgeblich am Proof-of-Concept des Bio4Strain Messprinzips gearbeitet, um den Beweis zu erbringen, dass mithilfe der Messgröße Leuchtintensitätsänderung (im Folgenden als Intensitätsänderung bezeichnet) ein quantitativer Zusammenhang zur mechanischen Dehnung gezogen werden kann. Das Vorgehen stützt sich dabei auf **theoretische Überlegungen** und **einen experimentellen Versuchsaufbau** in Form eines Zugversuchs unter einem Labormikroskop für Fluoreszenzaufnahmen. Beide Vorgehensweisen werden im Folgenden dargestellt.

Theoretische Machbarkeitsuntersuchung des Messprinzips der Intensitätsänderung.

Um den theoretischen Zusammenhang zwischen Dehnung und Intensitätsänderung und der Umwandlung in ein digitales Bild herzuleiten, muss zunächst verstanden werden, wie ein Kamera-Pixel Licht aufnimmt und in ein digitales Signal umwandelt (**Abb. 3A**). Vereinfacht gesagt, werden zunächst Photonen von Oberflächen oder beispielsweise fluoreszierenden

Molekülen ausgesandt und gelangen dann in den Pixel. Daraufhin werden diese Photonen in Elektronen umgewandelt und für eine definierte Zeit (die Belichtungszeit) in einem Kondensator gespeichert. Nach der Belichtungszeit wird die kapazitive Gesamtladung der Elektronen abgelesen, und das analoge Signal wird über einen Analog-Digital-Wandler (AD) diskretisiert. Die Anzahl der Diskretisierungsschritte wird durch die sogenannte Bit-Tiefe ausgedrückt und beschreibt sinngemäß, in wie viele Graustufen ein Foto unterteilt werden kann. Diese Umwandlung von analogem zu digitalem Signal mit einer bestimmten Auflösung limitiert jedoch auch die messbare Intensitätsänderung (alias die Änderung zwischen zwei Graustufen), welche technisch aufgelöst werden kann, und stellt einen der technischen Flaschenhälse dar, welcher im weiteren Verlauf eine Rolle spielen wird.



Die einfallende Anzahl der Photonen in den Pixel ist maßgeblich von drei Faktoren abhängig:

1. Der Grundfläche des Pixels, welches Photonen aufnimmt
2. Der Anzahl Leuchtpunkte auf der vom Pixel projizierten Fläche, welche Photonen aussenden
3. Der Rate, mit der einzelne Leuchtpunkte Photonen aussenden

Gehen wir davon aus, dass Punkt 1. und 3. vorerst konstant sind. So lässt sich zwischen der Anzahl der Leuchtpunkte n_L pro konstanter projizierter Pixelfläche A_p (hier definiert als Leuchtdichte L) ein direkter Zusammenhang zur Dehnung ziehen. Dehnt man das Material um einen Betrag Δl bezogen auf die Grundlänge zwischen zwei Leuchtpunkten l ergibt sich eine Flächenänderung des Substrats bis zur gedehnten Fläche A_s und somit eine breitere Verteilung der konstanten Anzahl an Leuchtpunkten n_L auf der Fläche (**Abb. 3B**). Dabei gilt für die Flächen vor und nach der aufgetragenen Dehnung:

$$A_p = n_x l * n_y l = n_L l^2 \quad \text{mit } n_L = n_x n_y = \text{const.}$$

$$A_s = n_x (l + \Delta l) * n_y (l + \Delta l) = n_L (l + \Delta l)^2$$

Wobei die Anzahl der Punkte in x-Richtung n_x und in y-Richtung n_y auf der jeweiligen Fläche durch die gleichmäßige Dehnung homogen verteilt werden. Mithilfe der mechanischen Materialdehnung ε

$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{l}$$

$$A_S = n_L l^2 (1 + \varepsilon)^2 = A_P (1 + \varepsilon)^2$$

lässt sich der formelmäßige Zusammenhang zwischen den Flächen vor und nach der Dehnung in Abhängigkeit der Dehnung beschreiben. Für die Leuchtdichte vor der Dehnung L_P sowie nach der Dehnung L_S lässt sich hiermit der umgekehrt proportionale Zusammenhang zur Dehnung zeigen.

$$L_P = \frac{n_L}{A_P} \quad \text{und} \quad L_S = \frac{n_L}{A_S}$$

$$\frac{L_S}{L_P} = \frac{A_P}{A_S} = \frac{1}{(1 + \varepsilon)^2}$$

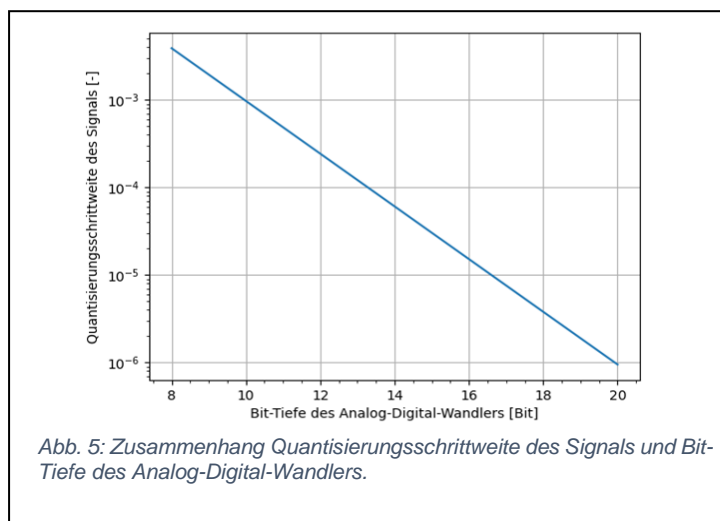
Für die Leuchtdichtenänderung bzw. die Leuchtintensitätsänderung ΔL gilt somit der folgende Zusammenhang.

$$\Delta L = L_S - L_P = L_P \frac{1}{(1 + \varepsilon)^2} - L_P = -\frac{2\varepsilon + \varepsilon^2}{(1 + \varepsilon)^2} L_P$$

$$\Delta L \sim -2\varepsilon \quad \text{für} \quad \varepsilon \ll 1$$

Nimmt die Dehnung zu, wird die Intensitätsänderung negativ und die Intensität nimmt ab. Bei Stauchung des Materials nimmt die Intensität zu. Der direkt proportionale Zusammenhang der zu messende mechanische Dehnung und der Messgröße Intensitätsänderung ist somit gegeben und liegt in der Größenordnung der Dehnung selbst bei üblicherweise 10^{-6} bis 10^{-4} %. Solch geringe Änderungen sind sehr schwer zu messen, da es einer sehr hohen Messauflösung des Systems bedarf und die Änderungen stark von Störeffekten wie Umgebungslicht überlagert werden. Es muss somit angenommen werden, dass die Störeffekte-Größenordnungen größer als die eigentliche Messgröße sind. Eine weitere Herausforderung verbirgt sich in der Umwandlung des Signals innerhalb der Kamera.

Wie bereits zuvor beschrieben, muss das analoge Signal durch eine elektronische Schaltung namens Analog-Digital-Wandler in ein digitales Signal umgewandelt werden. Dabei ergibt sich beispielsweise bei konventionellen Kameras mit einer 8-Bit-Auflösung ein Messsignal, welches in $2^8 = 256$ Graustufen unterteilt wird, also eine Quantisierungsschrittweite des Signals von $3 \cdot 10^{-3}$ besitzt. In **Abb. 4** ist grafisch der Zusammenhang zwischen der Quantisierungsschrittweite und der Bit-Tiefe des AD-Wandlers innerhalb der Kamera dargestellt.

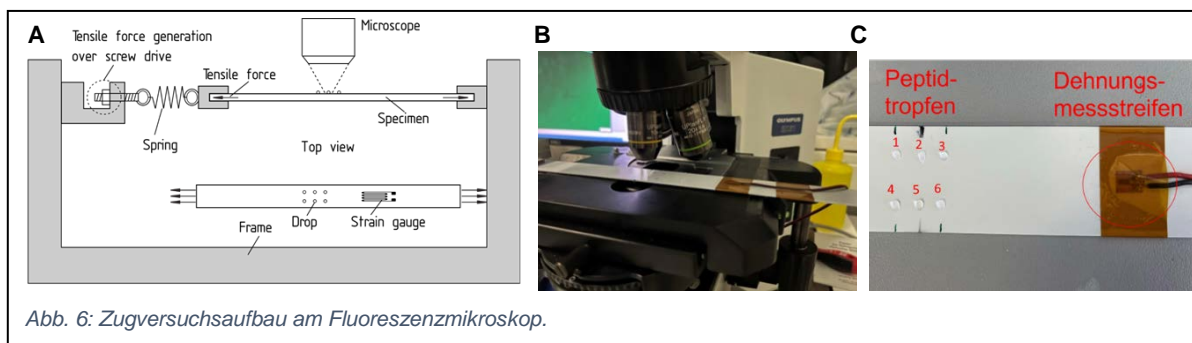


Hierbei fällt auf, dass für eine Abbildung von Messgrößenänderungen von 10^{-6} bis 10^{-4} % eine Bit-Tiefe von 20 Bit bis 14 Bit notwendig wären, um das Messsignal fehlerfrei zu diskretisieren. Kameras mit 16 Bit pro Kanal sind sehr selten und aufgrund der speziellen Anwendungen sehr preisintensiv. Stand Mitte 2022 konnte in Recherchen keine 20 Bit Kamera gefunden werden. Bezahlbare Industriekameras haben in der Regel eine Bit-Tiefe von höchstens 12 Bit. Somit ist die Messaufgabe einer Intensitätsänderung im geforderten Bereich nicht messbar und somit technisch in diesem Sinn nicht machbar.

Experimentelle Machbarkeitsuntersuchung

Parallel zu den theoretischen Überlegungen wurde eine ergänzende experimentelle Machbarkeitsstudie durchgeführt, um den Zusammenhang zwischen mechanischer Belastung und der Veränderung der Fluoreszenzintensität bei praktischen Versuchen zu untersuchen. Diese Experimente wurden mit einem Fluoreszenzmikroskop durchgeführt, da das Kamerasystem zum Zeitpunkt der Durchführung der Experimente noch nicht verfügbar war.

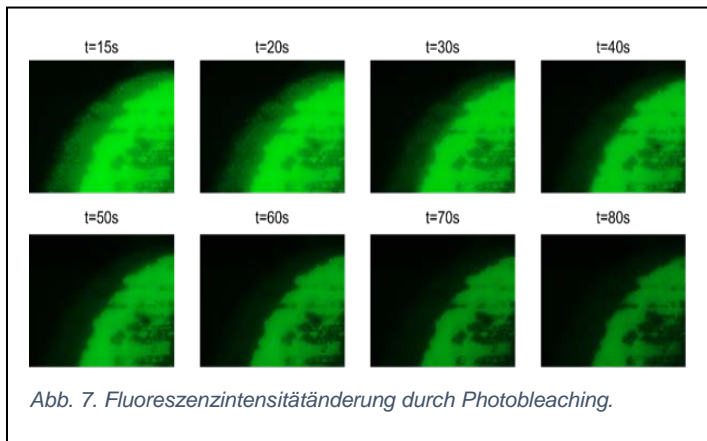
Um das Experiment am Mikroskop durchzuführen zu können, wurde ein steifer Rahmen aus *Item*-Profilen konstruiert, in den eine Zugprobe eines beliebigen Materials eingespannt und über eine Gewinde-Feder-Konstruktion mit hoher Zugkraft belastet werden konnte (**Abb. 5**). Der Zugprüfstand wurde so entworfen, dass er um ein immobiles Fluoreszenzmikroskop im Labor des Lehrstuhls für Biotechnologie montiert wurde. Dadurch wurde es ermöglicht, die Probe gleichzeitig mit dem Mikroskop zu untersuchen und eine definierte Krafteinleitung sowie Konstanthaltung vorzunehmen (**Abb. 5A und 5B**). Als Demonstrationsmaterial wurde ein Kunststoffstreifen ausgewählt, da dieser im Gegensatz zu Metallen eine geringe Steifigkeit aufweist und bereits bei geringeren Kräften hohe Dehnungen erreicht werden können. Zur Untersuchung wurden auf der Probe sechs Tropfen einer $1 \mu\text{M}$ -Konzentration eines MachHis Peptids mit einem Alexa 488 Fluorophor platziert und nach einer Einwirkzeit von 30 Minuten abgespült (**Abb. 5C**).



Zur Messung der mechanischen Dehnung wurde auf der Oberseite der Probe ein Dehnmesstreifen platziert, und die Dehnung wurde für jeden Belastungsschritt notiert. Die Probe wurde dabei zunächst mit einer Dehnung von $1838 \mu\text{m}/\text{m}$ und im zweiten Schritt auf $2850 \mu\text{m}/\text{m}$ belastet. Bei den Versuchen konnte eine Abnahme der Helligkeit in den Mikroskop-Bildern festgestellt werden. Allerdings traten Probleme bei der exakten Lokalisierung der gleichen Stellen zwischen den Belastungsschritten auf, da die Sichtausschnitte des Mikroskops etwa 1 mm^2 betragen. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Lasteinleitung durch die Apparatur funktioniert hat, die Handhabung und die Fokussierung unter dem Mikroskop erwies sich aber als sehr herausfordernd. Leider konnte keine direkte Abhängigkeit zwischen Dehnung und Intensitätsänderung festgestellt werden, da die Proben unter dem

Mikroskop ein starkes Photobleaching aufwiesen. Besonders die Bereiche, die der Bestrahlung durch das Mikroskop ausgesetzt waren, zeigten Photobleaching.

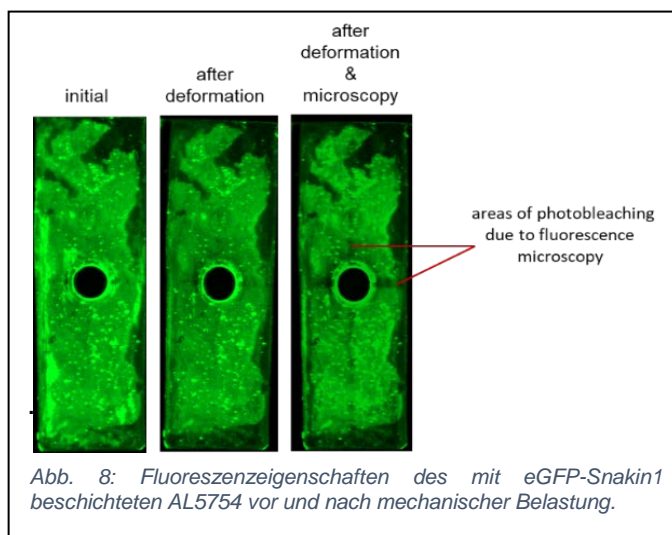
Um den Einfluss von Photobleaching durch Bestrahlung der Mikroskoplampe auf die Probe genauer zu untersuchen, wurde daraufhin ein Versuch bei einer konstanten Dehnung von 2850 $\mu\text{m}/\text{m}$ für eine Gesamtdauer von 80 Sekunden durchgeführt. Und alle 10 Sekunden ein Foto mit konstanter Belichtungszeit gemacht (**Abb. 6**). Hierbei fällt auf, dass über den Zeitraum eine mit dem Auge klar sichtbare Änderung der Intensität aufgrund von Photobleaching erkennbar ist.



Bei der Mikroskoplampe handelt es sich um ein hochenergetisches Licht, wodurch schon nach kürzester Zeit erste Schädigung des Fluorophors auftreten können. Die Auswirkungen auf die Intensitätsänderung durch jegliche Anregung des Fluorophors sind nicht direkt abzusehen, können aber als gravierend im Falle der Überlagerung von Mess- und Störsignal eingeschätzt werden.

Parallel dazu wurden am SLA Dehnungsversuche an einer metallischen „Propeller“-Probe aus AL5754 durchgeführt, die zuvor am Institut für Biotechnologie mit eGFP1-Snakin1 beschichtet worden war. Fluoreszenzbilder wurden mit dem Fluoreszenzmikroskop und einem Chemidoc-Imager aufgenommen. Die in **Abb. 7** gezeigten Fluoreszenzbilder wurden vor und nach der Belastung mit einem vorübergehend verfügbaren Chemidoc-Imager aufgenommen, welches normalerweise für Chemilumineszenzzwecke eingesetzt wird.

Die Ergebnisse weisen auf zwei wichtige experimentelle Komplikationen hin: (i) Heterogenität der Fluoreszenz der Ap-beschichteten Oberfläche, d. h. Bereiche mit signifikanten Fluoreszenzunterschieden aufgrund unregelmäßiger Ap-Haftung, und (ii) signifikantes Photobleaching, das bei der Fluoreszenzmikroskopie auftrat (kreuzförmiger Bereich). Diese intrinsischen Unregelmäßigkeiten in der Fluoreszenzintensität verhindern die Identifizierung und Quantifizierung von jeglichen Veränderungen der Fluoreszenzintensität, die auf die mechanische Belastung zurückzuführen sind.



Leider erwiesen sich alle Experimente, die durchgeführt wurden, um Änderungen der Fluoreszenzintensität mit der Materialdehnung zu korrelieren, als erfolglos. Außerdem stellte

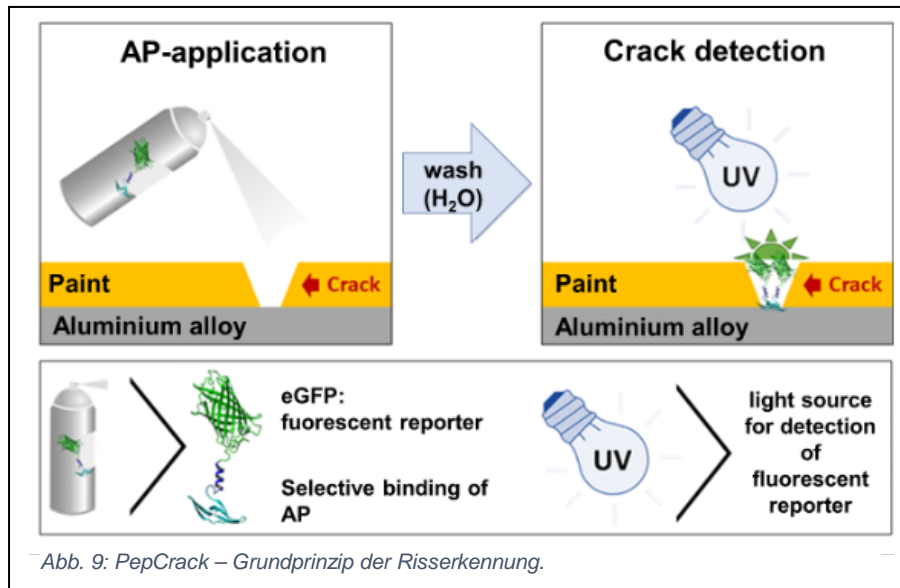
sich heraus, dass die erwarteten Messwerte um Größenordnungen unter den erwarteten Störungen liegen. Zudem sind konventionelle Industriekameras nicht in der Lage, Änderungen in der Größenordnung 10^{-4} bis 10^{-6} aufzunehmen, da hardwareseitig Bilder in der Regel mit einer Bittiefe von nicht mehr als 12 Bit (max. Unterteilung in 4096 Graustufen/Messwertschritte) gewandelt und abgespeichert werden. Dies genügt dem menschlichen Auge vollkommen, welches i.d.R. nur ca. 60 bis 80 Graustufen unterscheiden kann. Es bedürfte allerdings Kameras mit 20 Bit, um die gewünschte Intensitätsänderung von 10^{-6} (1.000.000 Grauwerte/Messwertschritte) sauber aufzulösen.

Die experimentellen, theoretischen und hardwarebedingten Limitierungen führten zu der Schlussfolgerung, dass es nicht möglich ist, die beobachteten Unterschiede in der Fluoreszenzintensität mit dem Ausmaß der Materialdehnung zu korrelieren. Diese Ergebnisse führten zu der Entscheidung, dass die Bio4Strain-Projektlinie nicht realisierbar war, was zu der Entscheidung führte, die Bio4Strain-Forschungslinie nicht weiterzuführen und sowohl den Schwerpunkt als auch die Ressourcen auf die Forschungslinie PepCrack zu verlagern. Nach Rücksprache und in Übereinstimmung mit dem Projektträger wurde das Bio4Monitoring-Projekt umstrukturiert und sein Schwerpunkt auf die Entwicklung der PepCrack- und BioMeasure-Technologie (**AP2** und **AP3**) ausgerichtet. **Hierbei ist es allerdings wichtig anzumerken, dass PepCrack nicht direkt vom Photobleaching betroffen ist, da die Defekterkennung eher auf qualitativen als auf quantitativen Messungen der Fluoreszenz beruht.**

AP2 – PepCrack.

Status: Erfolgreich abgeschlossen nach Umstrukturierung des Projekts und Neuformulierung von Meilensteinen (100% fertiggestellt – SLA, ABBt, LfB).

