



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 603 09 476 T2** 2007.08.16

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 530 716 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **603 09 476.7**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/GB03/03591**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **03 787 908.7**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2004/017061**

(86) PCT-Anmeldetag: **15.08.2003**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **26.02.2004**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **18.05.2005**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **02.11.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **16.08.2007**

(51) Int Cl.⁸: **G01N 27/447** (2006.01)
G01N 21/05 (2006.01)

(30) Unionspriorität:
0219248 **17.08.2002** **GB**

(73) Patentinhaber:
Paraytec Ltd., York, GB

(74) Vertreter:
Dörries Frank-Molnia & Pohlman, 80538 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR**

(72) Erfinder:
**GOODALL, David Murray, Heslington, York, YO10
5DD, GB; BERGSTROM, Edmund Thomas, York,
YO10 5DD, GB; ALLINSON, Nigel Martin, York,
YO19 4RD, GB; MOON, Kevin James, Osbaldwick,
York, YO10 3QH, GB**

(54) Bezeichnung: **OPTISCHE VORRICHTUNG UND VERFAHREN ZUR MESSUNG VON LICHTTRANSMISSION**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft eine optische Anordnung, umfassend ein Probengefäß, positioniert in einem direkten Lichtweg zwischen einer Lichtquelle und einem Lichtdetektor, in einer Weise, dass die Transmission von Licht durch das Gefäß ermöglicht wird; ein Verfahren für die Detektion der Lichttransmission durch die Probe, die innerhalb des Gefäßes enthalten ist; eine Vorrichtung, die die Anordnung umfasst; spezieller eine Vorrichtung für die Probenanalyse beispielsweise für Hochdurchsatz-Screening (HTS) oder die Profilbestimmung von Assays, wie beispielsweise Enzym-Assays; und Verwendungen davon auf den pharmazeutischen, biomedizinischen und biowissenschaftlichen, agrochemischen, veterinären, materialwissenschaftlichen und ähnlichen Gebieten für die Detektion, Analyse, Charakterisierung und Quantifizierung oder dergleichen von Proben, die in einem Gefäß enthalten sind, und optional ferner dem Sammeln von getrennten Komponenten davon; insbesondere in kombinatorischer Chemie; in Metabolomics, Proteomics oder Genomics, Assay- und Hochdurchsatzanalyse-Anwendungen, typischerweise Hochsensitivitätsanalysen, Trenn- und/oder Quantifizierungsstudien und für die Probentrennung beispielsweise bei Chromatographie oder Elektrophorese, insbesondere Säulenchromatographie, Kapillarelektrophorese mit Echtzeit- oder Nachtrennanalyse.

[0002] UV-Extinktions-, Fluoreszenz- und Massenspektrometrie sind Schlüsseltechnologien, die in der Trennwissenschaft für die Analyse von Spezies in Proben verwendet werden. Eine insbesondere nützliche Verfahrens- bzw. Methodenlehre ist, eine Probenpopulation zu betrachten, die durch Kapillarelektrophorese getrennt wurde, mittels Fluorophor-Markierung und Fluoreszenzbildgebung für die Quantifizierung, und Massenspektrometrie (MS) für die Charakterisierung von Molekülen von Interesse.

[0003] Die US 5,582,705 offenbart eine Vorrichtung und ein System für laserinduzierte Fluoreszenz-(LIF) Detektion in einem Multiplexkapillarelektrophoresesystem. Ein kohärenter Strahl, einfallend am kapillaren Array, und emittiertes Fluoreszenzlicht sind typischerweise rechtwinklig zueinander, um ein Hintergrundrauschen aufgrund von Lichtstreuung zu reduzieren. Ein transparenter Abschnitt in jeder Kapillarwand definiert einen transparenten Weg bzw. Pfad, der sich durch das Array rechtwinklig zur Kapillare erstreckt. Ein 2D-Bildarraydetektor wie beispielsweise eine ladungsgekoppelte Vorrichtung bzw. CCD-Vorrichtung (CCD), vorzugsweise eine Ladungsinjektions- bzw. CID-Vorrichtung (CID), ist positioniert, um eine Emission zu detektieren, und eine Bildgebungslinse ist zwischen dem Kapillararray und dem Bildarraydetektor zwischengelagert, um die Pixel bezüglich der Kapillare zu koppeln. Die Bildgebungslinse kann jede beliebige Linse sein, die zum Transformieren eines Bildes auf die Pixel des Bildarraydetektors geeignet ist, wie beispielsweise eine Kameralinse oder eine Kondensorlinse. Das Koppeln ist in [Fig. 4](#) der US 5,582,705 gezeigt, in der jedes zweite Pixel an eine Seitenwand der Kapillare gekoppelt ist, und jedes dazwischen liegende Pixel an einen innen liegenden Abschnitt gekoppelt ist.