In der Forschungslinie PepCrack wurde eine neuartige Technologie zur Rissfrüherkennung an metallischen Luftfahrtstrukturen auf Basis von Ankerpeptiden entwickelt. Besonders bei metallischen Strukturen in der Luftfahrt wird derzeit ein großer Aufwand betrieben, um Risse zu erkennen. Ein großer Teil dieser Inspektionen wird ohne zusätzliche Hilfsmittel durchgeführt. Der Riss muss also mit dem bloßen Auge sichtbar sein. Diese Anforderung ist ein Kostentreiber bei der Festlegung der regelmäßigen Inspektionsintervalle. Um dem abzuweichen, wurde auf der Linie PepCrack ein Beschichtungssystem basierend auf Ankerpeptiden entwickelt. Um Risse sichtbar zu machen, wurden die fluoreszierenden Ankerpeptide mit der Fähigkeit zur selektiven Haftung an die metallische Oberfläche und nicht an den Decklack (**Abb. 8**) entwickelt. Die PepCrack-Technologie ist ein einfaches und kostengünstiges System, das die Erkennung kleiner Risse in einem frühen Stadium durch einfache Fluoreszenzdetektion ermöglicht.



AP 2.1 PepCrack: Anforderungskatalog und Testdefinition.

Status: Abgeschlossen (100% fertiggestellt – SLA).

Im Folgenden werden die Anforderungen an ein innovatives Gesamtsystem erläutert, das den Anforderungen an Effizienz, Nachhaltigkeit, Einfachheit und Flexibilität in der Anwendung gerecht wird. Im Fokus stehen die Entwicklung einer biobasierten Beschichtungstechnologie und eines präzisen Messsystems zur zerstörungsfreien Inspektion von Oberflächendefekten und Beschädigungen.

Anforderungen an das Gesamtsystem in der Anwendung: Das angestrebte Gesamtsystem soll eine Reihe wichtiger Merkmale aufweisen. Es soll kosteneffizienter sein als bestehende Systeme, was durch z.B. den Einsatz einer günstigen Sprühlösung ermöglicht wird, die eine schnelle und großflächige Verarbeitung erlaubt. Außerdem muss es nachhaltig sein, indem die Beschichtung biologisch hergestellt wird und biologisch abbaubar ist. Die Anwendung soll einfacher sein als bei bestehenden Systemen, die für die Risserkennung auf einen Farbentwicklungsschritt und umfangreiche Wasch-/Reinigungsvorgänge angewiesen sind. Die Flexibilität des Systems wird durch die Möglichkeit der Vor-Ort-Anwendung auf großen Flächen gewährleistet. Die Inspektion der Oberflächen soll zerstörungsfrei erfolgen und eine visuelle Inspektion oder eine automatisierte Inspektion durch ein Kamerasystem ermöglichen.

Technische Anforderungen an die biobasierte Beschichtung: Die technische Umsetzung der biobasierten Beschichtung erfordert spezifische Eigenschaften. Sie muss in der Lage sein, selektiv am Substrat zu haften und nicht an Deckschichten. Gleichzeitig sollte das Photobleaching der Beschichtung minimal sein, um die Effizienz und Sichtbarkeit zu gewährleisten. Im Prinzip können verschiedene Peptidsysteme entwickelt und für die spezifische Haftung an verschiedenen Materialien (wie Aluminium, Stahl, Kunststoff) mittels der bewährten KnowVolution-Strategie optimiert werden. Ein universelleres System wäre jedoch vorzuziehen, um die Komplexität zu verringern.

Technische Anforderungen an das Messsystem: Das Messsystem zur Inspektion der Beschichtung und Erkennung von Defekten muss bestimmte technische Spezifikationen erfüllen. Die Fluoreszenzdetektion erfolgt durch ein Kamerasystem, das die Beschichtung und

Defekte erfasst. Es muss in der Lage sein, Risse zu identifizieren, die mit bloßem Auge nicht erkennbar sind. Dabei werden eine hohe Genauigkeit und erhöhte Sensitivität des Prüfverfahrens angestrebt. Das System muss robust gegenüber Tageslicht sein und vor Beginn des Messablaufs automatisiert kalibriert werden. Risse werden automatisch erkannt und visuell hervorgehoben, und die Größe der Risse soll quantifiziert werden können.

Anwendungsbereiche: Die entwickelte Technologie findet Anwendung in verschiedenen Branchen wie beispielsweise der Luftfahrt, dem Automobil, dem Anlagenbau sowie dem Baugewerbe. Sie ermöglicht die zuverlässige Detektion von Oberflächendefekten in beschichteten metallischen Strukturen. Eine spezielle Anwendung wäre zudem die Erkennung von Beschädigungen an FVK-Bauteiloberflächen, wobei die Haftung an den Fasern im Vordergrund steht. Der dargestellte Anforderungskatalog legt die Grundlagen für die Entwicklung eines hochmodernen Gesamtsystems zur biobasierten Beschichtung und präzisen Inspektion. Die Erfüllung dieser Anforderungen wird eine kosteneffiziente, nachhaltige, benutzerfreundliche und flexible Lösung ermöglichen, um Oberflächendefekte in verschiedenen Anwendungsbereichen zu erkennen und zu behandeln.

Materialauswahl und Kombination: Um möglichst anwendungsnah zu testen, wurden die folgenden gängigen Leichtbaumaterialien analog zur Materialauswahl von Bio4Strain aus den Branchen Luftfahrt, Automobil, Anlagenbau sowie dem Baugewerbe identifiziert:

Metallische Strukturbauteile:

- Aluminium AlMg3 (Al5754-H22; mittelfest; Maschinenbau, Druckbehälterbau)
- Aluminium AlZnMgCu1.5 (Al7075-T651; hochfest; verbreitet in der Luftfahrt)
- Stahl St1203 (Karosserie-Blech für die Automobilindustrie)
- Stahl St1203 verzinkt (Karosserieblech für die Automobilindustrie)
- Edelstahl 1.4301 V2A (weitere Anwendungsbereiche in diversen Branchen)

Beschichtungen:

- Polyurethane-Lack (Belton Free PU Wasserlack Lackspray)
- Acryl-Lack (Dupli-Color Aqua Lackspray)
- Verzinkte Schicht auf St1203 Blech

Materialpaarungen: Es wurden im Rahmen des Projekts die in **Tabelle 1** dargestellten Paarungen von Substrat und Beschichtung betrachtet. Die Paarungen entstammen gängigen Beschichtungs-Substrat-Kombinationen aus den o. g. Branchen. Es wird an dieser Stelle erwähnt, dass die Paarung repräsentativ ausgesucht wurde, die genaue Materialzusammensetzung und -paarung für einen konkreten Anwendungsfall aus der Wirtschaft aber erneut geprüft werden muss, da Materialzusammensetzung und Oberfläche die Bindung des Peptidsystems beeinflussen können.

Tabelle 1: Betrachtete Paarungen aus Substrat und Beschichtung.

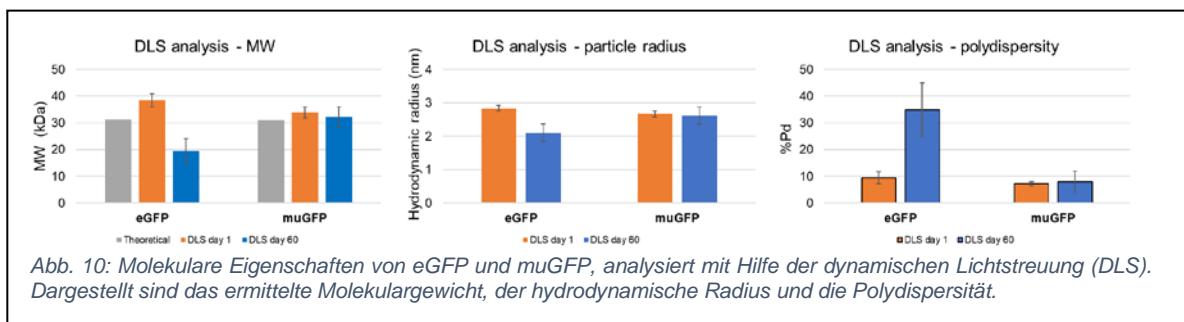
	Aluminium 5754	Aluminium 7075	Stahl St1203	Edelstahl V2A
Ohne	*	*	*	*
PU-Lack	*	*	*	*
Acryl-Lack	*	*	*	*
Verzinkt			*	

Risseinbringungen: Verschiedene Methoden der Risseinbringung in die Beschichtung der Oberfläche wurden getestet (**Abb. 17 und 18**). Zur Darstellung makroskopischer Defekte wurde Abdeckband verwendet, um ein gitterartiges Muster auf der Metalloberfläche zu erzeugen. Nach dem Sprühlackieren der Oberfläche wurde das Klebeband entfernt, wodurch das darunter liegende blanke Metall freigelegt wurde, das die makroskopischen Defekte darstellt. Penetration mit definierter Kraft in die Rückseite durch eine Prüfmaschine erweist sich als geeignet für die Generierung punktförmiger Defekte, speziell für Kombinationen aus Metall und PU-Beschichtung, und das Einritzen der Oberfläche durch ein Skalpell ist geeignet zur Erzeugung dünner, rissähnlicher Defekte.

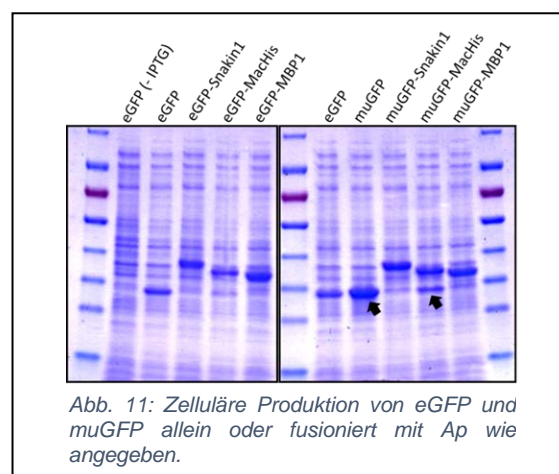
AP2.2. PepCrack: Auswahl und Charakterisierung von Ankerpeptiden (Ap).

Status: Abgeschlossen (100% fertiggestellt – ABBt).

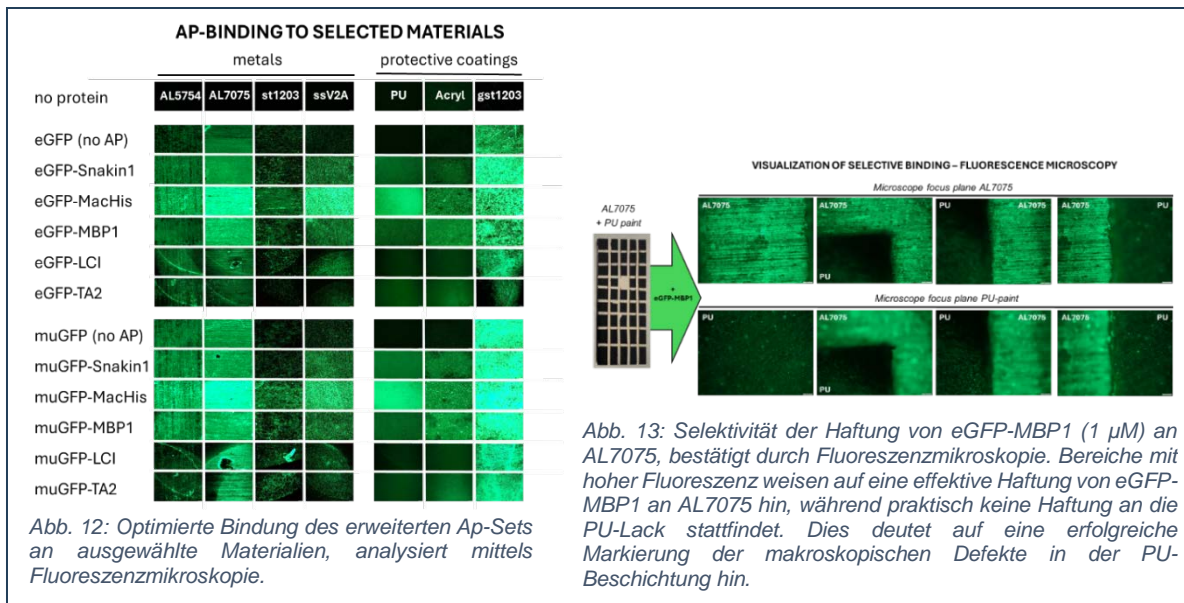
Es wurden verschiedene Bindungsversuche durchgeführt, um die Haftung ausgewählter Ap an die ausgewählten Einzelmaterialien zu bewerten, darunter die Aluminiumlegierungen AL5754 und AL7075, Stahl st1203 (mit und ohne verzinkte Oberfläche) und Edelstahl V2A sowie zwei Arten von Lackbeschichtungen auf Basis von Acryl oder PU (**Tabelle 1**). Parallel dazu wurde muGFP als mögliche (photo)stabilere Alternative zu eGFP untersucht. Die bessere Proteinestabilität von muGFP wurde durch DLS-Analysen bestätigt (**Abb. 9**). Die höhere Partikelhomogenität und die insgesamt etwas stärkere Fluoreszenz von muGFP wären für die Risserkennung grundsätzlich von Vorteil.



Außerdem waren die produzierten Proteinmengen von muGFP deutlich höher als die von eGFP, auch wenn sie mit Ap wie z.B. Snakin-1 oder MachHis fusioniert wurden (**Abb. 10**). Dieser steigende Effekt auf die Proteinproduktionsmengen erwies sich auch als übertragbar, wenn mit weiteren Ap fusioniert wird: LCI, TA2, Androctonin, Cg-Def, Thanatin und VrD1. Der Austausch von eGFP durch muGFP könnte also eine wirksame Strategie zur Verbesserung der Ap-Produktion sein.



Primäre Adhäsionstests mit gereinigten Ap zeigten eine effektive Haftung auf allen getesteten Materialien mit Ausnahme von st1203, wobei MachHis die beste Haftung zeigte (**Abb. 11A**). Für eGFP-Snakin1 wurde eine klare (reziproke) Adhäsionspräferenz beobachtet: eGFP-



Die an die verschiedenen Materialien gebundenen muGFP-Fusionskonstrukte wiesen häufig eine höhere Fluoreszenz auf als ihre eGFP-Äquivalente. Ein höheres Fluoreszenzsignal wäre für die Defekterkennung von Vorteil. Ein großer Teil des höheren Fluoreszenzsignals war jedoch auf eine stärkere unerwünschte unspezifische Bindung über den Fluorophor muGFP-Teil der Ap-Konstrukte an die Materialien zurückzuführen. Die Ap-Adhäsionstests zeigten, dass das Fusionskonstrukt eGFP-MBP1 die angestrebte Bindungselektivität aufweist, da es kaum an PU-Lack und gut an den Aluminiumlegierungen AL5754 und AL7075 haftet. Damit wurde **Meilenstein MS1 - Bindungseigenschaften von fluoreszierenden Ankerpeptiden an ausgewählte Metalle und schützende Oberflächenbeschichtungen** erfüllt (**Tabelle C**).

Um die Selektivität der Bindung zu bestätigen und um makroskopische Defekte in der Oberflächenbeschichtung zu simulieren, wurden vom SLA spezielle PU-beschichtete AL7075-Proben hergestellt, auf die die Lackschicht in einem schachbrettartigen Muster aufgetragen wurde, so dass Teile des Metalls für die Interaktion mit der Ap freigelassen wurden (**Abb. 13**). Zur Erleichterung der Handhabung unter dem Mikroskop wurde eine Probengröße von 5 x 2 cm gewählt. Nach dem Auftragen von eGFP-MBP1 (1 µM) im Tauchverfahren wurde die selektive Haftung von eGFP-MBP1 an AL7075 durch Fluoreszenzmikroskopie bestätigt. Es erfolgte praktisch keine Bindung an den PU-Lack (**Abb. 13**). Zusammen mit den vorangegangenen Experimenten, bei denen die selektive Bindung von eGFP-Snakin1 an die galvanisierte Oberfläche von st1203 ausgenutzt wurde, um Skalpell-Kratzer in gst1203 sichtbar zu machen (**Abb. 11B**), zeigen diese komplementären Ergebnisse, dass es möglich ist, Defekte in Oberflächenbeschichtungen anhand von fluoreszierenden Ap mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie zu erkennen. Damit wurden die Meilensteine **MS2 – Material-spezifische Bindung von fluoreszierenden Ankerpeptiden zum Nachweis von Defekten in Oberflächenbeschichtungen (TRL2)** und **MS3 – Demonstration/-Visualisierung von Oberflächendefekten durch fluoreszierende Ankerpeptide mittels Fluoreszenzmikroskopie (TRL3)** erfolgreich erreicht. Die mit eGFP-MBP1 beschichteten Schachbrettproben wurden als Testproben für den Aufbau und die Auswertung des Kamerasystems weiterverwendet (siehe **AP3**).

AP 2.3. Identifizierung und Ausarbeitung eines Geschäftsmodells.

Status: Abgeschlossen (100% fertiggestellt – SLA).

Im Rahmen des Arbeitspaketes wurden zwei mögliche Geschäftsmodelle identifiziert und ausgearbeitet. In diesem Kapitel werden die strategischen Ansätze zur Vermarktung der Konzepte PepCrack und BioMeasure diskutiert. Es wurden zwei potenzielle Geschäftsmodelle entwickelt, die eine erfolgreiche Vermarktung dieser innovativen Technologien ermöglichen sollen. Die Vermarktungsstrategien gliedern sich in zwei Hauptvarianten: Die erste Variante umfasst die Vermarktung des fluoreszierenden Peptidsystems in Verbindung mit einem semistationären Kamerasystem. Hierbei wird die Funktionalität der selektiven Bindung des Peptidsystems zur präzisen Detektion von Rissbildung genutzt, während das begleitende Kamerasystem die visuelle Erfassung und Analyse unterstützt. Die zweite Variante stellt ein visuelles Verfahren ohne die Notwendigkeit eines Kamerasystems dar. Hierbei wird die automatische Erfassung und Analyse der Ergebnisse durch ein Kamerasystem durch einen Prüfer, welcher visuell spezielle Bereiche prüft, ersetzt. In diesem Fall soll vornehmlich das Peptidsystem und dessen Anpassung vermarktet werden. Beide Systeme sind in ihrer Schlüsseltechnologie der selektiv haftenden Peptide identisch und unterscheiden sich maßgeblich durch die Art der Detektion. Im weiteren Verlauf dieses Kapitels werden diese beiden Vermarktungsansätze detaillierter erläutert und analysiert, um ein umfassendes Verständnis für die Potenziale und Herausforderungen jeder Variante zu vermitteln.

Geschäftsmodell 1: Semistationäres Messsystem für große Flächen

Im Rahmen des Geschäftsmodell-Canvas für das semistationäre Messsystem zur Prüfung großer Flächen wurden entscheidende Aspekte identifiziert, die die erste Variante der Vermarktungsstrategie betreffen. Diese Variante beinhaltet die Vermarktung des fluoreszierenden Peptidsystems in Verbindung mit einem Kamerasystem zur Korrosionsschutzprüfung. Die Zusammenfassung der relevanten Punkte aus dem Canvas sieht wie folgt aus: Die **Schlüsselpartner** für dieses Geschäftsmodell sind die Schwaneberg Group, SLA, LfB und Aachen Proteineers GmbH. Zusammen bilden sie ein kollaboratives Netzwerk, das Fachkompetenzen und Ressourcen für die Entwicklung und Vermarktung des Systems bereitstellt. Die erforderlichen **Lieferanten** umfassen Ausgangsmaterialien für die biochemischen Prozesse, Sprühdosen und Kameraobjektive, die essenziell für die Funktionalität des Prüfsystems sind. Zu den **Schlüsselaktivitäten** zählen die Produktion von sprühbaren Prüfpeptiden, sowie die Formulierung und Vermarktung von Standardkatalogen für Peptidsysteme gängiger Materialkombinationen. Des Weiteren beinhaltet dies die Entwicklung, Anpassung und Optimierung von Peptiden, Kamerasystemen und Auswertungsalgorithmen auf spezielle Kundenwünsche. Die **Schlüsselressourcen** umfassen das spezialisierte Know-how für selektive Peptidbindungen sowie Patente von der Schwaneberg Group und patentwürdige Ideen. Ein gefördertes Projekt dient als Startfinanzierung, und es stehen Labor- und Prüfhallen der o.g. Forschungsstellen zur Verfügung. Die **Wertangebote für Kunden** bestehen in Zeitersparnis, Zuverlässigkeit und Prävention von Rückläufern im End-of-Line Qualitätsmanagement von kritischen Korrosionsschutzschichten. Zudem ermöglicht das System die Objektivierung und Automatisierung von Prüfabläufen und Dokumentationen. Das **Leistungsspektrum** umfasst ein serienfähiges Korrosionsschutzprüfsystem, bestehend aus Sprühpeptiden und einem Kamerasystem zur Auswertung. Hierbei sind auch individualisierte Lösungen für Peptidsystem, Hardware und Software möglich. Die **Kundenbeziehungen** sind hauptsächlich B2B-orientiert. Der Vertrieb erfolgt über einen Standardkatalog sowie kundenspezifische Lösungen, die einen begleitenden Entwicklungsprozess beinhalten. Zudem werden Wartungsverträge und Beratungsleistungen angeboten. Die **Vertriebskanäle** umfassen

Messen, Direktvertrieb, eine Webseite mit Onlineshop sowie Akquise über Beratungsleistungen und Werbung, beispielsweise auf LinkedIn oder in Fachzeitschriften. Die direkten **Kundensegmente** umfassen Zulassungsstellen (TÜV), Prüflabore, unabhängige Prüfstellen, Hersteller, Produktionsstraßen in der Serienfertigung sowie Hersteller von Produktionsstraßen. Die **Kostenstruktur** umfasst Ausgaben für Patente, Gründung, Entwicklung, Aufbau der Produktionsinfrastruktur für Sprühpeptide, Personalkosten im Rahmen der Individualisierungsaufgaben, Anschaffung des Kamerasystems, Miete und Energiekosten sowie Verbrauchsmaterialien und Verwaltung/Buchhaltung. Die **Einnahmequellen** setzen sich aus dem Verkauf des Kamerasystems (vrsl. geringe Gewinnspanne), dem Verkauf von Sprühpeptiden (vrsl. hohe Gewinnspanne, laufende Einnahmen), Entwicklungsleistungen, Wartungsverträgen und laufenden Beratungen zusammen.

Geschäftsmodell 2: Visuelles Prüfverfahren

Im Zuge des Geschäftsmodell-Canvas für das visuelle Prüfverfahren zur Korrosionsschutzüberprüfung wurden wesentliche Aspekte identifiziert, die die zweite Variante der Vermarktungsstrategie betreffen. Diese Variante beinhaltet die Vermarktung eines visuellen Prüfsystems ohne das Kamerasystem zur frühzeitigen Erkennung von Korrosionsschutzproblemen. Im Folgenden werden die relevanten Punkte aus dem Canvas zusammengefasst: Die **Schlüsselpartner** für dieses Geschäftsmodell sind die Schwaneberg Group, SLA und Aachen Proteineers GmbH. Sie stellen das kompetente Netzwerk zur Verfügung, das für die Entwicklung und Vermarktung des visuellen Prüfsystems von Bedeutung ist. Die benötigten **Lieferanten** umfassen Ausgangsmaterialien für biochemische Prozesse und Sprühdosen, die für die Funktion des Prüfsystems notwendig sind. Zu den **Schlüsselaktivitäten** gehören die Produktion von sprühbaren Prüfpeptiden, sowohl in Form von Standardkatalogen als auch für individuelle Anpassungen, insbesondere für bestimmte Materialkombinationen. Die **Schlüsselressourcen** umfassen das spezialisierte Know-how für selektive Peptidbindungen sowie Patente von der Schwaneberg Group und patentwürdige Ideen. Ein gefördertes Projekt dient als Startfinanzierung, und es stehen Labor- und Prüfhallen zur Verfügung. Die **Wertangebote** für Kunden umfassen Zeitersparnis, Zuverlässigkeit und Frühausfallprävention im End-of-Line Qualitätsmanagement von Korrosionsschutzschichten sowie die Möglichkeit der mobilen Prüfung vor der Inbetriebnahme. Zudem ermöglicht das System die Objektivierung von Prüfabläufen und Dokumentationen. Das **Leistungsspektrum** konzentriert sich auf die Bereitstellung des visuellen Korrosionsschutzprüfsystems, wobei der Schwerpunkt auf der Entwicklung und dem Verkauf der Sprühpeptide liegt. Die **Kundenbeziehungen** sind B2B-orientiert. Der Vertrieb erfolgt über einen Standardkatalog sowie kundenspezifische Lösungen, die einen begleitenden Entwicklungsprozess beinhalten. Zudem werden Beratungsleistungen angeboten. Die **Vertriebskanäle** umfassen Messen, Direktvertrieb, eine Webseite mit Onlineshop sowie Akquise über Beratungsleistungen und Werbung, beispielsweise auf LinkedIn oder in Fachzeitschriften. Die direkten **Kundensegmente** umfassen Zulassungsstellen (TÜV), Prüflabore, unabhängige Prüfstellen, Hersteller und Baustellenbetreiber. Die **Kostenstruktur** umfasst Ausgaben für Patente, Gründung, Entwicklung, Aufbau der Produktionsinfrastruktur für Sprühpeptide, Personalkosten im Rahmen der Individualisierungsaufgaben, Anschaffung des Kamerasystems, Miete und Energiekosten sowie Verbrauchsmaterialien und Verwaltung/Buchhaltung. Die **Einnahmequellen** setzen sich aus dem Verkauf von Sprühpeptiden (hohe Gewinnspanne, laufende Einnahmen), der Entwicklungsleistung für kundenspezifische Anpassungen und laufenden Beratungen zusammen.

Die Geschäftsmodelle bieten eine umfassende Basis für die erfolgreiche Vermarktung der jeweiligen Varianten, entweder mit einem visuellen Inspektionsverfahren oder einem Kamerasystem.

AP 2.4. KnowVolution von Ap zur Verbesserung der selektiven Bindung an Zielmaterialien aus AP2.1.

Status: AP2.4 (ABbt) wurde aufgrund den notwendigen Optimierungen in AP3 nicht begonnen.

Da die Ankerpeptidkonstrukte eGFP-MBP1 und eGFP-Snakin1 bereits materialspezifische Bindungseigenschaften aufwiesen, die für den Nachweis des Konzepts für PepCrack-BioMeasure geeignet waren, bestand keine direkte Notwendigkeit, die Bindungseigenschaften zu verbessern. Aufgrund der vorrangigen Etablierung und Optimierung des Fluoreszenz-kamerasystems zur Detektion von Oberflächendefekten wurde **AP2.4** nicht gestartet.

AP 2.5. Formulierung der analytischen Grundlagen zur Rissbewertung.

Status: Abgeschlossen (SLA).

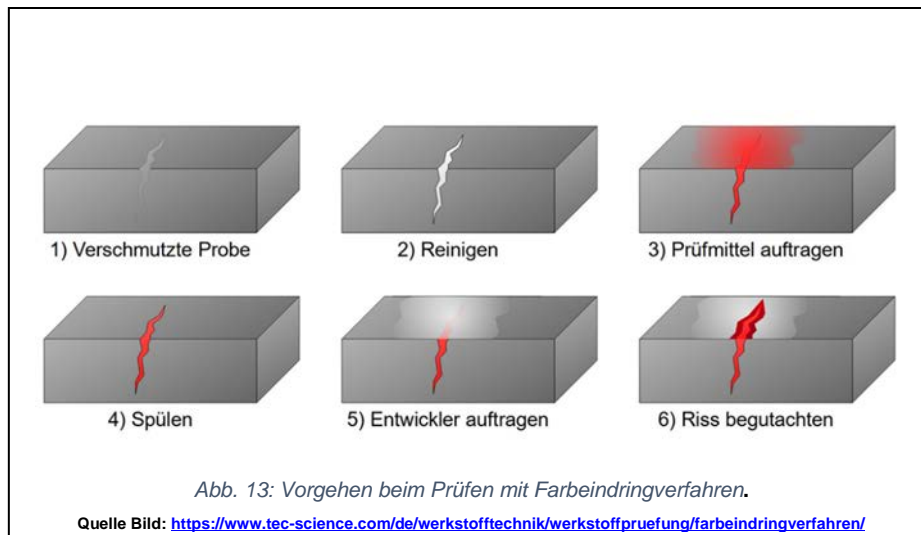
Da sich im Laufe des Projekts eine Fokussierung von PepCrack auf die Detektion von Oberflächendefekten und Fehlstellen in Beschichtungen als sinnvoller herausgestellt hat als die Detektion von mechanischen Ermüdungsrissen, sind die analytischen Grundlagen zur Ermüdungsrissbewertung nicht anwendbar. Die Rissbewertung der Oberflächenschäden soll über die Defektgeometrie (Anzahl, Länge und Durchmesser) klassifiziert werden. Normenreihen wie die DIN EN ISO 4628 (Beschichtungsstoffe – Beurteilung von Beschichtungsschäden – Bewertung der Menge und der Größe von Schäden und der Intensität von gleichmäßigen Veränderungen im Aussehen) sollen bei der weiteren Projektbearbeitung zur Schadensbewertung einbezogen werden.

AP 2.6. Vergleich mit Konkurrenzprodukten: Farbeindringmittel.

Status: Abgeschlossen (SLA, ABbt, LfB).

Im Rahmen des Projekts wurde an einer Schulung zur korrekten und sicheren Verwendung des Konkurrenzverfahrens der Farbeindringmittel teilgenommen. Die Farbeindringprüfung, auch bekannt als Eindringprüfung oder Penetrierprüfung, stellt eine zerstörungsfreie Prüftechnik (ZfP) dar, die zum Erkennen von Oberflächendefekten wie Rissen, porösen Stellen und anderen Anomalien in verschiedenen Werkstoffen wie Metallen, Kunststoffen und Keramiken angewandt wird. Sie soll laut Beantragung als Konkurrenzmethode zum entwickelten Produkt in PepCrack gesehen werden. Die Begründung, warum letztendlich innerhalb des Projekts gegen einen direkten Vergleich entschieden worden ist, wird im Folgenden erläutert. Hierzu ist eine kurze Erklärung der Vorgehensweise der Eindringprüfung und ihrer Vor- und Nachteile sowie Einsatzmöglichkeiten notwendig.

Die Farbeindringprüfung stellt eine unkomplizierte Methode zur Identifizierung von Oberflächendefekten dar und findet Anwendung in verschiedenen Branchen wie Luftfahrt, Automobilindustrie und Schweißtechnik. Es ist zu beachten, dass diese Methode besonders empfindlich auf zur Oberfläche offene Defekte reagiert, während sie für geschlossene oder tieferliegende Defekte weniger geeignet sein kann. Im Laufe der Erarbeitung eines Vergleichs der beiden Methoden hat sich jedoch herausgestellt, dass nur eine bedingte Vergleichbarkeit der Methoden vorliegt. Die Methodik dieser Prüfung kann in die folgenden Schritte eingeteilt werden (**Abb. 14**):



1. Oberflächenvorbereitung: Vor Beginn der Prüfung wird die zu untersuchende Oberfläche gründlich gereinigt, um sämtliche Verunreinigungen wie Schmutz, Fett und vorherige Farbreste zu beseitigen. Eine angemessene Vorbereitung ist unerlässlich, um präzise Ergebnisse zu erzielen.
2. Applikation des Penetrantmittels: Ein Penetrantmittel in flüssiger Form, entweder farblich erkennbar oder fluoreszierend, wird auf die vorbereitete Oberfläche aufgetragen. Diese Flüssigkeit zeichnet sich durch eine niedrige Oberflächenspannung aus, wodurch sie in Risse oder Poren eindringen kann.
3. Einwirkzeit: Dem Penetrantmittel wird ausreichend Zeit gewährt, um in mögliche Defekte einzudringen. Die Dauer dieser Phase kann variieren, abhängig von den spezifischen Materialeigenschaften.
4. Entfernung des Überschusses: Nach Ablauf der Einwirkzeit wird der überschüssige Penetrant von der Oberfläche entfernt, während das eingedrungene Penetrant in den potenziellen Defekten verbleibt.
5. Entwicklung: Ein Entwickler, typischerweise in Form von Pulver oder Spray, wird auf die Oberfläche aufgebracht. Dieser Entwickler zieht das Penetrantmittel aus den Defekten heraus und erzeugt sichtbare Anzeichen auf der Oberfläche.
6. Auswertung: Nach einer angemessenen Entwicklungszeit werden die entstandenen Anzeichen auf der Oberfläche begutachtet. Risse, Poren oder andere Anomalien werden durch deutlich erkennbare Farbmuster oder fluoreszierende Markierungen sichtbar gemacht.

Ein wichtiges Kriterium bei der Durchführung der Methode ist, dass die Oberfläche von sämtlichen Beschichtungen entfernt werden sollte und die zu prüfende Oberfläche somit metallisch blank oder laut Norm zumindest „inert gegenüber dem Prüfmittel“ ist. Da diese Anforderung oft nicht auf Oberflächenbeschichtung zutrifft, wurde ein Materialverträglichkeitstest mit handelsüblichem Eindringmittel des Typs Helling Rot 1001 durchgeführt. Dazu wurden die ersten vier Schritte der o. g. genormten Prozedur durchgeführt und die Oberflächen in den verschiedenen Stadien betrachtet. Die Oberflächenvorbereitung der lackierten Probe wurde zum einen mit dem, dem Eindringmittel zugehörigen, Helling NPU Spezialreiniger als auch mit Isopropanol durchgeführt. **Abb. 15** zeigt eine lackierte Probe mit drei verschiedenen Bereichen nach der jeweiligen Behandlung (Reinigung mit Isopropanol; Reinigung mit NPU; nur Farbeindringmittel 10 min).

Die Reinigung mit dem lösungsmittelhaltigem NPU Spezialreiniger hat dabei sehr aggressiv auf die PU- (oder Acryl-)Lackschicht gewirkt und beinahe die komplette Schicht mit nur einem Wisch eines Reinigungstuchs abgetragen (**Abb. 15, links**). Leicht weniger aggressiv hat die Reinigung mit Isopropanol die Oberfläche angegriffen, stellenweise jedoch ebenfalls abgetragen. Nach 10 min Einwirkzeit und Entfernung des überschüssigen Farbeindringmittels hat dieses die Lackschicht mit dem bloßen Auge sichtbar bleibend rot eingefärbt, ein klares Indiz dafür, dass das Material der Beschichtung nicht inert gegenüber dem Eindringmittel ist. Diese veränderten Oberflächeneigenschaften sind auch in den mit einem Mikroskop aufgenommenen Bildern detaillierter zu erkennen (**Abb. 15, rechts**).

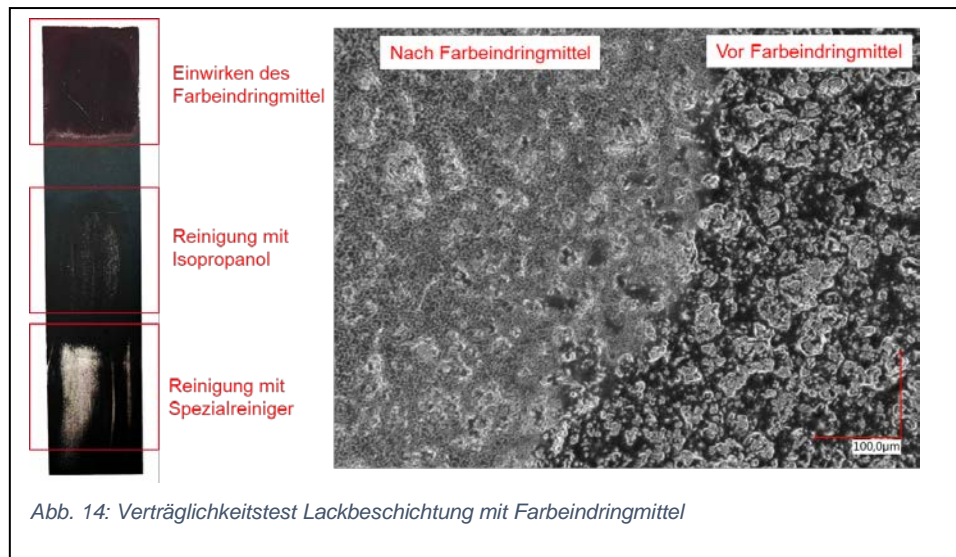


Abb. 14: Verträglichkeitstest Lackbeschichtung mit Farbeindringmittel

Die beobachtete chemische Unverträglichkeit der Farbstoffpenetrationslösungen mit handelsüblichen Lacken auf PU- und Acrylbasis und die Tatsache, dass die Farbstoffpenetrationsmethode in erster Linie für Ermüdungsrisse verwendet wird, die tiefer in ein Bauteil eindringen, machen die Farbstoffpenetrationsmethode für die Markierung oberflächlicher Risse in Beschichtungen, die häufig nur wenige μm dick sind, ungeeignet. In scharfem Kontrast dazu sind die wässrigen Ap-Lösungen mit PU- und Acryl-basierten Lacken verträglich und in der Lage, Defekte in der dünnen PU-Beschichtung zu markieren (**Abb. 13**). Aufgrund ihres biobasierten Charakters ist die PepCrack-Technologie mit schützenden Polymeroberflächenbeschichtungen kompatibel und in der Lage, Risse/Defekte aufgrund der materialspezifischen Bindungseigenschaften der Ap zu erkennen. **Damit wurde im Rahmen des Projekts eine neuartige biobasierte Methode zur Erkennung von Defekten in Oberflächenbeschichtungen geschaffen.**

AP 2.7. Evaluierung von PepCrack im Kontext der Bauteilzustandsüberwachung von Leichtbaustrukturen.

Status: Abgeschlossen nach Umstrukturierung des Projekts und Neuformulierung von Meilensteinen. Der Nachweis des Konzepts für PepCrack wurde anhand von Aluminium Demonstrator-Proben mit verschiedenen Arten von Defekten in einer PU-basierten Oberflächenbeschichtung erfolgreich erbracht (siehe AP3.2 - SLA, ABBt, LfB).

Um eine zuverlässige Risserkennung zu ermöglichen, wurde die Herstellung der Materialproben am SLA-Institut in einem iterativen Prozess weiter standardisiert und verbessert. Bei der ersten Generation der lackierten Schachbrettproben kam es gelegentlich

zu einer teilweisen Ablösung der Lackschicht nach längerer Einwirkung der Ap-Lösung (z. B. **Abb. 13**, „*fehlendes*“ Quadrat in der Mitte der Probe).

Metalloberflächen werden in der Regel vorbehandelt, um eine bessere Haftung von Schutzschichten zu ermöglichen. Um solche *in-situ* Bedingungen besser zu simulieren und die Haftung des Lacks zu verbessern, wurde das Metall mit Schleifpapier (Körnung 600) vorbehandelt. Diese Behandlung verbesserte die Haftung der Lacke (PU und Acryl) auf dem Aluminium, veränderte aber auch das Erscheinungsbild der Oberfläche des Metalls, was sich in einer Veränderung des Farbtons und der Beschaffenheit äußerte (**Abb. 16**).

Da die veränderten Oberflächeneigenschaften die Bindung von Ap beeinflussen können, musste die Haftung von den Ap neu bewertet werden. Interessanterweise war die Bindung von Ap an sAL5754 besser als an sAL7075, während für das Aluminium, das nicht mit Schleifpapier behandelt wurde, das Umgekehrte festgestellt wurde (am Beispiel von eGFP-MBP1, **Abb. 16**, vgl. rechts und links). Entscheidend ist, dass beide Ap nach der Behandlung mit Schleifpapier eine homogenere Haftung an das Metall zeigten, was auf eine entscheidende Rolle der Oberflächeneigenschaften bei der Ap-Haftung hindeutet. Eine homogenere Belegung der Metalloberfläche durch die Ap ist für die Erkennung kleiner Risse in den Oberflächenbeschichtungen von Vorteil.

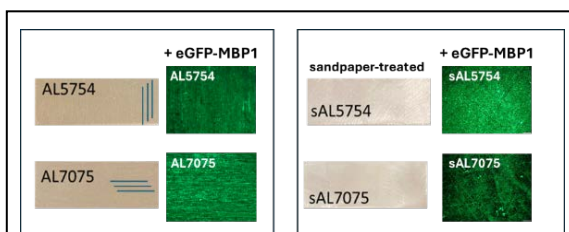


Abb. 15: Auswirkungen der Schleifpapier-Behandlung auf die Metalleigenschaften und die Haftung der Ap. Die mit Sandpapier behandelten Proben sAL5754/sAL7075 (ohne Lackierung) weisen einen silbrigeren Farbton auf und die intrinsischen Oberflächenrillen (durch die drei parallelen blauen Linien gekennzeichnet) sind im Vergleich zu den unbehandelten Proben weniger stark ausgeprägt. eGFP1-MBP1 zeigt nach der Sandpapierbehandlung von AL5754 eine bessere und homogenere Bindung.