[0004] Die Fluoreszenzdetektion ist in ihrer Anwendung beschränkt, da nur eine beschränkte Anzahl von Molekülen natürlich fluoreszierend ist und viele in reproduzierbarer und quantitativer Weise derivatisiert werden müssen. Die Extinktionsdetektion weist daher den Vorteil auf, dass sie eine Detektion eines breiteren Bereichs von Molekülen ermöglicht. Beispielsweise können in Enzymassays, durchgeführt in Mikrotiterplatten, Techniken auf die Extinktionsdetektion von Chromophoren, UV und Vis bzw. sichtbares Licht absorbierenden Substraten, konsumiert oder produziert in einem Assay, erweitert werden, was den Bereich des Assay auf natürliche sowie synthetische Substrate erweitert.

[0005] Eine Beschränkung der Extinktionsdetektion liegt jedoch in der betriebsfähigen Wellenlänge der Detektion. Die Extinktionsdetektion wird auf Substraten in Lösung durchgeführt. Viele übliche Lösungsmittel jedoch absorbieren signifikante Mengen von Licht bei Wellenlängen unterhalb 200 nm, und das resultierende Lösungsmittelabsorptionssignal verzerrt und maskiert Signale, die vom zu detektierenden Substrat resultieren. Folglich ist die Extinktionsdetektion in der Praxis beschränkt auf die Detektion bei Wellenlängen oberhalb von 190 nm im Bereich des UV-vis bis Nahinfrarot (NIR).

[0006] Darüber hinaus ist eine fundamentale Beschränkung der Einpunktextinktionsdetektion die Unfähigkeit der Erzeugung eines Bildes der Quelle am Detektionspunkt auf der Kapillare, der heller als die Lichtquelle ist. In "A charge coupled device array detector for single-wavelength and multi-wavelength ultraviolet absorbance in capillary electrophoresis", Bergström und Goodall, Pokric und Allinson, Anal. Chem. 1999, 71, 4376-4384, ist die optische Detektion in Kapillarelektrophorese mittels Extinktionsdetektion offenbart, wobei eine Länge der Kapillare mittels eines Glasfaserbündels beleuchtet wird und eine CCD-Kamera verwendet wird, um die volle Länge der beleuchteten Zone abzubilden. In dieser Veröffentlichung wird Licht von einem Fiberglasbündel mittels einer Saphir-Stange durch den Kapillarkern fokussiert und auf der anderen Seite der Kapillare detektiert, wobei durch diese Maßnahme der Ziellichtbereich vergrößert wird, was es ermöglicht, dass mehr der

Lampenausgabe verwendet wird und was den Gesamtlichtfluss vergrößert. In diesem Fall strömt Licht vom Kapillarkern aus, so dass das gesamte detektierte Licht nützlich ist und der erhaltene divergente Strahl auf dem CCD abgebildet wird.

[0007] Ein derartiges System wird komplexer, wenn ein paralleles Kapillararray anstatt der einzelnen Kapillare eingeführt wird. Die Optik zum Fokussieren von Licht auf den Kern jeder Kapillare wäre extrem komplex und folglich wird das Bestrahlen von sowohl dem Kern als auch den Wänden von jeder Kapillare eine praktische Konsequenz.

[0008] Die WO 01/18528 (Yeung et. al.) offenbart ein Verfahren zum Analysieren von mehreren Proben simultan durch Absorptionsdetektion von Proben in einem planaren Array von mehreren Behältern, wobei Streulicht von benachbarten Behältern eliminiert wird, indem die Detektionsmittel vom Array beabstandet werden, vorzugsweise bei einem Abstand größer als zehnmals dem Durchmesser eines Behälters, geeigneterweise 10-100 mal dem Durchmesser, beispielsweise bei einer Distanz von 1-30 Zentimeter. Die Behälter sind vorzugsweise zylindrische Kapillarröhren wie im Stand der Technik gezeigt. Das Array umfasst einen Steuerungsbehälter, wenn die Lichtquelle instabil ist. Es wird festgestellt, dass der Querschnitt des Behälters und die Dicke der Kapillarwand nicht entscheidend sind. Eine Planokularlinse bildet vorzugsweise die Behälter auf die Detektionsmittel ab.

[0009] Die EP 0 616 211 A1 betrifft eine optische Detektionsanordnung für die Analyse von Fluidproben.