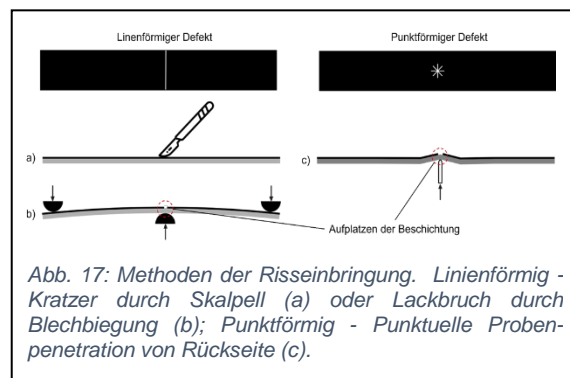
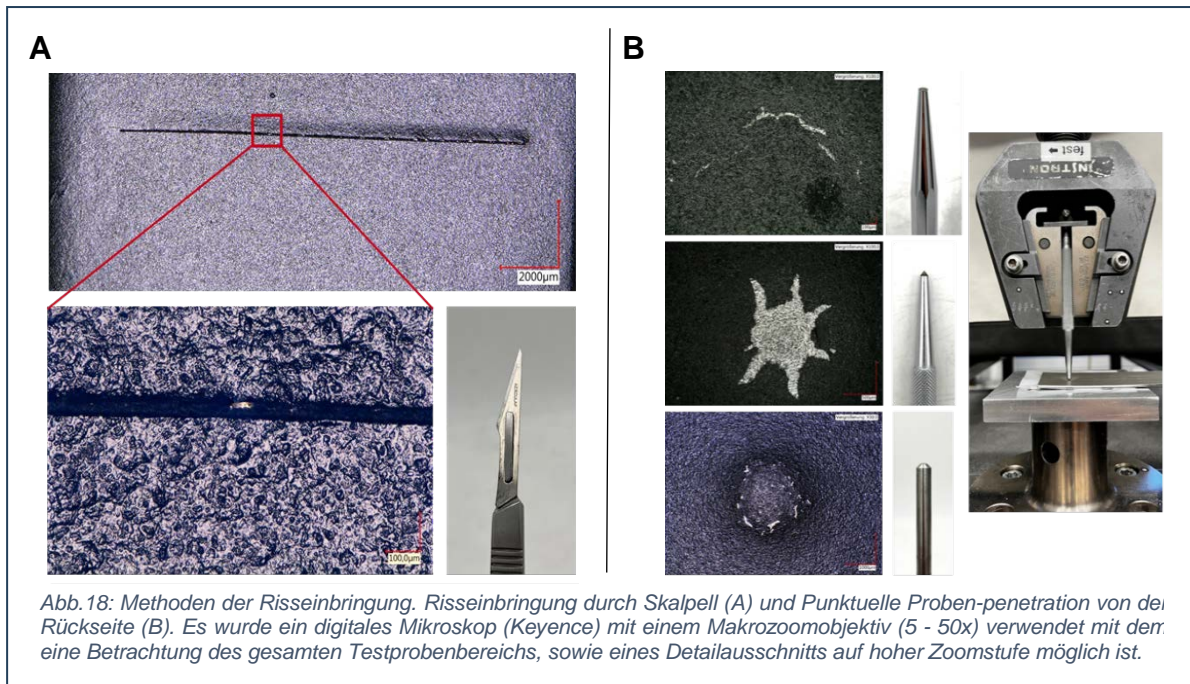


Abb. 17: Methoden der Risseinbringung. Linienförmig - Kratzer durch Skalpell (a) oder Lackbruch durch Blechbiegung (b); Punktförmig - Punktuelle Probenpenetration von Rückseite (c).

Um die selektiven Bindungseigenschaften der Ankerpeptide zu nutzen und diese in realistischen Einsatzszenarien testen zu können, müssen realistische Defekte in die Materialien eingebracht werden. Hierzu wurden mehrere Methoden ausgewählt und getestet, mit denen sowohl linienförmige als auch punktförmige Defekte in die Oberfläche eingebracht werden können (**Abb. 17**). Als am besten geeignete Methoden zur Risseinbringung erwiesen sich die Skalpell- und die punktuelle Penetrations-Methode (**Abb. 18**). Das Biegen wurde für die Herstellung von Testproben als nicht geeignet erachtet, da es zu einer starken Durchbiegung des Metallmaterials und zum Abrieb der Beschichtung in den Kontaktbereichen der Biegestützen führt. Außerdem wurde es auch als unpraktisch erachtet, die Proben wieder auf ihre ursprüngliche flache Oberfläche zu biegen, was für eine Untersuchung mit dem Kamerasystem erforderlich wäre.

Das Anritzen mittels Skalpell ist eine einfache und schnelle Methode der Risseinbringung. Dabei entstehen sehr feine Defekte, welche zwar mit dem bloßen Auge zu erkennen, aber nur ca. 10 – 20 µm breit sind (**Abb. 18A**). Die Methode wird als realistischer Defekt aus der praktischen Anwendung erachtet, da die Beschädigung von Oberflächenbeschichtung mit scharfen und stumpfen Gegenständen ein gängiges Schadensmuster ist. Eine Möglichkeit zur Einbringung von punktförmigen Defekten bietet die Methode der rückseitigen Penetration des



Substrats mittels eines Metallstifts. Diese Methode nutzt die plastische Verformung des Materials und die dadurch entstehenden Spannungen in der Beschichtung, bis diese aufplatzt. Der Vorteil dieser Methode gegenüber dem Biegeverfahren liegt in der stark eingeschränkten räumlichen Eingrenzung der plastischen Verformung auf den unmittelbar umliegenden Bereich der Penetration. Die Methode stammt aus einer Norm zur Herstellung von Prüfkörpern für Farbeindringmittel (DIN EN ISO 3452-3 Zerstörungsfreie Prüfung – Eindringprüfung – (**Abb. 18A, unten**) wurden zudem auch noch handelsübliche Werkzeuge mit einer flachen und einer konischen Spitze untersucht – (**Abb. 18B, vgl. oben und Mitte**)). Dazu wurden die Stifte jeweils in eine Aufnahme eingespannt und von der unbeschichteten Seite auf die Probe mit einer Kraft von 2,5 – 3 kN (bei 2 mm Aluminiumblech) belastet. Die erzeugten punktförmigen Defekte mit den jeweiligen Penetrationsspitzen sind exemplarisch in **Abb. 18B** dargestellt.

Die unterschiedlichen Spitzen erzeugen Defekte mit unterschiedlichen charakteristischen Merkmalen und Eindringtiefen. Der Flachkopf erzeugt einen ringförmigen Defekt mit einer hohen Eindringtiefe. Der Spitzkopf erzeugt sternförmige Ausbrüche mit einer hohen Eindringtiefe. Der kugelförmige Standardeindringkörper erzeugt runde Mikrorisse mit einer mäßigen Eindringtiefe. Die Eindringtiefe bzw. die Erhebungen auf der Oberseite der Beschichtung sollten so gering wie möglich gehalten werden. Defekte, die deutlich aus der Oberflächenebene hervorstehen, würden eine Herausforderung für die Fokussierung des Kamerasystems darstellen, was zu unscharfen Bildern führen kann. Die Verwendung des spitzen Kopfes und des kugelförmigen Standardeindringkörpers erwies sich als der beste Kompromiss zwischen Oberflächendefekten und tieferen Materialverformungen und wurde

daher für die Herstellung der Demonstratorproben mit verschiedenen Arten von Defekten in der Oberflächenbeschichtung verwendet (siehe **AP3.2.3**).

AP3 – BioMeasure

Status: Erfolgreich abgeschlossen nach Umstrukturierung des Projekts und Neuformulierung von Meilensteinen (SLA, ABBt, LfB).

Zeitraum 01.01.2022 – 31.12.2022

AP 3.1 Experimenteller Bildgebungs- und AP 3.3 Bildverarbeitungs-Algorithmen.

In der BioMeasure-Entwicklungslinie wurde das Messsystem, das die Fluoreszenzdetektion ermöglicht, entwickelt. Im Rahmen des Projekts wurde zunächst das benötigte Aufnahmesystem spezifiziert und beschafft, inklusive Kamera, Objektiven, Beleuchtung und Aufnahmefiltern. Zu diesem Zweck wurde das notwendige Erfassungssystem angeschafft, welches eine hochauflösende Industriekamera (Allied Vision Alvium USB3.1 1800 U 2040m), Objektive, eine blaue LED-Leuchte zur Anregung der eGFP/muGFP-Fluoreszenz und optische Filter umfasst.

Um Vorarbeiten zu leisten, bis die tatsächliche Bildaufnahme der Testproben erfolgen konnte, wurden verwendbare Trainingsdatensätze identifiziert. Hierbei erwies sich der Datensatz "Severstal: Steel Defect Detection" als brauchbar. Es wurden erste prototypische Deep Learning Methoden zur automatisierten Segmentierung von fehlerhaften Stellen innerhalb des Trainingsdatensatzes implementiert und getestet. Die erfolgreichsten getesteten Architekturen waren Residual U-Nets. Eine Evaluation der zu erwartenden Prädiktionsqualität des Residual U-Nets auf dem Severstal Datensatz ergab folgende Genauigkeiten: Dice: 50.58; Sensitivity: 80.78; Specificity: 86.13; Accuracy: 85.65. Obwohl bei den erreichten Scores noch Verbesserungspotenzial vorhanden ist, zeigen die ersten Evaluationen, dass die Zielstellung zuverlässig mit den ausgewählten Verfahren gelöst werden kann, sofern entsprechendes Bildmaterial und annotierte Trainingsdaten zur Verfügung stehen. Aufgrund der großen Diversität unterschiedlicher Defekte wurden weitere Schritte geplant, um zusätzlich Methoden zur Anomaliedetektion bzw. Out-of-Distribution Erkennung (OOD) zu testen und so auch Fehler auffinden zu können, die noch nicht im Trainingsset enthalten waren. Im Idealfall sollen die Modelle ohne händische Annotationen trainiert werden können (engl. "unsupervised learning") oder mit minimalem Aufwand an neue Problemstellungen angepasst werden (sog. „zero-shot“ und „few-shot“ Verfahren).

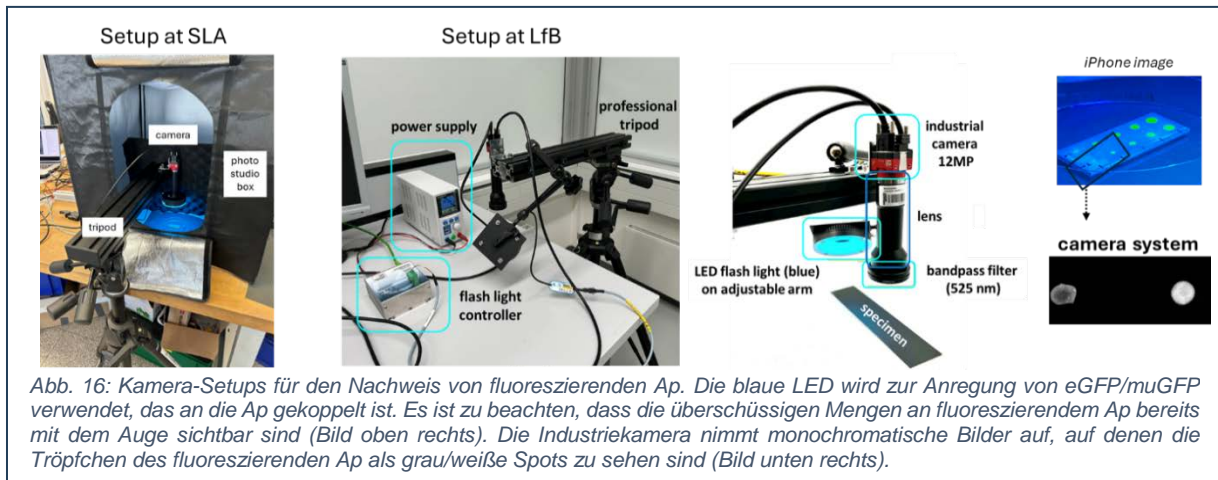
Zeitraum 01.01.2023 – 31.12.2023

3.1 Experimenteller Bildgebungs- und Bildverarbeitungs-Aufbau.

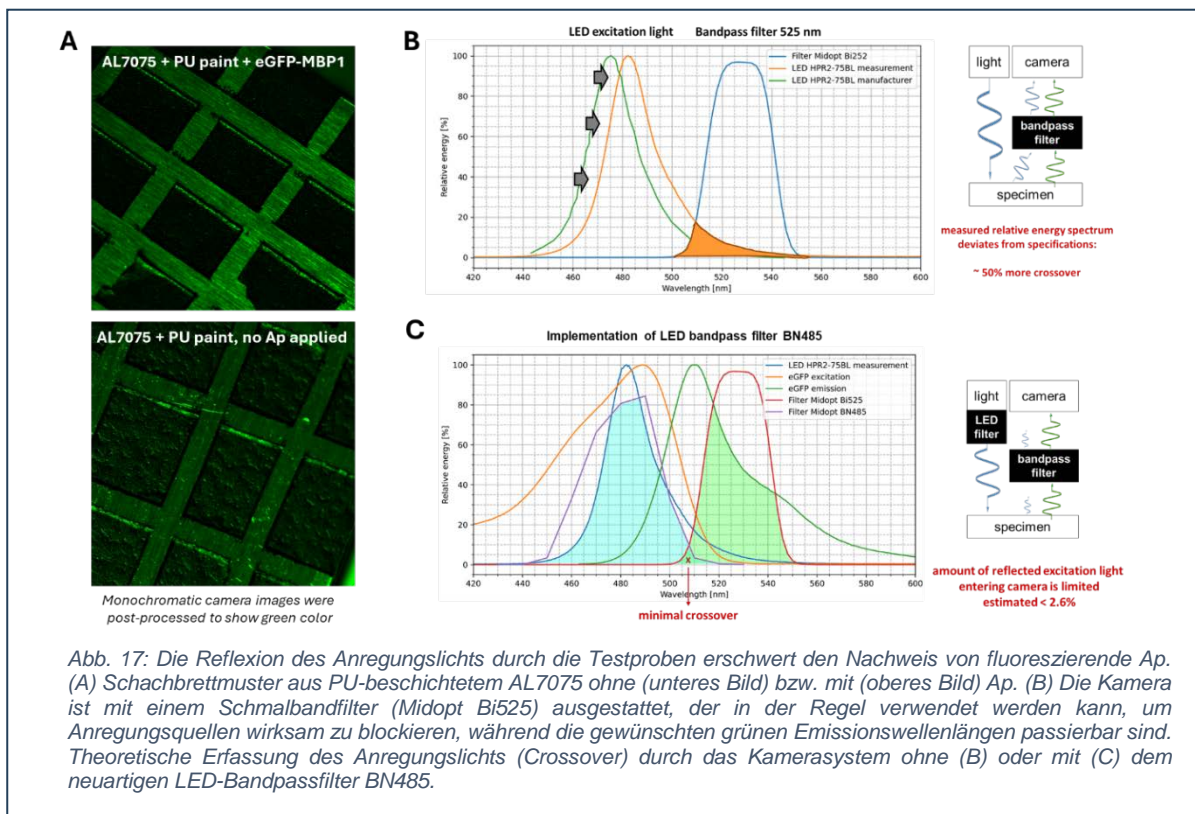
Status: Abgeschlossen (SLA, ABBt, LfB).

Die Etablierung des Systems erforderte mehrere Optimierungsschritte. Erste Versuche zum Nachweis der von Ap ausgehenden Fluoreszenz ergaben, dass die Fluoreszenz durch störendes Umgebungslicht vollständig maskiert wird. Daher wurde das System von einer Fotostudio-Box im SLA-Institut in eine professionelle Dunkelkammer (vollverdunkelbarer Raum; bei Bedarf ausleuchtbar mit D50 Normlicht mit 5000 Kelvin) an den Lehrstuhl für Bildverarbeitung verlegt, um jegliches Außenlicht auszuschließen, das den Nachweis von Ap stören könnte. Unter diesen verbesserten Bedingungen wurden überschüssige Mengen an

fluoreszierendem Ap, die in Form von getrockneten Tröpfchen unterschiedlicher Größe auf das Metall aufgebracht wurden, vom Kamerasystem erfolgreich erkannt (**Abb. 19, rechts**).



In den nächsten Schritten wurde das System weiter für den Nachweis praxistauglicher Mengen von Ap optimiert, d. h. das System sollte in der Lage sein, eine einzelne Schicht (*engl. monolayer*) von selektiv an die Metalloberfläche gebundenem Ap nachzuweisen. Monolayer werden typischerweise gebildet, wenn Ap bei niedriger Proteinkonzentration (μM -Bereich) eingesetzt werden. Bei einer solchen Konzentration sind fluoreszierende Ap für das menschliche Auge nicht ohne weiteres sichtbar. In Abwesenheit von externem Licht und bei Verwendung der LED zur alleinigen Beleuchtung zeichnete das System unerwartet ein beträchtliches Signal auf, selbst wenn kein Ap aufgetragen wurde (**Abb. 20A, unteres Bild**).

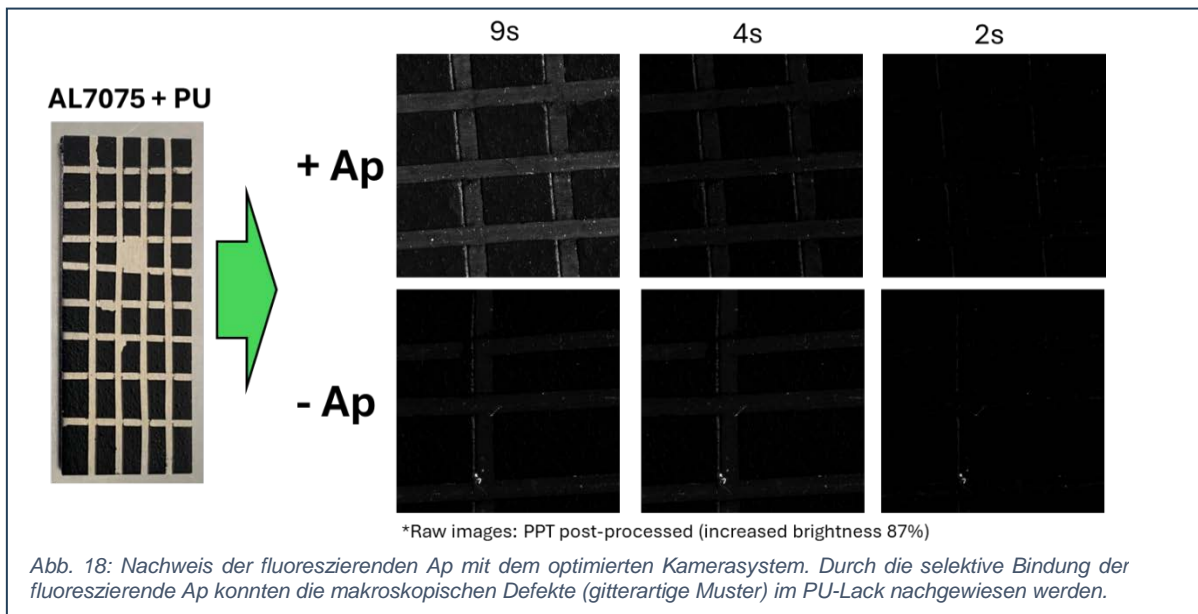


Das Einfangen des Anregungslichts erschwert die Ap-Detektion, da die Kamera nicht zwischen Photonen, die direkt von der LED stammen, und Photonen, die von der emittierten Fluoreszenz nach der Anregung des an die Ap gekoppelten eGFP/muGFP-Fluorophors stammen, unterscheiden kann (**Abb. 20B, Bild oben rechts, blaue vs. grüne Kurven**). Diese Ergebnisse waren Anlass für eine Untersuchung der tatsächlichen Leistung der LED. Die Messungen ergaben eine unerwartete Abweichung von den Herstellerangaben (**Abb. 20B, vgl. orange und grüne Kurve**), die dazu führte, dass mit dem an der Kamera angebrachten Bandpassfilter ~50 % mehr Crossover auftrat und somit viel mehr Anregungslicht in die Kamera gelangte. Um zu gewährleisten, dass kein Anregungslicht in die Kamera gelangt, wurde ein zweiter Bandpassfilter angeschafft und an der LED angebracht, um deren Leistung zu begrenzen, wodurch Crossover erheblich reduziert wurde (**< 2,6 %, Abb. 20C, vgl. lila und rote Kurve**).

Anschließend wurden die Reflexionseigenschaften des Systems genauer untersucht. Neben dem großen Einfluss des externen Lichts (siehe oben) wurden auch andere Faktoren berücksichtigt. Zu den untersuchten Parametern gehörten: (1) System mit oder ohne LED-Bandpassfilter, (2) intrinsische Eigenschaften der Metalloberfläche (mit Sandpapier behandelt oder unbehandelt), (3) Position der LED relativ zur Probe, einschließlich des Beleuchtungswinkels, und (4) Belichtungsdauer für die Bilderfassung. Aus diesen Experimenten ging hervor, dass

- (i) der Einbau des LED-Filters die Erfassung des Anregungslichts erfolgreich reduzierte, aber nicht vollständig eliminierte;
- (ii) mit Sandpapier behandeltes Aluminium im Vergleich zu unbehandeltem Aluminium weniger Reflexion des LED-Lichts in die Kamera zeigte, was auf eine breitere Lichtstreuung (teilweise von der Kamera weg) zurückzuführen ist;
- (iii) die Lichtreflexion eine Winkelabhängigkeit aufweist, mit erhöhter Interferenz bei kleineren Winkeln;
- (iv) hohe Belichtungszeiten der Kamera die Erfassung geringer Mengen an reflektiertem Anregungslicht begünstigen.