[0010] Das US Patent Nr. 5,694,215 (Carver) betrifft ein optisches Array für die Verwendung mit einer verlängerten Probenzellenanordnung, angepasst für die Verwendung in der Spektroskopie von Probenvolumina in Kapillarchromatographie, sowie ein Verfahren für die Messung der optischen Extinktion von Licht durch ein Volumen des Probenmaterials, das in einer Flussrichtung durch eine Probenzelle fließt.

[0011] Bruno et al. Analytical Chemistry, American Chemical Society, Columbus, US, 15. April 1989, 61 (8), 876-883, beschreibt eine Vorrichtung, die geeignet ist für Simultanabsorption und Fluoreszenzdetektion auf der Säule, die optische Wellenleiter verwendet.

[0012] Wir haben nun herausgefunden, dass weitere Verbesserungen in Extinktionsdetektionsanordnungen das Erhöhen des Gesamtlichtflusses durch eine Kapillare oder ein anderes Probengefäß aufgrund einer Vereinfachung von optischen Komponenten ermöglichen, ohne unangemessen große Trennung von Kapillare und Detektor, die unerwünscht ist und die die Lichtsammlungseffizienz reduziert, was die Weglänge und daher die Lichtintensität aufs Spiel setzt. Die verbesserte Anordnung ist von besonderem Vorteil bei der Detektion von Multiplexkapillaranordnungen und ermöglicht die Bildgebung eines großen Bereiches eines Kapillararrays ohne der Notwendigkeit einer Bildgebungsoptik. Dies ist ein signifikanter Vorteil insbesondere wenn im UV gearbeitet wird, für welches es sehr schwierig und teuer ist, geeignete optische Bauelemente herzustellen. Die Anordnung weist jedoch sowohl in der Einzel- und Kapillar- als auch in der Arraydetektion Vorteile auf, wobei insbesondere eine einfache und verbesserte Expositionsreferenzierung und akzeptierbar niedrige Interkapillarkreuzkopplung ohne die Notwendigkeit von optischen Bauelementen ermöglicht wird. Zusätzlich ist ein Vorteil der Anwendung der Erfindung, dass sie für den Betrieb bei kurzen Weglängen geeignet ist, aufgrund des erhöhten Gesamtlichtflusses durch den Kern der Kapillare oder des anderen Probengefäßes, und diese Reduktion in der Weglänge kann zu Möglichkeiten führen, eine Extinktionsdetektion bei niedrigeren Wellenlängen, weniger als 190 nm, durchzuführen, ohne auf unbrauchbar hohe Niveaus der Lösungsmittelabsorption zu stoßen.

[0013] Folglich ist im breitesten Aspekt der Erfindung eine optische Anordnung bereitgestellt, umfassend eine Lichtquelle, mindestens ein Probengefäß und einen Detektor, wobei das mindestens ein Probengefäß in einem Lichtweg oder -wegen, die zwischen der Quelle und dem Detektor erzeugt werden in einer Weise positioniert ist, dass die Transmission von Licht durch das Gefäß ermöglicht wird, wobei die Lichtquelle geeignet ist, einen Strahl von im wesentlichen kollimiertem Licht bereitzustellen, wobei der Detektor eine Vielzahl von Detektororten aufweist und das Gefäß eine Wand und einen Kern von relativer Form und Abmessungen aufweist, die geeignet sind, eine Probe zur Detektion zu beinhalten und mindestens zwei räumlich getrennte Wege für transmittiertes Licht festlegen, einen ersten Wandweg, der nur in die Gefäßwände eintritt und diese verlässt, räumlich getrennt von einem zweiten Kernweg, der in die Gefäßwände und zusätzlich in den Gefäßkern eintritt und diese verlässt, wobei die räumlich getrennten Wand- und Kernwege auf individuelle Detektororte auf dem Detektor gekoppelt werden und wobei der Detektor ein Arraydetektor ist.

[0014] Vorzugsweise ist der Detektor angepasst, Informationen bezüglich der jeweiligen Wand- und Kernweg-

lichttransmission zu detektieren und bereitzustellen. Vorzugsweise ist die Anordnung an Mittel zum Anzeigen der Informationen bezüglich der jeweiligen Wand- und Kernweglichttransmission oder zum Anzeigen von referenzierten Informationen bezüglich der Kernweglichttransmission, referenziert gegen die Wandweglichttransmission, gekoppelt.