Die nächsten Schritte zielten darauf ab, mit dem Kamerasystem mit dem neuen LED-Bandpassfilter fluoreszierende Ap, die spezifisch an Metall gebunden waren, nachzuweisen. Zu diesem Zweck wurden AL7075-PU-Schachbrett-Proben verwendet, die mit (1 μ M) oder ohne eGFP-MBP1 behandelt waren. Bei einem Beleuchtungswinkel von $\sim 60^\circ$ und einer hohen Belichtungszeit (maximal) von 9 s konnte das Kamerasystem zwischen den Proben mit und ohne Ap unterscheiden. Die Ap-Fluoreszenz wurde hauptsächlich am blanken Aluminium beobachtet, entsprechend dem gitterartigen Muster, das die Oberflächendefekte in der PU-Beschichtung darstellt (**Abb. 21**). Die Kamerabilder stimmen hervorragend mit den mikroskopischen Aufnahmen (**Abb. 13**) überein und bestätigen die selektive Haftung von eGFP-MBP1 an das Metall.



Damit wurde der Meilenstein **MS4 - Demonstration/Visualisierung von Oberflächendefekten mittels fluoreszierender Ankerpeptide unter Verwendung eines industriellen Kamerasystems (TRL4)** erfüllt.

AP 3.2 Optimierung der Fluoreszenz-Bildgebung.

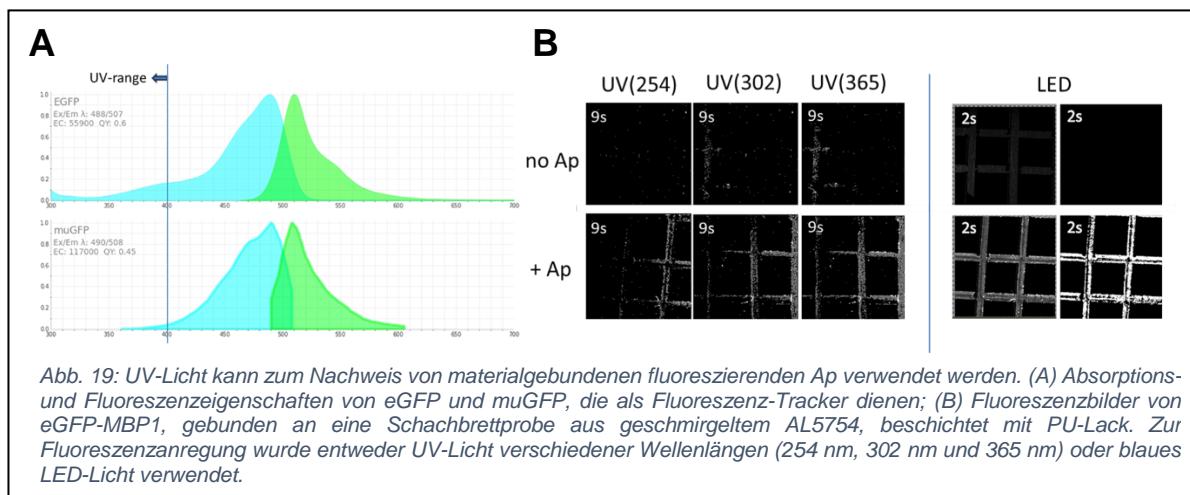
Status: Erfolgreich abgeschlossen (SLA, ABBt, LfB).

Bislang konnten die fluoreszierenden Ap nur durch hohe Belichtungszeiten in Verbindung mit einer Nachbearbeitung der ursprünglichen Originalbilder sichtbar gemacht werden. Die nächsten Schritte konzentrierten sich auf die Optimierung der Empfindlichkeit und Robustheit des Detektionssystems. Dabei würde der Einfluss der Ap-Konzentration und der Lichtquelle (Beleuchtungswinkel, Belichtungszeit und Lichtquellentyp) genauer untersucht. Um das Crossover des Anregungslichts weiter zu begrenzen, wurde UV-Licht als alternative Lichtquelle für die Fluoreszenzanregung in Betracht gezogen. Darüber hinaus sollte die Nachbearbeitung der aufgenommenen Bilder für die Datenextraktion optimiert und standardisiert werden. Um die Ap-Applikation zu vereinfachen und die Robustheit des Systems weiter zu verbessern, wurde ein Sprühsystem/-verfahren geplant, mit dem die fluoreszierenden Ankerpeptide auf die Testproben aufgetragen werden können. Die im Jahr 2024 durchgeführten Forschungsarbeiten in **AP2** und **AP3**, einschließlich der gewährten dreimonatigen kostenneutralen Verlängerung, wurden der Realisierung des letzten Meilensteins **MS5** (Demonstrator: Visualisierung auf einem beweglichen/rollenden Kamerasystem unter Verwendung von Proben mit mehreren verschiedenen Arten von Oberflächendefekten - TRL5) gewidmet.

AP 3.2.1 Limitierungen des industriellen Kamerasystems bei der Erkennung von Oberflächendefekten.

Die Experimente konzentrierten sich auf die Etablierung eines robusten Systems zur Visualisierung und Erkennung verschiedener Arten von Defekten in Oberflächenbeschichtungen durch die materialspezifische Anbindung von fluoreszierenden Ankerpeptiden. Bisher war für die erfolgreiche Unterscheidung von fluoreszierenden Ap mit dem industriellen

Kamerasystem ein zweiter Bandpassfilter erforderlich, der die LED abdeckte, um die Menge des von der Kamera erfassten blauen Anregungslichts zu minimieren, das das Fluoreszenzsignal überlagern würde. Ein Nachteil dieses Filters ist jedoch, dass er auch die Menge des Anregungslichts, das die Ap beleuchtet, reduziert, wodurch wiederum die Fluoreszenzemission verringert und damit auch die Gesamtempfindlichkeit des Detektionssystems herabgesetzt wird. Folglich waren materialgebundene Ap nur sichtbar, wenn die Bilder mit hohen Belichtungszeiten aufgenommen wurden. Ursprünglich waren Ap nur in Originalbildern mit einer Belichtungszeit von 9 s sichtbar (**Abb. 21**), aber nach dem Testen verschiedener Methoden der Bildnachbearbeitung waren Ap auch in Bildern mit 2 s (oder 4 s) Belichtungszeit sichtbar (**Abb. 22B**).



Für die Erstbewertung wurden die Originalbilder entweder in Microsoft Powerpoint mit der „*brightness*“ Funktion oder mit der frei verfügbaren Bildbearbeitungssoftware GIMP nachbearbeitet, wobei bei der letztgenannten hauptsächlich die Funktionen „*colour levels*“ und „*threshold*“ verwendet wurden. Es ist wichtig zu beachten, dass die hochauflösende Industriekamera trotz zahlreicher Bemühungen zur Optimierung des Bildaufnahmeverfahrens, einschließlich des Einbaus des Zusatzfilters und der Variation des LED-Beleuchtungswinkels und der Belichtungszeiten der Kamera, immer noch reflektiertes Anregungslicht aufzeichnete. **Um eindeutig nachzuweisen, dass die fluoreszierenden Ap an die Materialproben gebunden waren, erwies es sich daher als unerlässlich, auch nicht fluoreszierende Referenzbilder von äquivalenten Materialproben ohne Ap aufzunehmen, die in gleicher Weise nachbearbeitet wurden.**

Da der Einbau des LED-Zusatzfilters die Empfindlichkeit der Ap-Detektion reduzierte und die Erfassung des blauen Anregungslichts durch die hochempfindliche Industriekamera nicht vollständig eliminierte, wurde eine alternative Lichtquelle für die Fluoreszenzanregung in Betracht gezogen. Basierend auf den Absorptionsspektren des mit dem Ap fusionierten Fluoreszenz-Trackers (eGFP oder muGFP) kann im Prinzip UV-Licht zur Anregung verwendet werden (**Abb. 22A**). Es wurden verschiedene handelsübliche UV-Lampen mit den Wellenlängen 254 nm, 302 nm und 365 nm getestet, ohne dass ein Zusatzfilter erforderlich war. Tatsächlich konnte das UV-Licht die Ap-Fluoreszenz anregen, welche wiederum erfolgreich vom Kamerasystem aufgezeichnet wurde (**Abb. 22B, links unten**). Allerdings war der Nachweis von Ap nur bei der höchstmöglichen Belichtungszeit von 9 s möglich, was darauf hindeutet, dass die Fluoreszenzsignale schwach sind, was höchstwahrscheinlich auf die

intrinsischen niedrigen Lichtabsorptionseigenschaften von eGFP im Bereich von 300-400 nm zurückzuführen ist. Nichtsdestotrotz zeigen diese Ergebnisse erneut den erfolgreichen Nachweis von makroskopischen Oberflächendefekten in der PU-Beschichtung mit Hilfe von fluoreszierenden Ankerpeptiden, aber die Verwendung von UV-Licht führte leider nicht zu einer Verbesserung der Ap-Erkennung.

AP 3.2.2 Optimale Performance des alternativen Kamerasystems Dino-Lite bei der Erkennung von Oberflächendefekten.

Trotz der erfolgreichen Demonstration des „proof of concept“ weist das verwendete industrielle Kamerasystem erhebliche Einschränkungen hinsichtlich der Empfindlichkeit und Robustheit der Ap-Erkennung auf. Darüber hinaus musste die Kameraposition relativ zum Objekt immer sehr genau justiert werden, um scharfe Bilder zu erhalten; schon kleine Abweichungen führten zu unscharfen Bildern. Die Tatsache, dass die Kamera auf einem starren Stativarm montiert ist (**Abb. 19**), und die fehlende Tiefenschärfe verhindern eine praktische Bewegung des Kamerasystems, wie sie bei der angestrebten Defekterkennung an größeren Proben in einem „Scanning-Modus“ erforderlich wäre. Mit dem derzeitigen Aufbau des Kamerasystems wäre das Erreichen von **MS5** (Demonstrator: Visualisierung auf einem beweglichen/rollenden Kamerasystem unter Verwendung von Proben mit mehreren verschiedenen Arten von Oberflächendefekten - TRL5) daher eine große Herausforderung.

Daher wurde ein alternatives Kamerasystem, das am Institut für Biotechnologie für andere Forschungszwecke angeschafft wurde, für die Erkennung von Oberflächendefekten mittels fluoreszierender Ap in Betracht gezogen. Die Dino-Lite-Digitalkamera ist ein kompaktes All-in-One-Handgerät, das mit einer blauen 465-nm-LED für die Anregung und einem 510-545-nm-Emissionsfilter für die spezielle Untersuchung von Proben ausgestattet ist, die grüne Fluoreszenzsignale aufweisen (**Abb. 23**). Darüber hinaus ermöglicht der hochempfindliche Sensor die Erkennung geringer Fluoreszenzsignale, was durch eine einstellbare LED-Intensität weiter erleichtert wird. Ein weiteres Merkmal des Dino-Lite ist das weite Sichtfeld, das Beobachtungen im Makrobereich in einem angemessenen Arbeitsabstand ermöglicht. Das Dino-Lite wurde an einem flexiblen, verstellbaren Arm in einer Fotobox montiert, um Störungen durch das Umgebungslicht zu vermeiden (**Abb. 23**). Die Kamera wird über die benutzerfreundliche Software DinoCapture des Kameraherstellers bedient.

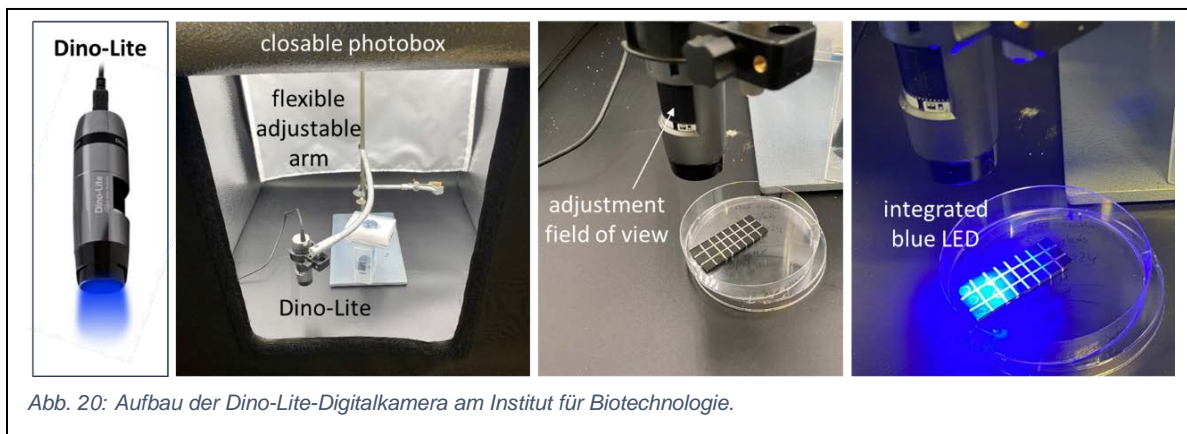
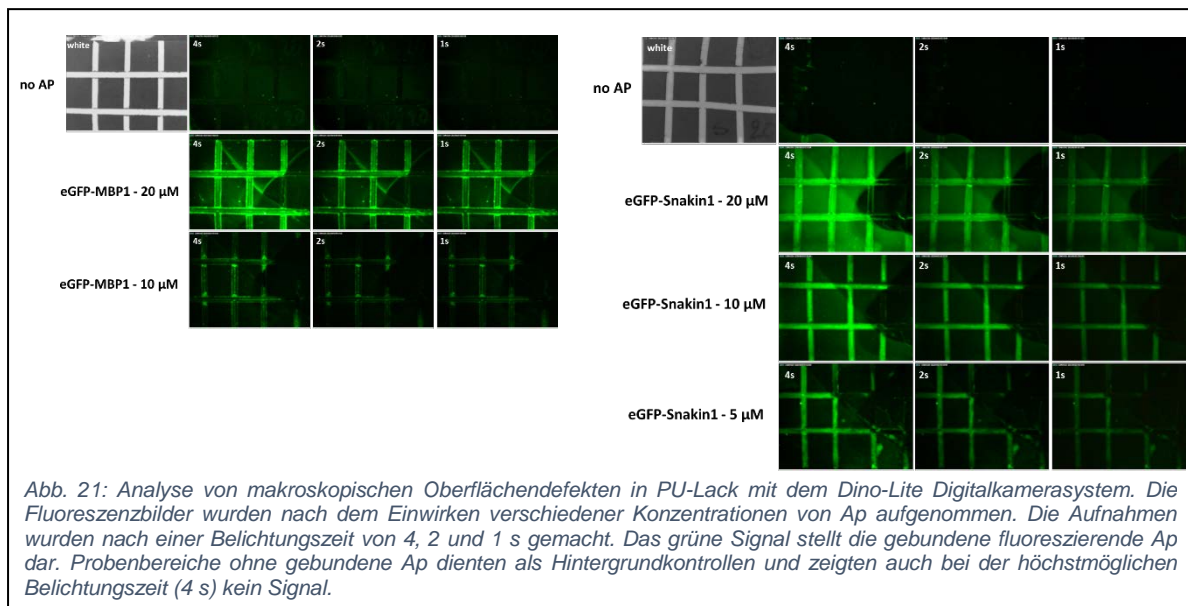


Abb. 20: Aufbau der Dino-Lite-Digitalkamera am Institut für Biotechnologie.

Für erste Kameratests wurden Schachbrettproben aus mit Sandpapier behandeltem und mit PU-Lack beschichtetem AL5754 mit verschiedenen Konzentrationen von eGFP-MBP1 oder eGFP-Snakin1 inkubiert. Nach der Applikation der Ap wurden mit der Dino-Lite-Kamera Bilder mit unterschiedlichen Belichtungszeiten aufgenommen (**Abb. 24**).



Bemerkenswert ist, dass die fluoreszierenden Ap mit der Dino-Lite-Kamera leicht zu erkennen waren und hauptsächlich auf dem blanken Aluminium beobachtet wurden, entsprechend dem gitterartigen Muster, das die makroskopischen Oberflächendefekte in der PU-Beschichtung darstellt (**Abb. 24**). Hintergrundkontrollen ohne Ap zeigten kein nennenswertes Signal, was darauf hindeutet, dass es keine Probleme mit einer möglichen Aufnahme von störendem Anregungslicht gab. Wichtig ist, dass es sich bei den gezeigten Bildern um WYSIWYG-Bilder (*engl. what-you-see-is-what-you-get*) handelt, d. h. die Bilder wurden in „Echtzeit“ erzeugt und erforderten keine Nachbearbeitung, um das von der Ap stammende Fluoreszenzsignal sichtbar zu machen. Darüber hinaus war das Dino-Lite-System im Vergleich zum industriellen Kamerasystem in der Lage, die Ap bei niedrigeren Belichtungszeiten, d. h. 1 s, zu detektieren.

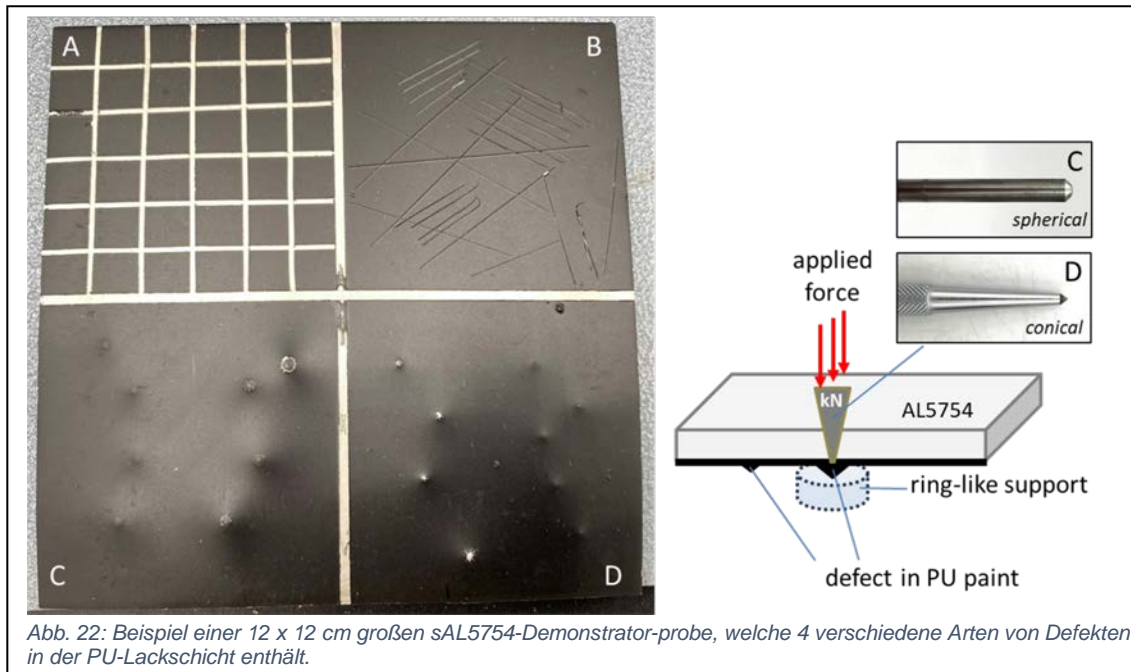
Die hervorragende Leistung des Dino-Lite-Systems zeigte sich auch darin, dass es sogar in der Lage war, Unterschiede in der Haftung der getesteten Ap aufzuklären. Während eGFP-MBP1 nur eine geringe unspezifische Bindung an den PU-Lack zeigte, zeigte eGFP-Snakin1 vor allem bei hohen Konzentrationen (20 µM) eine erhöhte Bindung an den PU-Lack (**Abb. 24**). **Insgesamt ist das Dino-Lite ein wesentlich geeigneteres Fluoreszenzkamerasystem für die Analyse von Oberflächendefekten, da es einfacher in der Handhabung ist, eine bessere Leistung bei der Erkennung von fluoreszierenden Ap aufweist, eine flexible bzw. mobile Bildaufnahme ermöglicht und keine Nachbearbeitung der Bilder erfordert.**

AP 3.2.3 Entwicklung von Demonstratorproben mit verschiedenen Arten von Defekten in der Oberflächenbeschichtung.

Nachdem ein einfaches gut funktionierendes Kamerasystem für die Detektion von fluoreszierenden Ap etabliert worden war, ging es im nächsten Schritt um die Entwicklung von Demonstratorproben mit verschiedenen Arten von Defekten in den Oberflächenbeschichtung (**Abb. 25**). Die Demonstratorproben wurden in enger Zusammenarbeit mit SLA in einem iterativen Prozess erstellt und weiter optimiert. Es wurde ein 12 x 12 cm Design gewählt, das

- (i) deutlich größer ist als die bisher verwendeten 5 x 2 cm Materialproben (Schachbrett) und
- (ii) die Kompatibilität mit fluoreszenzmikroskopischen Analysen beibehält.

Die standardisierten Demonstratorproben wurden mit Sandpapier (Körnung 600) behandelt

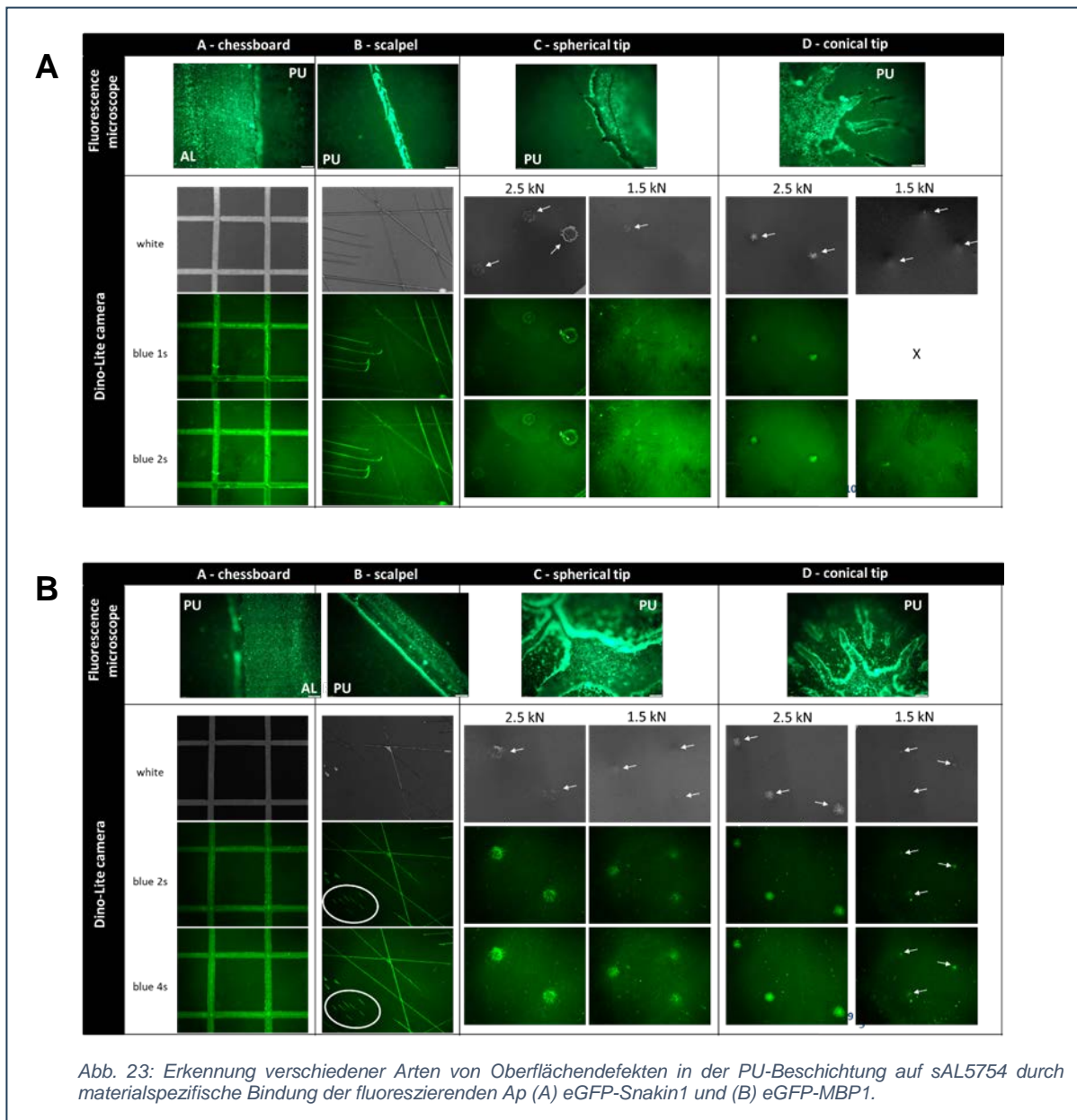


und anschließend mit 100% Isopropanol gereinigt und mit einer Schicht schwarzem PU-Sprühlack beschichtet. Jeder Demonstrator war in 4 Quadranten unterteilt, die unterschiedlichen Behandlungen unterzogen wurden, um verschiedene Arten von Defekten in der PU-Lackschicht zu erzeugen. Zu den eingebrachten Defekten gehörten (A) ein Schachbrettmuster, das makroskopische Defekte darstellt, welches mit einem speziellen schmalen Abdeckband vor dem Auftrag der Lackierung erzeugt wurde. (B) Skalpell-Kratzer und punktuelle Penetrationsdefekte, die entweder mit einer (C) kugelförmigen oder (D) konischen Metallspitze eingebracht wurden. Die punktuellen Penetrationsdefekte wurden mit einer Kraft von 1,5 kN bzw. 2,5 kN von der lackfreien Rückseite aus eingebracht. Es wurde eine ringförmige Unterlage verwendet, um periphere Schäden aufgrund von Druck auf den Bereichen um die Einstichstelle zu minimieren (Abb. 25). Nach dem Einbringen der punktuellen Einstiche wies das Blech eine leichte Biegung auf.

AP 3.2.4 Detektion von Oberflächendefekten in Demonstratorproben.

Die größere Oberfläche der Demonstratorproben erforderte eine Steigerung der Produktion und Reinigung der fluoreszierenden Ankerpeptide sowie eine Anpassung des Ap-Adhäsionsverfahren. Um eGFP-MBP1 und eGFP-Snakin1 in größeren Mengen zu produzieren, wurden Bakterienkulturen in größerem Maßstab (100 – 500 mL) angesetzt. Die erhaltenen Ap-Präparate wiesen eine für weitere Experimente ausreichende Reinheit auf. Die gereinigten Ap wurden in Bindungspuffer (50 mM Tris-HCl pH 8, 150 mM NaCl) in einem angemessenen Endvolumen auf eine endgültige Ap-Konzentration von 5 µM verdünnt, so dass die Demonstratorprobe vollständig in einem passenden Container bedeckt war. Anschließend wurde die Demonstratorproben mit der Ap-Lösung 30 - 90 Minuten bei Raumtemperatur unter leichtem Schütteln inkubiert, um die Ap-Haftung zu ermöglichen. Um nicht gebundene Ap zu entfernen, wurden die Proben aus der Ap-Lösung genommen und kurz in Bindungspuffer (1,7 L) gespült, woraufhin überschüssige Flüssigkeit mit einem fusselfreien optischen Papiertuch abgetropft wurde. Schließlich wurden die Proben in einem Laminar-Flow-Werkbank getrocknet

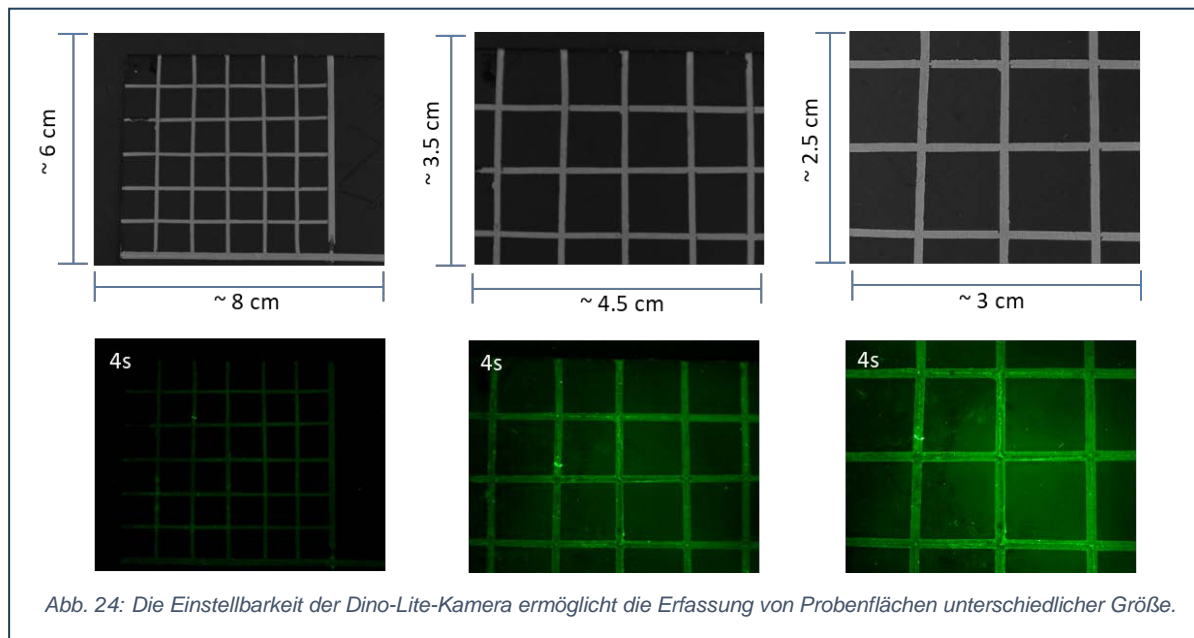
und dann mit dem Fluoreszenzmikroskop und dem Dino-Lite-Kamerasystem analysiert. Entsprechende repräsentative Bilder sind in **Abb. 26** dargestellt.



Entscheidend ist, dass das Dino-Lite-Kamerasystem die verschiedenen Arten von Defekten nach der materialspezifischen Bindung der fluoreszierenden Ap effektiv erfassen konnte. Bei der Verwendung von eGFP-Snakin1 waren die Fluoreszenzsignale im Allgemeinen intensiver als bei der Verwendung von eGFP-MBP1. Dieser Effekt lässt sich durch eine stärkere Adhäsion von Snakin1 an das Material erklären. Aber auch hier konnte das Dino-Lite eine unerwünschte höhere Hintergrundbindung an die PU-Beschichtung von eGFP-Snakin1 als von eGFP-MBP1 feststellen (**Abb. 26**). Die Analyse der molekularen Eigenschaften von eGFP-Snakin1 und eGFP-MBP1 mittels DLS deutet darauf hin, dass eGFP-Snakin1 eher zur Selbstassoziation neigt als eGFP-MBP1, was zu der beobachteten höheren Fluoreszenzintensität und der erhöhten Hintergrundbindung beigetragen haben könnte. Insgesamt macht die höhere Bindungsspezifität von eGFP-MBP1 gegenüber sAL5754 eGFP-MBP1 besser geeignet für die Erkennung von Oberflächendefekten.

Die bessere Leistung von eGFP-MBP1 bei der Erkennung von Defekten zeigt sich auch darin, dass Oberflächendefekte, die bei Verwendung von normalem Weißlicht kaum sichtbar waren, durch die Fluoreszenz des gebundenen eGFP-MBP1 deutlicher sichtbar werden. Beispiele hierfür sind in **Abb. 26B** für kleinere Skalpell-Kratzer (durch weiße Kreise gekennzeichnet) und für einige 1,5 kN Punktpenetrationsdefekte zu sehen. Es ist zu erwähnen, dass auf den Bildern auch manchmal stark fluoreszierende kleine runde Punkte zu sehen waren, die nicht auf Oberflächenfehler zurückzuführen sind. Bei diesen Stellen handelt es sich wahrscheinlich um Staub oder andere feine Partikel aus der Umgebung, die intrinsische fluoreszierende Eigenschaften haben oder durch die Ap-Bindung fluoreszierend geworden sind. Solche Vorkommnisse sollten bei der Entwicklung der Software zur Fehlererkennung berücksichtigt werden, da diese in der Lage sein sollte, die Defekte vom Störsignal zu unterscheiden.

Ein weiterer Vorteil des Dino-Lite gegenüber der Industriekamera ist die Tatsache, dass es einen größeren Probenbereich abdecken kann (**Abb. 27**). Während das Fluoreszenzmikroskop einen Sichtbereich von nur $\sim 0,8 \times 1,1$ mm (bei 10-facher Vergrößerung) abdeckt, deckt das industrielle Kamerasystem $\sim 1,4 \times 1,4$ cm ab. Bei diesen beiden Systemen führen bereits kleine Änderung des Abstands der Optik zu den untersuchten Objekten zu unscharfen Bildern. In scharfem Kontrast dazu kann der Arbeitsabstand des Dino-Lite aufgrund des manuell einstellbaren Sichtfeldes leichter variiert werden, was eine größere Erfassung des Probenbereichs ermöglicht (**Abb. 27**). Es ist jedoch zu beachten, dass bei identischen Beleuchtungsbedingungen eine Vergrößerung des Abstands zwischen Objekt und Dino-Lite zu einer Abnahme des von der Kamera erfassten Fluoreszenzsignals führt (**Abb. 27, vergl. Fluoreszenzbilder von rechts nach links**).



Insgesamt erwies sich die Dino-Lite-Kamera als ein wesentlich einfacheres und robusteres optisches System für die Visualisierung von Oberflächendefekten, mittels materialspezifischer Adhäsion der fluoreszierenden Ap. Mit diesen Ergebnissen ist der wichtigste Teil des letzten Meilensteins MS5 erfüllt. Der bewegliche/rollende Aspekt von MS5 in Bezug auf das Kamerasystem kann dadurch gelöst werden, dass das Dino-Lite leicht von Hand bedient werden kann, so dass Objekte dynamisch untersucht werden können. Dabei sind jedoch mehrere Aspekte kritisch zu beachten. Erstens muss sich das untersuchte Objekt in einer dunklen Umgebung befinden, um Streulicht zu vermeiden, das das Fluoreszenzsignal

stören könnte. Zweitens muss die Kamerabewegung mit den für die Aufnahme von Bildern/Videos verwendeten Belichtungszeiten kompatibel sein. Erste Versuche, Defekte unter dynamischen Bedingungen mit der verfügbaren Hardware zu detektieren, waren vielversprechend. Zu diesem Zweck wurde das Dino-Lite in einer festen Position in der geschlossenen Fotobox montiert und die Proben wurden langsam manuell unter der Kamera bewegt. Die dabei aufgenommenen kurzen Videos zeigten eine erfolgreiche Erfassung der Oberflächendefekte. Allerdings waren die Aufnahmen nicht immer fokussiert, was zeigt, dass die Bewegung so abgestimmt/automatisiert werden muss, dass sie mit den für den Nachweis der emittierten Fluoreszenz erforderlichen Belichtungszeiten kompatibel ist.

AP 3.3 Bildverarbeitungs-Algorithmen.

Status: Erfolgreich abgeschlossen (LfB).

In der Anfangsphase des Projekts wurde die Datenerfassung mit Hilfe der Vimba-Software für den Betrieb des industriellen Kamerasystems durchgeführt. Die inhärenten Einschränkungen der Softwarearchitektur von Vimba machten es jedoch für automatisierte Bildakquisitionsaufgaben, die für die Projektziele entscheidend waren, ungeeignet. Die Konfiguration des industriellen Kamerasystems ist durch eine Vielzahl von Hyperparametern gekennzeichnet, wie beispielsweise Belichtungszeit, Modi der Blitzlichtkameraaktivierung und die Frequenz des Blitzlichtaktivierungssignals. Die manuelle Anpassung dieser Hyperparameter ist nicht nur arbeitsintensiv, sondern angesichts des Umfangs und der geforderten Präzision auch unpraktisch. Darüber hinaus erforderte das Projekt die Integration angepasster Bildverarbeitungsalgorithmen, einschließlich der Vor-/Nachbearbeitung von Bildern und dem Einsatz von maschinellen Lernalgorithmen zur Erkennung von Strukturrissen.

AP 3.3.1 Software-Entwicklung.

Um den Projektanforderungen gerecht zu werden, wurde ein anspruchsvolles und flexibles Software-Framework entwickelt. Hiermit sollten nicht nur die durch das initiale Kamerasystem gestellten Einschränkungen adressiert werden, sondern auch komplexe Verarbeitungsworkflows eingebettet werden können, die für eine effektive Analyse und Interpretation der erfassten Daten unerlässlich sind. Die entwickelte Softwarelösung lässt sich nahtlos in unterschiedliche Hardwarekonfigurationen integrieren, erlaubt es, den Prozess der Hyperparameteroptimierung zu automatisieren, und erleichtert die Implementierung modernster Bildverarbeitungs- und maschineller Lernalgorithmen. Dadurch wurde die Akquisition von qualitativ hochwertigen Daten ermöglicht und ein Testen verschiedener Aufnahmeszenarien realisiert. **Abb. 28** zeigt die allgemeine, webbasierte, benutzerfreundliche Software, die am LfB entworfen und entwickelt wurde. Der Benutzer kann nicht nur die Konfiguration über die GUI (*Graphical User Interface*)-Oberfläche ändern, sondern auch per Remote-Zugriff auf die GUI und den Datenbankserver zugreifen. **Abb. 29** zeigt die Gesamtsoftwarearchitektur, die drei verschiedene Softwaremodule umfasst: Datenerfassung, Algorithmen und Visualisierung. Es wurden dabei ausschließlich Open-Source APIs wie Streamlit, InfluxDB und ZMQ ausgewählt, um sicherzustellen, dass die Software mit minimalen Kosten bereitgestellt und gewartet werden kann.

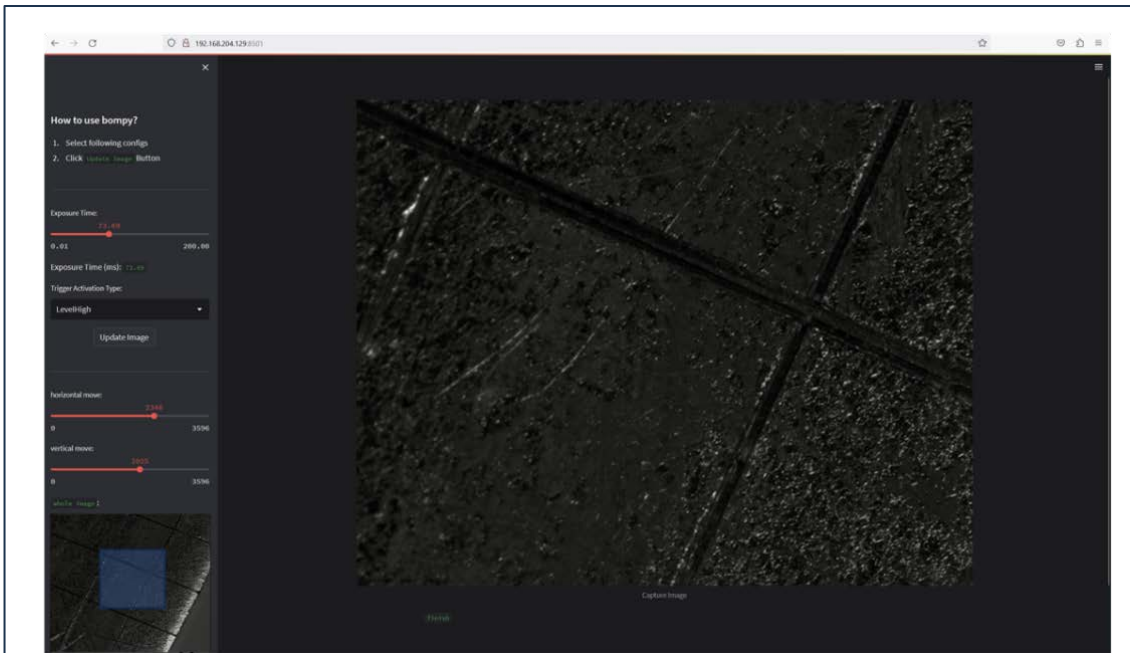


Abb. 26: Beispielbild der entwickelten Erkennungssoftware mit zahlreichen interaktiven Funktionen die über eine webbasierte Benutzerschnittstelle realisiert wurden. Die angepasste Software wurde mithilfe von frei verfügbaren Bibliotheken wie Streamlit umgesetzt und verwendet u. a. einen InfluxDB-Datensatz und benutzerfreundliche Bedienfelder.