[0015] Vorzugsweise definiert die Anordnung einen zentralen Kernweg und zwei periphere Wandwege auf jeder Seite davon oder einen ringförmigen Wandweg darum herum. Wege können beim Austreten vom Gefäß und bei größeren Trennungen vom Gefäß überlappen. Vorzugsweise sind die Wand- und Kernwege an Detektororte bei einer Gefäßaußenwand bei einer Detektortrennung oder eine Distanz d gekoppelt, bei welcher die Wege räumlich getrennt sind, wobei vorzugsweise mehr als 90 Prozent Trennung von Kern- und Wandstrahlflüssen gegeben ist. Die Anordnung kann das Gefäß in zwei oder mehreren separaten Lichtwegen positionieren, um zwei oder mehrere Gruppen von räumlich getrennten transmittierten Lichtwegen zu erzeugen, die an zwei oder mehrere Detektoren oder Detektorzonen gekoppelt sind.

[0016] Vorzugsweise ist die Anordnung charakterisiert durch eine innere Gefäßdimension oder Weglänge im Bereich von $3\ \mu\text{m}$ bis $20\ \text{mm}$, eine äußere Gefäßdimension im Bereich von $4\ \mu\text{m}$ bis $30\ \text{mm}$, einen Brechungsindex der Gefäßwand im Bereich von $1,3$ bis $< 1,6$, eine Trennung d der Gefäßaußenwand zum Detektor im Bereich von $10\ \mu\text{m}$ bis $> 300\ \text{mm}$, und dient für die Verwendung beim Detektieren einer Probe, umfassend einen Analyten in einem Lösungsmittel mit einem Brechungsindex im Bereich von $1,3$ bis oberhalb von $1,5$. Eine Referenz hierin auf eine Probe bezieht sich auf Gefäßinhalte, welche eine einzelne oder mehrere Komponenten umfassen können. Mehrere Komponenten können als eine homogene oder eine heterogene Mischung vorliegen und können einer Migration im Laufe der Zeit unterliegen, d. h. können eine Vielzahl von flüssigen Phasenkomponenten sein, die optional eine gelöste Phasenkomponente enthalten; oder können einen oder eine Vielzahl von Analyten enthalten, für welche es gewünscht ist, sie in einem oder in einer Vielzahl von Lösungsmitteln oder einer ähnlichen Massenphasenprobenkomponente zu detektieren, beispielsweise im Verlauf einer chemischen Reaktion, die eine Spezies als Analyt erzeugt oder verbraucht.

[0017] In einem speziellen Vorteil ermöglicht die Vorrichtung der Erfindung eine Expositionsreferenzierung eines Lichtstrahls, der einen Kernweg von zumindest einem Probengefäß durchläuft, durch einen Lichtstrahl, der einen Wandweg desselben Probengefäßes durchläuft. Die Strahlen sind räumlich eng vorzugsweise angrenzend am Arraydetektor, was ein direktes Referenzieren als das Verhältnis des Kernstrahls zum Wandstrahl erleichtert. In einem weiteren Vorteil sind die zwei Lichtstrahlen von benachbartem Ursprung, wobei Kern- und Wandstrahlen eine hohe Wahrscheinlichkeit aufweisen, aus derselben Region in der Lichtquelle auszuströmen, was die Effekte der Lichtquellenfluktuationen aufgrund von beispielsweise einer Instabilität oder räumlichen Inhomogenität eliminiert. Die Anordnung der Erfindung ist deshalb in der Lage, an der Schrotrauschgrenze zu arbeiten.

[0018] Vorzugsweise umfasst die Lichtquelle jede beliebige aktive oder passive Lichtquelle, beispielsweise kann Licht an der Quelle erzeugt werden oder es kann zur Lichtquelle übertragen werden und von dort aus ausströmen, beispielsweise kann es mittels einer Glasfaser zur Lichtquelle übertragen werden. Vorzugsweise umfasst die Lichtquelle zumindest eine Wellenlänge von Licht, die von einer oder von mehreren absorbierenden Spezies absorbiert wird, wobei die Extinktion derselben zu detektieren ist. Beispielsweise kann die Lichtquellenausgabe von einer Glasfaser gekoppelt werden, wenn dies für die Beleuchtung von einem entfernten Lichterzeuger gewünscht wird, oder sie kann von einem einer Punkt-zu-Linie-Glasfaser für eine Zonenbeleuchtung gekoppelt sein. Das Koppeln der Ausgabe an eine einzelne Glasfaser reduziert den Rauschbeitrag, der durch Fluktuationen in der räumlichen Verteilung der Lampenentladung verursacht wird.

[0019] Das Licht kann von einer Wellenlänge im Bereich von 160 bis $1200\ \text{nm}$, vorzugsweise 180 oder 190 bis $1200\ \text{nm}$ sein, korrespondierend zu UV, UV-vis bis Nahinfrarot (NIR), und ist vorzugsweise im Bereich von 180 bis $700\ \text{nm}$, korrespondierend zu UV-vis. Es ist ein besonderer Vorteil, dass die vorliegende Erfindung eine Absorptionsdetektion von hoher Sensitivität bei niedrigeren Weglängen im Bereich von 3 bis $500\ \mu\text{m}$ gestattet, und dies erlaubt den Betrieb bei niedrigeren Wellenlängen im Bereich von 160 bis $190\ \text{nm}$, korrespondierend zu UV, was für die Extinktionsdetektion von Proben in manchen Lösungsmitteln durch bekannte Techniken undurchführbar wäre. Folglich ist das Verfahren mehr lösungsmittelunabhängig als normale HPLC- oder spektrophotometrische Verfahren.

[0020] Eine Lichtquelle kann eine Punkt- oder Linienquelle sein, angepasst, um einen Abschnitt durch ein kompaktes Gefäß oder längliches Gefäß zu beleuchten. Eine Lichtquelle kann von einer einzelnen Wellenlänge oder von mehreren diskreten Wellenlängen oder einem Wellenlängenbereich sein. Eine Lichtquelle kann eine justierbare Lichtquelle sein, was eine justierbare ruhige Ausgabe ergibt, eine Linienausgabelampe, was

eine sehr intensive Ausgabe lediglich einer Wellenlänge ergibt, eine Spektrallichtquelle, was einen Wellenlängenbereich entlang der Länge einer Linienlichtquelle oder dergleichen ergibt; und kann in der Zeit kontinuierlich sein oder gepulst sein. Quellen mit kontinuierlichen Ausgaben sind vorzuziehen, wenn Spektren über einen Wellenlängenbereich zu erhalten sind. Linienquellen stellen typischerweise intensivere Ausgaben bei charakteristischen Wellenlängen dar und sind vorteilhaft, wenn die Proben bei diesen Wellenlängen absorbieren. Eine Wellenlängenselektion, beispielsweise im Falle von kontinuierlichen Wellenlängenbogenlampen, durch bekannte Techniken wie beispielsweise einen Interferenzfilter, der zwischen der Lichtquelle und den parallelrichtenden Mitteln oder zwischen den parallelrichtenden Mitteln und dem Probengefäß, vorzugsweise vor den parallelrichtenden Mitteln positioniert ist, ist geeignet. Alternativ kann ein Filtrerrad oder ein variabler Interferenzfilter für eine sequentielle Wellenlängendetektion bei mehreren diskreten Wellenlängen eingesetzt werden, oder es kann eine Wellenlängenstreuvorrichtung in der Form eines Monochromators eingesetzt werden, wie beispielsweise ein Gitter oder Prisma, welches entweder in Position fixiert oder kontinuierlich variabel sein kann und Licht in ein Spektrum verteilt, was eine variierte Wellenlänge entlang der Länge der Kapillare oder bei rechten Winkeln zur Länge der Kapillare ergibt.

[0021] Vorzugsweise umfasst eine Lichtquelle eine Jod-, Zink-, Cadmium- oder Quecksilberlampe oder Laser, als Linienquellen; oder eine Deuterium-, Xenon- oder Wolframlampe als eine Lampe mit kontinuierlicher Ausgabe; oder eine Xenonlampe als eine Lampe mit gepulster Ausgabe.

[0022] Bevorzugter umfasst die Lichtquelle eine Deuteriumbogenlampe (für UV-Lichtabsorption) oder eine Xenonbogenlampe (für UV-vis-Lichtabsorption); oder umfasst eine Wolframlampe, bevorzugter eine Filamentlampe (für die Absorption von sichtbarem Licht), und dergleichen; am meisten bevorzugt eine Hochleistungsbogenlampe, ausgewählt aus Deuterium, Jod, Zink, Cadmium, Quecksilber oder Xenon, wie oben; oder die Lichtquelle umfasst eine Linienquelle, vorzugsweise für das UV eine der Folgenden: Jod, Zink bei 214 nm, Cadmium bei 229 nm, oder Quecksilber bei 185, 254 oder 365 nm; oder die Lichtquelle umfasst einen Laser, beispielsweise im UV einen Laser wie beispielsweise einen frequenzvervierfachen Nd:YAG bei 266 nm oder Nd:YLF bei 262 nm, oder einen He-Cd-Laser bei 325 nm.

[0023] Die Lichtquelle kann mittels bekannter Mittel expandiert und rekollimiert werden, beispielsweise unter Verwendung von zylindrischen und sphärischen Linsenelementen und dergleichen, vorzugsweise unter Verwendung einer verlängerten Linse oder zylindrischen optischen Komponente wie beispielsweise einer Quarzglaslinse oder dergleichen, um einen kollimierten Strahl zu erzeugen, der für die Zonenbeleuchtung eines Probengefäßarrays geeignet ist.