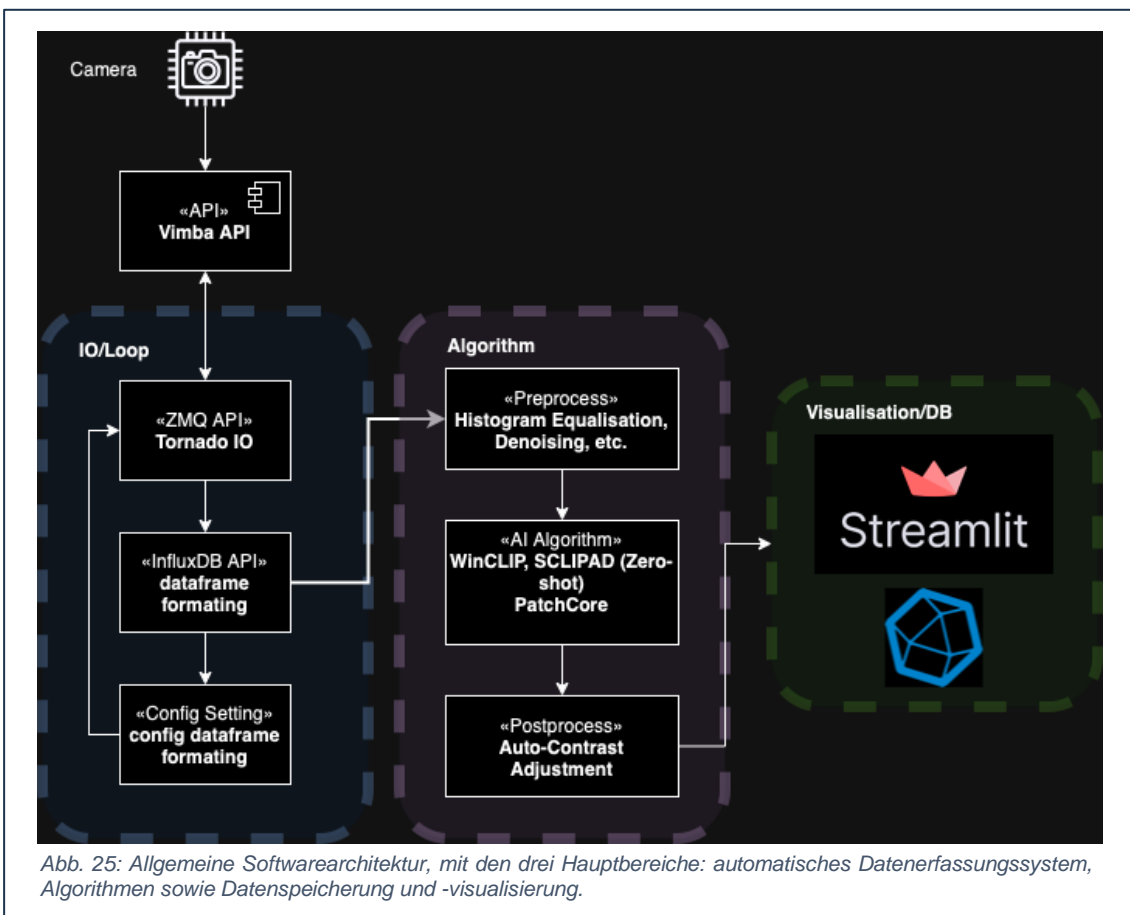
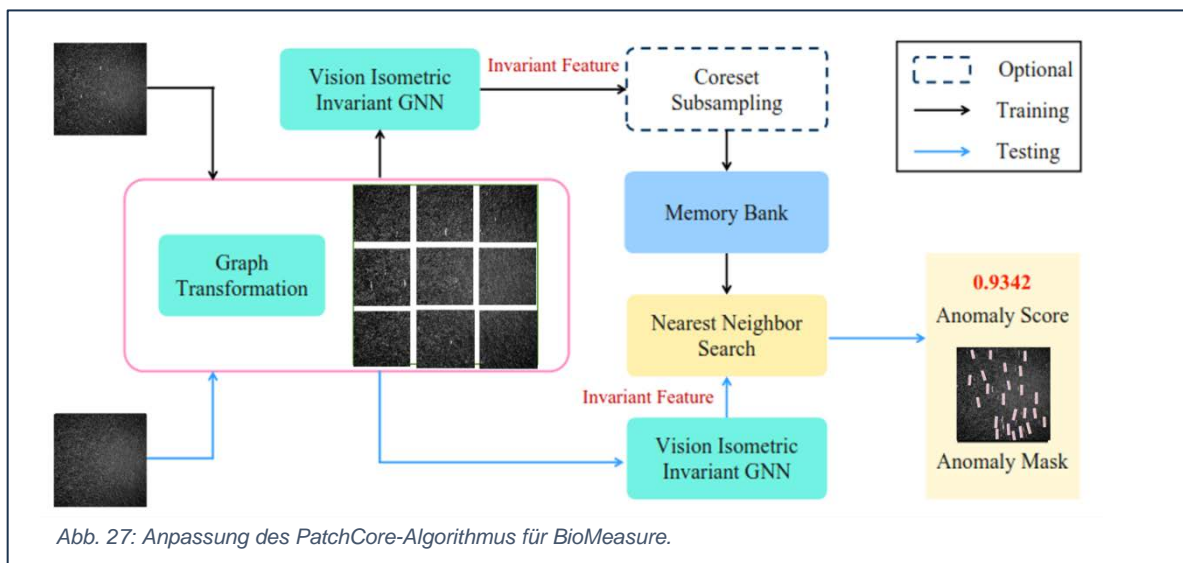


Abb. 25: Allgemeine Softwarearchitektur, mit den drei Hauptbereiche: automatisches Datenerfassungssystem, Algorithmen sowie Datenspeicherung und -visualisierung.

AP 3.3.2 Entwicklung von Algorithmen.

Die erzeugten Bilder wurden wiederum verwendet, um ein CNN-basiertes KI-Modell zu trainieren, das es erlaubt, Oberflächenfehler effektiv zu identifizieren. Nachdem die generelle Funktionalität des Ansatzes bereits bestätigt werden konnte, wurde das KI-Modell in den finalen Optimierungsiterationen im Hinblick auf Datenknappheit verfeinert. Ziel war es, mit einer stark begrenzten Anzahl an Trainingsdaten eine hohe Genauigkeit bei der Objekterkennung zu erreichen. Bei Verfügbarkeit von zusätzlichen Trainingsdaten sollte jedoch weiterhin die Genauigkeit des Modells gesteigert werden können. Die Rechenanforderungen an die automatisierten Auswertealgorithmen wurden zudem minimiert, um eine Anwendung auf tragbaren Geräten wie Laptops gewährleisten zu können und so die finale Anwendung der gesamten Analysepipeline direkt am zu untersuchenden Objekt durchführen zu können.



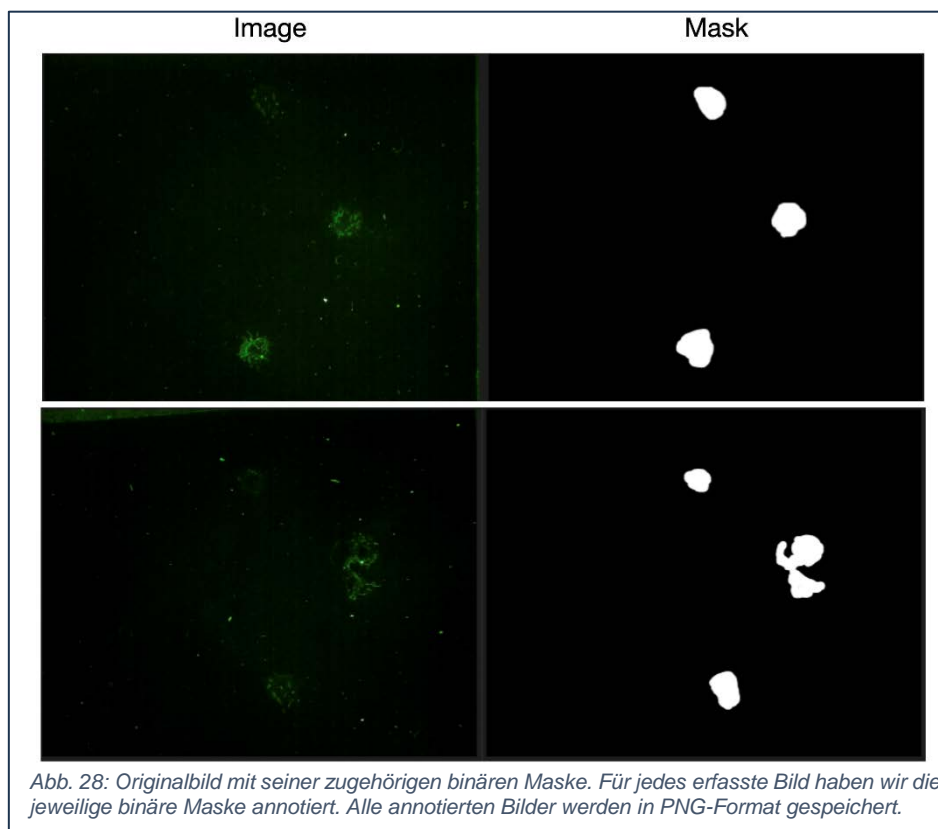
PatchCore (**Abb. 30**) arbeitet nach dem Prinzip der Merkmalsextraktion gefolgt von einer Suche nach dem nächsten Nachbarn innerhalb der Merkmalsdatenbank (*engl. memory bank*). Hierfür verwenden wir ein vortrainiertes tiefes Convolutional Neural Network (CNN), um Merkmalsrepräsentationen von Bildausschnitten zu extrahieren. Diese Merkmale erfassen im Idealfall alle relevanten Informationen, wie die Textur oder Oberfläche fehlerfreier Proben aussehen sollte. Sobald das Modell mit Bildern von normalen, rissfreien Oberflächen trainiert wurde, kann es neue Bilder bewerten, indem es deren extrahierte Merkmale mit der normalen Merkmalsdatenbank vergleicht. Der Algorithmus setzt diesen Vergleich effizient mit einem Core-Set-Ansatz um, der die Rechenkosten erheblich reduziert, indem er eine repräsentative Teilmenge des gesamten Datensatzes beibehält.

Für die Rissdetektion unterscheidet PatchCore zwischen normalen und anomalen („gerissenen“) Ausschnitten basierend auf der Ähnlichkeit ihrer Merkmale mit der gelernten normalen Datenbank. Anomalien werden identifiziert, wenn der Merkmalsabstand zwischen einem Testbildausschnitt und dem nächsten Nachbarn im Core-Set einen bestimmten Schwellenwert überschreitet, was auf eine Abweichung vom normalen Erscheinungsbild der Oberfläche hindeutet. Diese Methode ist besonders effektiv bei der Erkennung von subtilen und feinkörnigen Anomalien (z.B. Risse), die möglicherweise nicht leicht sichtbar und durch traditionelle Bildverarbeitungstechniken nicht ausreichend unterscheidbar sind. Die Stärke von PatchCore liegt in der Fähigkeit, mit hochdimensionalen Daten umgehen zu können und auch

in komplexen visuellen Kontexten eine hohe Erkennungsgenauigkeit zu gewährleisten. Daher ist dieser Ansatz gut für die automatisierte Rissdetektion bei der Überwachung kritischer Infrastrukturen geeignet, wo Zuverlässigkeit und Präzision von größter Bedeutung sind. Da für die Implementierung lediglich Abhängigkeiten von Open-Source-Bibliotheken und -Frameworks bestehen, ist die Methode potenziell auch für die Anwendung in verschiedenen industriellen Kontexten und Forschungsanwendungen einsetzbar (z.B. für die Zustands- und Sicherheitsüberwachung von Gebäuden, Straßen, Brücken und anderer kritischer Infrastruktur).

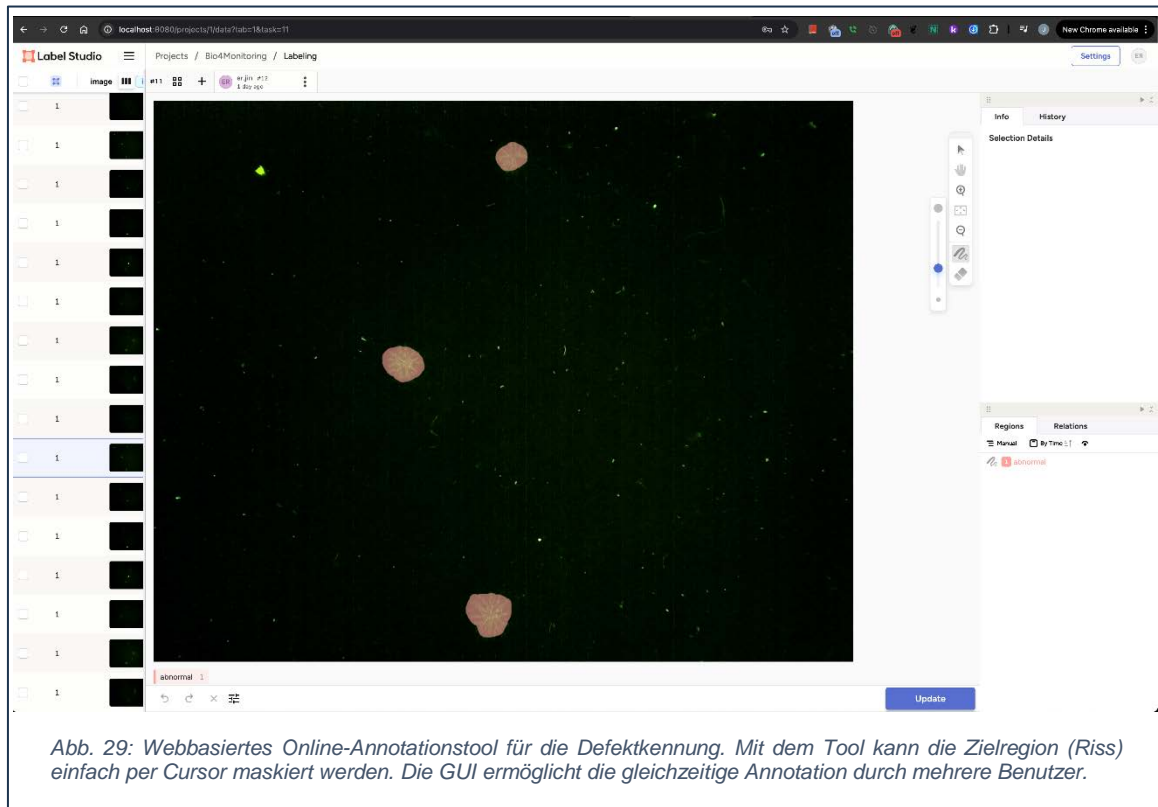
AP 3.3.3 Datenbank und Annotationsoftware.

Im nächsten Schritt wurde mit dem performanteren Dino-Lite-Kamerasystem ein umfassender Datensatz aufgenommen, um den Algorithmus zur Risserkennung zu entwickeln und dessen Performance quantitativ bewerten zu können. Zunächst wurde der Datensatz nach der Erfassung in einem öffentlichen Repository gespeichert, um die Transparenz und Reproduzierbarkeit zu gewährleisten. Für die Annotation haben wir mehrere State-of-the-Art-Tools wie COCO-Annotator, Label Studio und andere getestet. Letztendlich entschieden wir uns aufgrund seiner vorteilhaften Eigenschaften für Label Studio: Es ist Open-Source, benutzerfreundlich, serverlos und weist eine geringe Rechenbelastung auf. **Abb. 31** und **Abb. 32** zeigen die Annotationsergebnisse sowie die grafische Benutzeroberfläche (GUI) zur Erstellung von Masken.



Für alle erfassten Bilder wurden binäre Maskenbilder zur Markierung der Zielregionen erstellt (z. B. Schäden innerhalb der Oberflächenbeschichtung, Verformungen und kleine Löcher). Das binäre Maskenformat vereinfacht das Training neuronaler Netzwerkalgorithmen wie PatchCore und WinCLIP zur Leistungsüberprüfung.

Abb. 31 zeigt die GUI der implementierten Annotationssoftware. Diese webbasierte Software bietet einen serverlosen Betrieb sowie eine sehr intuitive Benutzeroberfläche mit Funktionen wie Fernzugriff, Online-Login, lokalen Datenbanken, Multi-User-Support und mehr. Mit diesem Tool konnten wir alle Bilder innerhalb einer Stunde annotieren, während herkömmliche Methoden mehrere Tage in Anspruch nehmen würden. Nach Abschluss des Annotationsprozesses konnte der annotierte Datensatz in verschiedenen Formaten exportiert werden, darunter JSON, CSV und binäre Maskenbilder. Die Software wurde zukunftssicher entwickelt und gewährleistet eine nahtlose Integration in Machine-Learning- und Open-Source-Pipelines.



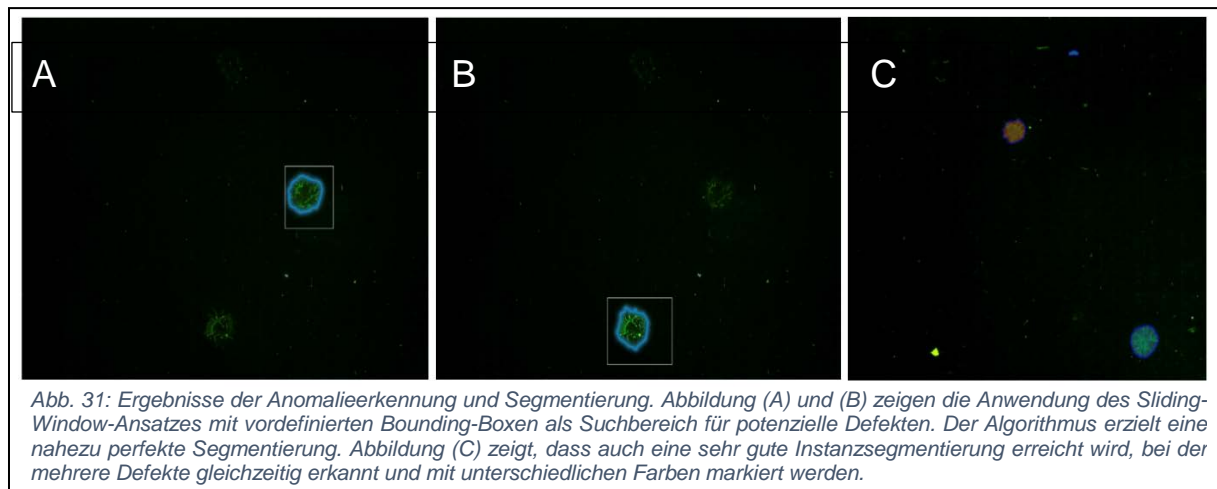
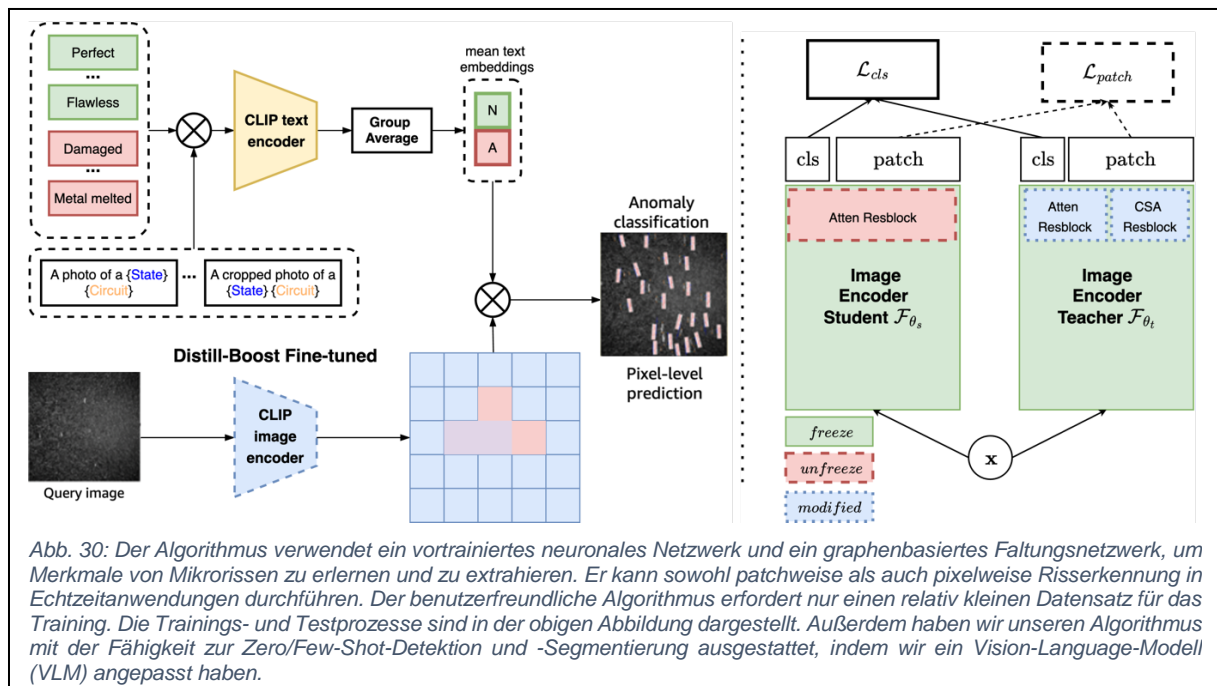
AP 3.3.4 Weiterentwicklung des KI-Algorithmus.