[0024] Das zumindest eine Probengefäß in der Anordnung der Erfindung kann eine Zelle oder Röhre umfassen, die ein geschlossenes oder offenes Ende und eine geschlossene oder offene Basis und Oberseite aufweisen kann, vorgesehen für die statische oder dynamische Probendetektion. Das Gefäß kann für die Lichttransmission in jeder beliebigen geeigneten Ebene durch das Gefäß ausgerichtet sein. Eine geeignete Lichttransmission erfolgt durch eine Ebene, die rechtwinklig zu den Gefäßenden oder der Basis und Oberseite ist, oder diese enthält.

[0025] Vorzugsweise ist das Probengefäß eine einzelne Zelle oder eine von einer Vielzahl von Zellen in einem Array, wie beispielsweise einem rechtwinkligen oder quadratischen Array, beispielsweise in einer Mikrotiterplatte, Well-Platte oder Multiprobenplatte; oder ist eine Kapillare, wie beispielsweise eine Mikrokapillare oder ein mikrofabrizierter Kanal, wie im Stand der Technik des mikrofluiden Transports und der Trennung bekannt, bevorzugter ist sie eine einzelne Kapillare oder Mikrokanal oder eine von einer Vielzahl von Kapillaren oder Mikrokanälen in einem parallelen Array.

[0026] Ein Probengefäßarray ist in einer Ebene rechtwinklig zum kollimierten Lichtweg ausgerichtet, wobei Licht durch lediglich ein Gefäß passiert. Im Fall, in dem die Richtung der Beleuchtung in einer Ebene liegt, die die Basis oder Oberseite des Gefäßes enthält, tritt Licht in jedes Gefäß durch eine Seitenwand (Wandweg) ein und aus oder tritt durch die Oberseite ein und tritt durch die Basis (Kernweg) aus, und in diesem Fall können Gefäße in einem Parallel- oder Matrixarray ausgerichtet sein; im Fall, in dem die Beleuchtung durch eine Ebene erfolgt, die rechtwinklig zu den Gefäßenden ist, tritt Licht in jedes Gefäß durch eine nahe Seitenwand (Wandweg) ein und aus, oder tritt durch eine nebengeordnete Seitenwand ein und aus, tritt in den Kern hinein aus, tritt in eine gegenüberliegende Seitenwand (Kernweg) ein und aus, und in diesem Fall können Gefäße in einem Parallelarray ausgerichtet sein, d. h. nur ein Gefäß tief.

[0027] Für eine 1:1 Beleuchtung:Detektion weist der kollimierte Lichtweg Dimensionen auf, die im Wesentlichen mit den Dimensionen der Breite und Länge des Detektorarrays und mit einer gewünschten Breite und

Länge von jedem Probengefäß, das optisch detektiert werden soll, übereinstimmen. Eine Beleuchtung: Detektion-Vergrößerung liegt vorzugsweise im Bereich von 0,8 bis 1,5:1 im Falle von Arrays, um Probleme mit räumlicher Überlappung von Licht von benachbarten Gefäßen zu vermeiden, und liegt im Bereich von 0,5 bis 2:1 für einzelne Gefäße.

[0028] Licht, das durch die Gefäßwände und den Kern passiert, wird beim Eintreten in und Austreten aus der Wand bzw. den Wänden und zusätzlich beim Eintreten in den und/oder Austreten aus dem Kern gebrochen. Im Fall der Beleuchtung durch die Länge einer Zelle oder Kapillare oder durch den Querschnitt einer geradwandigen Zelle oder Kapillare, behalten austretende Wand- und Kernlichtwege ihre jeweilige Reihenfolge bzw. Ordnung bei, d. h. es besteht im Wesentlichen keine Überkreuzung oder Konvergenz von jeweiligen Wegen zumindest beim Abstand d von der Gefäßaußenwand zum Detektor.

[0029] In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung ist das Gefäß der Anordnung eine mikrofabrizierte Vorrichtung, die Kapillaren von rechtwinkligem Querschnitt bereitstellt, und ist geeignet für eine Fabry-Pérot-Beleuchtung mit verbesserter Lichtabsorption durch mehrere Durchtritte durch das Gefäß. In diesem Fall sind die Wände des Gefäßes mit einer reflektierenden Beschichtung innerhalb einer Absorptionszone beschichtet, wobei Licht in den Gefäßkern in einer Beleuchtungszone angrenzend zur Absorptionszone durch eine nahe Seitenwand bei einem Winkel von weniger als 90 Grad bezüglich der Wand eintritt, und zumindest ein Teil des Lichts an der gegenüberliegenden Wand reflektiert wird, mit wiederholten inneren Reflexionen überall in der Absorptionszone, und schließlich von der gegenüberliegenden Wand beim Ende der Absorptionszone austritt. Licht, das einen Wandweg durchläuft, kann auf ähnliche Weise für die Einfachheit der Ausrichtung reflektiert werden, wird jedoch vorzugsweise nicht reflektiert und eine Expositionsreferenzierung wird wie normal durchgeführt.

[0030] Im Falle der Beleuchtung durch den Querschnitt einer Zelle oder Kapillare mit gekrümmter Wand, beispielsweise einer Kapillare mit kreisförmigem Querschnitt, kehren die austretenden Wandlichtwege ihre jeweilige Reihenfolge bzw. Ordnung um einen zentralen Kernlichtweg um, d. h. es liegt eine Überkreuzung von jeweiligen Wandwegen innerhalb einer Distanz d zum Detektor vor. In diesem Fall ist die optische Anordnung der Erfindung charakterisiert durch Brechungsmuster durch das Gefäß, um in der Lage zu sein, Wand- und Kernlichtwege räumlich zu trennen. Vorzugsweise ist die Anordnung charakterisiert durch einen jeweiligen Außen- und Innendurchmesser eines Probengefäßes und durch jeweilige Brechungsindizes der Gefäßwände und der Probe, wobei die Wand- und Kernwege wie hierin zuvor definiert räumlich getrennt sind.

[0031] Vorzugsweise ist der Brechungsindex der Gefäßwand größer als der der Massenphase von jeder Probe, die im Kern umfasst ist. Vorzugsweise liegt der Brechungsindex der Wand im Bereich von 1,34 bis 1,59. Vorzugsweise liegt der Brechungsindex der Massenphasenprobe, die im Kern umfasst ist, im Bereich von 1,32 bis 1,48, bevorzugter 1,32 bis 1,38. Der Brechungsindex der Gefäßwand kann durch Plattierung oder anderweitig durch Einarbeiten von Material von höherem Brechungsindex in die Gefäßwand als ein Wandabschnitt, eine Linse oder dergleichen modifiziert werden.

[0032] Vorzugsweise sind die Gefäßaußenwand und Innenwand zusätzlich von einer Form und Dimension, bei der durch den Kern transmittiertes Licht konvergent ist und einen Strahl bildet, der einen nicht abgelenkten Strahlweg aufweist, d. h. einen Strahlweg aufweist, der kontinuierlich mit dem einfallenden kollimierten Licht ist. Licht, das lediglich durch die Wand des Probengefäßes passiert, wobei es in die Wand bei einer Außenwandstelle eintritt und bei einer zweiten Außenwandstelle austritt, kann abgelenkt oder nicht abgelenkt sein, ist vorzugsweise, sofern abgelenkt, divergent bezüglich des Kernlichtwegs derart, dass zwei Klassen von Lichtwegen gebildet werden, welche räumlich getrennt sind.

[0033] Es wird erkannt werden, dass mittels der Verwendung einer kollimierten Lichtquelle und Kennen des Brechungsindex des Probengefäßes und jeder beliebigen darin enthaltenen Probe, der Lichtweg, der durch jeden beliebigen Punkt des Gefäßes passiert, für eine gegebene Form und Dimension der Gefäßaußenwand und Innenwand vorhergesagt werden kann, die derart gewählt sind, dass kollimiertes Licht, das durch ein Gefäß von quadratischem oder rechtwinkligem Querschnitt passiert bzw. hindurchtritt, normal und parallel zu jeweiligen Wänden, im Wesentlichen ungebrochen und parallel austritt; und dass kollimiertes Licht, das durch ein Gefäß von gekrümmtem oder eckigem Querschnitt passiert, gleichförmig divergent oder konvergent mit einer Graduierung im Winkel oder in der Brechung austritt. Dies ermöglicht die Erzeugung eines Austrittslichtweges von hoher Symmetrie und/oder Gleichförmigkeit, der manipuliert werden kann für die Bildgebung und Expositionsreferenzierung wie hierin zuvor definiert.