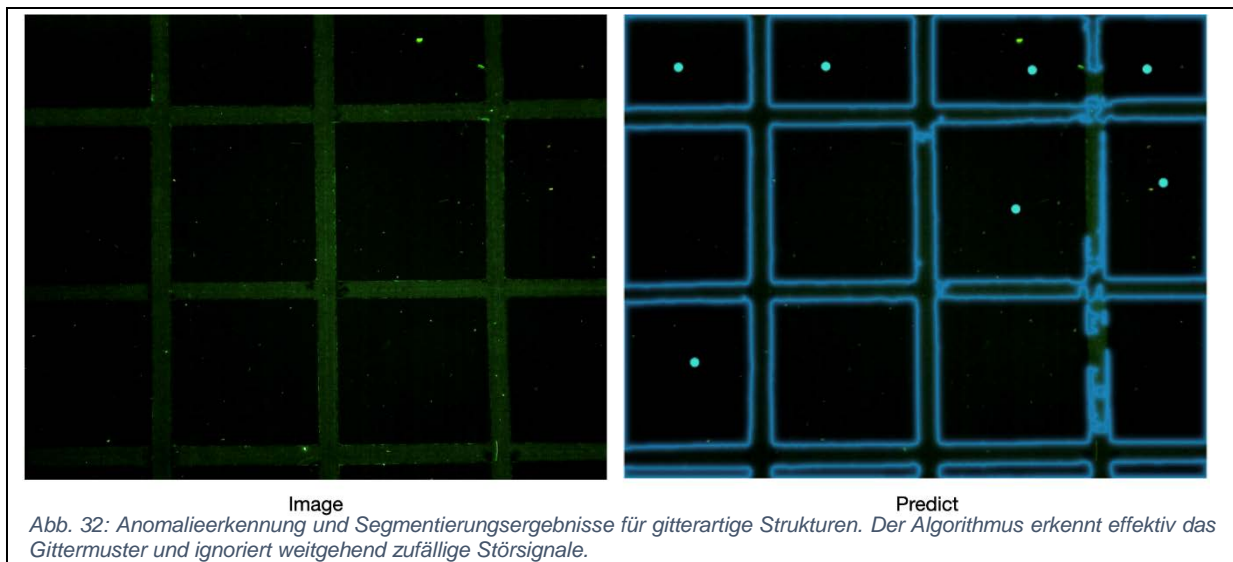
Der KI-Algorithmus zur Erkennung von Oberflächendefekten (s. **Abb. 33**) wurde weiterentwickelt und von Modellen wie WinCLIP und PatchCore inspiriert. Die Hauptziele des Entwicklungsprozesses waren:

1. Minimierung der Größe des erforderlichen Trainingsdatensatzes.
2. Erreichen von schnellen Inferenzzeiten.
3. schneller Einsatz und Kompatibilität mit dem neuesten vortrainierten Modell.

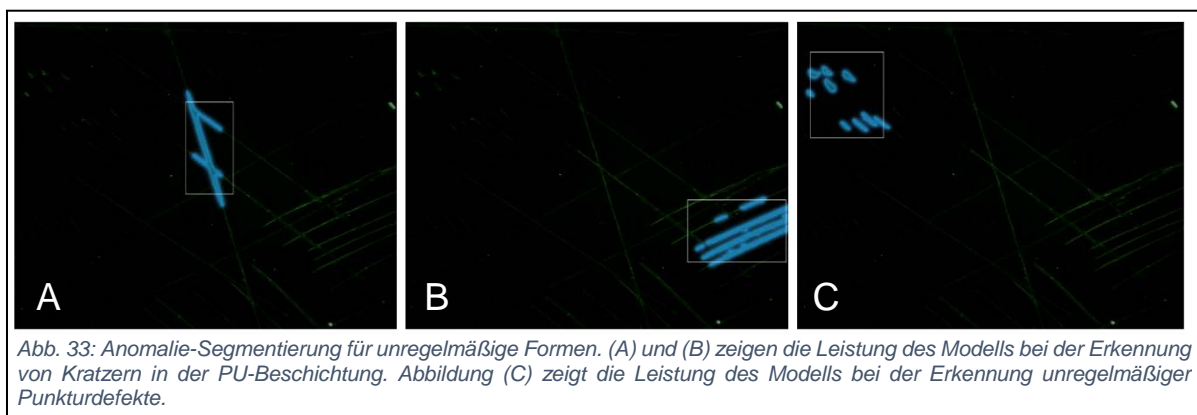
Um diese Ziele zu erreichen, haben wir ausschließlich auf Open-Source-Pipelines wie CLIP, GroundingDINO und SAM als Basismodelle zurückgegriffen. Da die ursprünglichen vortrainierten Modelle nicht speziell für unsere Anwendung konzipiert waren, wurden mehrere notwendige Erweiterungen in das Design der optimierten Inferenzpipeline integriert, darunter Knowledge Distillation, Sliding Window-Methoden und Text Prompt Engineering. Mit nur minimalem Einsatz von Rechenressourcen konnte dadurch eine hohe Leistung bei der Anomalieerkennung bzw. Defekterkennung erzielt werden. Der etablierte Algorithmus erreichte eine AUROC von 89 % und einen F1-Score von 90 %. **Abb. 34** und **Abb. 35** zeigen

die Effektivität des Modells bei der Detektion und unterstreichen, dass der Algorithmus regelmäßig geformte Strukturen wie Löcher und Gittermuster effektiv erkennen kann.





Um die Leistung des Algorithmus weiter zu überprüfen, wurde die gewählte Pipeline an unregelmäßig geformten Zielstrukturen wie Kratzern und punktuellen Defekten getestet. Eine der größten Herausforderungen besteht darin, dass der Algorithmus zur Fehlererkennung in der Lage sein muss, die unregelmäßigen Defekte von Störsignalen zu unterscheiden. Diese zufälligen Störungen werden hauptsächlich durch Aerosole (Staubpartikel oder Tröpfchen) verursacht. Der Algorithmus zeigte eine deutliche Reduzierung der Falsch-Positiv-Rate, indem er lediglich die relevanten Zielstrukturen erkennt, wie in **Abb. 36** dargestellt.



Durch die ausgeklügelte Segmentierung können unnötige Rauscheffekte weitgehend eliminiert werden. Die Leistungsfähigkeit des gewählten Algorithmus hängt jedoch stark von der Größe der verwendeten Sliding-Windows ab. Bei größeren Sliding-Windows verschlechtert sich die Leistung signifikant, da das größere Suchfeld das Risiko von Fehlklassifikationen erhöht. Diese Herausforderung unterstreicht die Wichtigkeit einer präzisen Parametrierung für die spezifische Anwendung. Da der Algorithmus mit einem sehr begrenzten Datensatz (weniger als 10 Bilder) feinjustiert und trainiert wurde, besteht das Potenzial, die Leistung des Modells durch die Vergrößerung des Trainingsdatensatzes erheblich zu steigern. Ein größerer und vielfältigerer Datensatz würde dem Modell ermöglichen, besser mit der Variabilität unregelmäßiger Zielstrukturen umzugehen, was zu einer weiteren Verringerung der Falsch-Positiv-Rate und einer verbesserten Erkennung von feineren oder kleineren Anomalien führen könnte. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Algorithmus trotz des geringen Trainingsumfangs vielversprechende Ergebnisse liefert. Durch die Optimierung der Sliding-

Window-Größe sowie die Erweiterung des Trainingsdatensatzes könnte die Detektionsgenauigkeit für unregelmäßige und reguläre Zielstrukturen in industriellen Anwendungen weiter verbessert werden.

AP 3.4 Vergleich mit geometrischem System und AP 3.5 Bewertung der Robustheit

Status: Abgeschlossen (siehe AP3.3 - SLA, ABBt, LfB).

AP 4 Überführung in ein industriell anwendbares Konzept (AP 4.1 - 4.3).

Status: Nicht begonnen. Aufgrund der technischen Komplikationen und der verschiedenen Verzögerungen im Projekt wurden nach einem Treffen mit Vertretern des Projektträgers realistisch erfüllbare Meilensteine neu formuliert. Die Projektpartner (SLA, ABBt, LfB) und der Projektträger hielten es nicht für sinnvoll, das Projekt in der jetzigen Form auszugründen.

2. Darstellung der wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Für die Laufzeit von 2 Jahren und 6 Monate (kostenneutral verlängert um 3 Monate) fielen folgende Personalkosten an: ABBt: 19 PM E13; SLA: 17.7 PM E13 und eine studentische Hilfskraft (9743,51€), LfB: 19.5 PM E13 und HiWi (8983,74€) an. Verbrauchsmittel und Dienstreisen wurden gemäß Antrag verausgabt. Reisekosten dienten hauptsächlich zur Teilnahme der Projektmitarbeiter an Projektmeetings und Tagungen. Im Rahmen des Projekts wurde an einer Schulung über die korrekte und sichere Anwendung des Farbeindringverfahrens teilgenommen. Die Farbeindringprüfung ist eine zerstörungsfreie Prüftechnik (ZfP), die zum Erkennen von Oberflächendefekten wie Rissen, porösen Stellen und anderen Anomalien in Werkstoffen wie Metallen, Kunststoffen und Keramiken angewandt wird.

3. Darstellung der Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die beantragten Mittel für die experimentellen und rechnerischen Arbeiten können nicht über die universitäre Grundausstattung bereitgestellt werden. Die experimentelle Durchführung und der erfolgreiche Abschluss der beantragten Verbundarbeit waren nur durch die finanzielle Unterstützung des BMBF möglich. Insbesondere die Personalkosten, aber auch die Sachkosten konnten nicht durch Haushaltsmittel gedeckt werden, was die aufgewendeten Mittel im Rahmen des Projektes rechtfertigt. Die fachspezifische Grundausstattung für das Projekt wurde vom Lehrstuhl für Biotechnologie, dem Institut für Strukturmechanik und Leichtbau sowie dem Lehrstuhl für Bildverarbeitung zur Verfügung gestellt. Im Laufe des Projekts wurde das notwendige optische Aufnahmesystem angeschafft, welches eine hochauflösende Industriekamera, einen Laptop, Objektive, eine blaue LED-Leuchte zur Fluorophoranregung sowie verschiedene optische Filter umfasst. Um dem hohen Kapazitätsbedarf für die Herstellung und das Screening der verschiedenen Ap-Fusionskonstrukte abzudecken, wurde ein Schüttler für Mikrotiter- und Deep-Well-Platten angeschafft. Für die direkte Vor-Ort-Detailuntersuchung von Testproben, die mechanisch belastet und/oder mit Oberflächenfehlern versehen wurden, wurde ein Digitalmikroskop angeschafft.

4. Voraussichtlicher Nutzen, Verwertbarkeit der Ergebnisse im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Im Rahmen des Projektes Bio4Monitoring wurde eine neuartige biobasierte Technologie für den Nachweis von Defekten in PU-Schutzbeschichtungen auf Aluminium etabliert. Diese neuartige biobasierte Methode zum Nachweis von Oberflächendefekten nutzt das Prinzip der selektiven Adhäsion von Ankerpeptiden an verschiedenen Materialtypen und kann in Prinzip auf jede Kombination von Schutzschichten und Substratmaterialien übertragen werden. Dieser biobasierte Ansatz hat daher großes Potenzial, einen wesentlichen Beitrag zur Biotransformation der industriellen zerstörungsfreien Prüfung (ZfP oder *engl. NDT*) bei der Zustandsüberwachung von Leichtbaumaterialien und -strukturen zu leisten. Je zuverlässiger auch kleine Defekte erkannt werden, desto länger kann das Prüfintervall gewählt werden, was Kosten, Material und die Umwelt schont. Im Bereich Software wurde eine Analysepipeline entwickelt, die eine automatisierte Datenerfassung, die Ansteuerung von Analysealgorithmen und die Visualisierung der aufgenommenen Proben erlaubt und aufgrund der Nutzung von Open-Source Softwarepaketen unmittelbar in andere Umgebungen integriert werden könnte. Aufgrund der dateneffizienten Algorithmen, die auch mit wenig Annotationen akkurate Defektdetektionen erzielen können, würde eine Adaption auf ein neues Anwendungsfeld voraussichtlich mit sehr überschaubarem Annotations- und Implementierungsaufwand realisiert werden können. Die etablierte Ankerpeptid-basierte ZfP-Methode stellt einen neuartigen biobasierten Ansatz für die Detektion und Erkennung von Oberflächendefekten in Schutzschichten auf Metallen dar, mit Potenzial für (i) die weitere Entwicklung in Hinblick auf höhere TRL, (ii) die Zusammenarbeit mit Unternehmen sowie (iii) die Softwareentwicklung. In diesem Zusammenhang ermöglichte die Teilnahme an den Bio4MatPro-Statusseminaren und einem Kurs zum ZfP-Farbeindringverfahren den Wissensaustausch und die Einbeziehung alternativer Technologien sowie die Identifizierung komplementärer Fachkenntnisse und Partner, z. B. im Bereich der Materialkorrosion und der Herstellung von hochwertigen Polymermaterialien wie Polyurethane. Zusammengenommen können die erzielten Ergebnisse als Grundlage für weitere Forschungen im Bereich der Biologisierung des Bau- und Ingenieurwesens genutzt werden, um sich für Ausschreibungen zur Entwicklung von Kern-Technologien zur Lösung von Umweltproblemen, z.B. im Rahmen von Horizon Europe oder BMBF, zu bewerben.

5. Darstellung der während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordenen Fortschritts auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Fluoreszenzbasierte Ansätze im Bereich der Überwachung des Materialzustands (SHM) gewinnen erheblich an Bedeutung. In mehreren neueren Veröffentlichungen werden auf Lumineszenz oder Fluoreszenz basierende Ansätze zur Überwachung struktureller Schäden an Materialien beschrieben^{22,23,24}. Die beschriebenen Systeme beruhen auf dem Einschluss von lumineszierenden/fluoreszierenden Reporter-molekülen in verschiedene polymere Materialien. Für die etablierten Systeme konnte ein quantitativer Zusammenhang zwischen der angewandten mechanischen Belastung und der Lumineszenz-/Fluoreszenzintensität bzw. Farbe nachgewiesen werden. Ein wichtiger Nachteil dieser „selbstberichtenden“ Systeme ist jedoch, dass der erforderliche Einbau der Reporter-moleküle die physikalischen Eigenschaften

²² Magrini et al. (2021); Tough Bioinspired Composites That Self-Report Damage. *ACS Appl. Mater. Interfaces*; 13(23): p. 27481-27490.

²³ Davis et al. (2021); Activation of Mechanophores in a Thermoset Matrix by Instrumented Scratch. *ACS Appl. Mater. Interfaces*; 13(46): p. 55498-55506.

²⁴ Sagara et al. (2021); Mechanically Responsive Luminescent Polymers Based on Supramolecular Cyclophane Mechanophores. *J. Am. Chem. Soc.*; 143(14): p. 5519-5525.

des untersuchten Materials verändern kann. Im Gegensatz dazu verändert unser neuartiger, auf fluoreszierenden Ankerpeptiden basierender Ansatz für SHM die intrinsischen Eigenschaften der untersuchten Materialien nicht, da die Ankerpeptidbeschichtungen nur auf die Materialoberfläche aufgebracht werden, von der sie durch ein einfaches Waschverfahren mit einer wässrigen Lösung leicht entfernt werden können. Darüber hinaus ermöglicht unser auf Ankerpeptiden basierender Ansatz eine maßgeschneiderte Anpassung der Ankerpeptide für eine selektive Bindung an jedes beliebige Material. Ein solches Selektivitätsmerkmal ist für die „selbstberichtenden“ Systeme noch nicht beschrieben worden.

Desweiteren werden fluoreszierende magnetische Partikel in der zerstörungsfreien Prüfung (NDT) von Oberflächendefekten in Metallen eingesetzt²⁵. Wu et al. (2023) berichteten über eine Lern-gestützte Risserkennung und 3D-Lokalisierung für die automatisierte Prüfung mit fluoreszierenden magnetischen Partikeln. Die vorgestellte Methode ermöglicht die Erkennung von Rissen im Millimeterbereich und beruht auf der "Leckage" des Magnetfelds am Oberflächendefekt, welche eine lokale Anhäufung von Magnetpartikeln mit Fluoreszenzfarbstoffen bewirkt. Die entsprechenden Materialdefekte wiederum werden durch die Anwendung von ultraviolettem Licht sichtbar gemacht. Während diese Methode auf chemische Farbstoffe und schädliches (für den Bediener und UV-empfindliche Materialien) ultraviolettes Licht angewiesen ist, stellt unsere auf fluoreszierenden Ankerpeptiden basierende Methode zur Erkennung von Oberflächendefekten einen biobasierten Ansatz dar, der auf nicht schädlichem sichtbarem Licht für die Fluoreszenzanregung beruht und darauf abzielt, Defekte im µm- statt im mm-Bereich zu erkennen. Darüber hinaus können die Ankerpeptide für die selektive Haftung an Oberflächen beliebiger Materialien maßgeschneidert werden, so dass dieser Ansatz nicht auf magnetisierbare Metalle beschränkt ist. In der aktuellen wissenschaftlichen Entwicklung basiert die Gestaltung von Algorithmen zur Anomalieerkennung zunehmend auf der Anwendung großer, grundlegender Modelle, insbesondere quelloffener Modelle wie CLIP¹. Diese Ansätze bieten den signifikanten Vorteil, dass die aufwendige Erhebung umfangreicher Trainingsdatensätze umgangen werden kann, welche in realen Einsatzszenarien häufig eine erhebliche Herausforderung darstellt. Darüber hinaus haben weitere quelloffene Vision-Language-Modelle, wie beispielsweise GPT-4o², eine zentrale Bedeutung für die Anomalieerkennung, insbesondere in Bereichen der logikbasierten Anomalieerkennung, wo die Kombination aus textbasierten und visuellen Merkmalen eine essenzielle Grundlage für eine robuste und effiziente Detektion bildet.

6. Darstellung der erfolgten und geplanten Veröffentlichung der Ergebnisse

2022 Bio4MatPro Jahrestagung, 5 – 6 Oktober, Aachen, Deutschland.

Poster

Patrick J. Bakkes, Tetiana Kurkina, Felix Jakob, Markus Gastens, Dorit Merhof, Kai-Uwe Schröder, Ulrich Schwaneberg – BL5-1: Bio4Monitoring – Anchor peptide-based monitoring of structural health of lightweight materials.

Vortrag

Kai-Uwe Schröder – BL5-1 Bio4Monitoring – Ankerpeptid basierte Überwachung von Leichtbaustrukturen.

²⁵ Wu et al. (2023) - A learning-based crack defect detection and 3D localization framework for automated fluorescent magnetic particle inspection; *Expert Systems with Applications*; 214:118966.

¹ Radford, Alec, et al. "Learning transferable visual models from natural language supervision." *International conference on machine learning*. PMLR, 2021.

² Achiam, Josh, et al. "Gpt-4 technical report." *arXiv preprint arXiv:2303.08774* (2023).

**2022 Forschungsverbund der Modellregion Bioökonomie im Rheinischen Revier
Vernetzungskickoff, 18 Oktober, Aachen, Deutschland.**

Poster

Patrick J. Bakkes, Tetiana Kurkina, Felix Jakob, Markus Gastens, Dorit Merhof, Kai-Uwe Schröder, Ulrich Schwaneberg – BL5-1: Bio4Monitoring – Anchor peptide-based monitoring of structural health of lightweight materials.

2023 Bio4MatPro Jahrestagung, 24 – 25 Mai, Düsseldorf, Deutschland.

Poster

Patrick J. Bakkes, Tetiana Kurkina, Markus Gastens, Er Jin, Felix Jakob, Johannes Stegmaier, Kai-Uwe Schröder, Ulrich Schwaneberg – BL5-1: Bio4Monitoring – Anchor peptide-based monitoring of structural health of lightweight materials.

Vortrag

Patrick J. Bakkes – BL5-1 Bio4Monitoring – Anchor peptide-based monitoring of structural health of lightweight structures.

2024 Bio4MatPro Jahrestagung, 6 – 7 Mai, Henkel, Düsseldorf, Deutschland.

Poster

Patrick J. Bakkes, Er Jin, Tetiana Kurkina, Markus Gastens, Johannes Stegmaier, Kai-Uwe Schröder, Ulrich Schwaneberg – BL5-1: Bio4Monitoring – Anchor peptide-based monitoring of structural health of lightweight materials.

Vortrag

Johannes Stegmaier – BL5-1 Bio4Monitoring – Anchor peptide-based monitoring of structural health of lightweight structures.

2025 – Eine Veröffentlichung zum Thema „LogicAD: Explainable Anomaly Detection via VLM-based Text Feature Extraction“ wurde auf Basis des vorgelegten Konzeptnachweises erstellt und beschäftigt sich mit einer Logik-bezogenen Anomalieerkennung mittels autoregressiver VLM-Modelle. Das Manuskript wurde für die „39th Annual AAAI Conference on Artificial Intelligence“ akzeptiert und wird dort im Rahmen des Konferenzprogramms vorgestellt (25. Februar - 4. März, 2025 in Philadelphia, Pennsylvania, USA).

2025 – Eine Veröffentlichung zum Thema „Biobasierte, zerstörungsfreie Strukturüberwachung von Leichtbaustrukturen und -materialien“ ist geplant, die auf dem vorgelegten Konzeptnachweis für die Ankerpeptid-basierte Methode zur Erkennung von Defekten in Metalloberflächenbeschichtungen beruht.