[0034] Vorzugsweise weist das zumindest eine Probengefäß einen Querschnitt in einer den Transmissions-

lichtweg enthaltenden Ebene auf, der quadratisch oder rechteckig, gekrümmt kreisförmig oder winkelförmig oder eine Kombination davon ist, und symmetrisch oder asymmetrisch ist, vorzugsweise symmetrisch ist. Darüber hinaus umfasst das Probengefäß eine Außen- und Innenwand, die von ähnlichem Querschnitt oder ähnlicher Form sein können oder unterschiedlich sein können, beispielsweise kann eine kreisförmig und eine quadratisch sein. Die Probengefäßwand durch den Querschnitt kann kontinuierlich oder nicht kontinuierlich sein, beispielsweise kann das Gefäß offen oder geschlossen sein und ist vorzugsweise geschlossen. Ein geschlossenes Gefäß kann eine kontinuierliche Wand durch seinen Querschnitt aufweisen oder kann eine kontinuierliche Basis und Seitenwände mit einer separaten Dichtung oder Deckel umfassen. Vorzugsweise ist die Außenwand quadratisch offen oder geschlossen oder kreisförmig geschlossen und die Innenwand ist quadratisch oder wellförmig offen oder geschlossen oder ist im Wesentlichen quadratisch mit mikrofabrizierten konvexen oder konkaven Innenwandabschnitten, die als Linsenflächen agieren, oder konkaven, konvexen oder prismenförmigen Außenwandabschnitten, die als Linsenflächen agieren.

[0035] Vorzugsweise ist zumindest eine der Außen- und Innenwände des Probengefäßes von kreisförmigem Querschnitt, wobei eine Brechung und räumliche Trennung der Kern- und Wandstrahlen erreicht wird, vorzugsweise sind die Außen- und Innenwände von coaxial kreisförmigem Querschnitt, wobei dadurch eine kreisförmige Wand definiert wird, die einen Außen- und Innendurchmesser derart aufweist, dass die Brechung und räumliche Trennung der Kern- und Wandstrahlen erzielt wird.

[0036] Es wird erkannt werden, dass die Probengefäßdimensionen, die Brechungsindizes und/oder der Abstand des Gefäßes zum Detektor gemäß der Natur des Gefäßwandmaterials und der Form und der innerhalb des Kerns zu enthaltenden Probe gewählt werden kann, um die gewünschte Brechung und räumliche Trennung zu erzielen. Folglich ist die Vorrichtung definiert durch eine Beziehung der folgenden Eigenschaften, welche hier als ein Flusschema anstatt als eine mathematische Beziehung dargestellt sind:

$$\frac{i.d.}{o.d.} + r.i.(Lösungsmittel) + r.i.(Gefäß) \Rightarrow \frac{d_{\min}}{o.d.} \Rightarrow d_{\min}$$

wobei + eine räumliche Beziehung andeutet, die berechnet werden würde mittels geeigneter Strahlenverfolgungssoftware, um Werte für die Gefäß- und Anordnungsdimensionen zu ergeben.

[0037] Insbesondere könnte, wenn die Dimensionen und Brechungsindizes bekannt sind, Strahlverfolgung, beispielsweise unter Verwendung von Zemax-Software, verwendet werden, um Diagramme zu erzeugen, die es gestatten, dass Beziehungen zwischen Dimensionen wie beispielsweise $d_{\min}/o.d.$ abgeleitet werden. Ein schematisches Diagramm, das den Querschnitt eines zylindrischen Gefäßes und die Oberfläche des Detektors zeigt, ist in [Fig. 5](#) gezeigt: Symbole, die hier in Klammern angegeben sind, dienen für den Innendurchmesser (i.d.), den Außendurchmesser (o.d.) und die Distanz (d) der Außenwand zum Detektor. Vorzugsweise kann beispielsweise für ein Probengefäß, das einen kreisförmigen Außen- und Innenwandquerschnitt aufweist und aus Quarz oder Silika hergestellt ist, und für ein Lösungsmittel mit einem Brechungsindex im Bereich von 1,325 bis 1,345 (umfassend beispielsweise typische Reversphasen HPLC-Lösungsmittel Methanol, Wasser und Acetonitril), der Minimalabstand für die räumliche Trennung der Kern- und Wandstrahlen unter Verwendung von kollimiertem Licht, einfallend in das Gefäß, von dem in Tabelle 1 angegebenen Werten berechnet werden. Beispielsweise ist für ein Verhältnis $i.d./o.d. = 0,50$ der Minimalwert von $d/o.d.$ zur Erreichung einer Strahlentrennung (definiert als > 90 Prozent Trennung von Kern- und Wandstrahlflüssen), 0,5. Für eine Kapillare mit tatsächlichen Dimensionen, die mit diesem Kriterium übereinstimmen, z. B. i.d. 100 µm und o.d. 194 µm, ist der Minimalwert von $d/o.d.$ 0,5 und folglich ist der Minimalwert von d 100 µm.

[0038] Der Vorteil, über einen $i.d./o.d.$ so hoch wie möglich zu verfügen, liegt darin, über einen niedrigen Wert von $d/o.d.$ zu verfügen, um eine Detektorkreuzkopplung zwischen benachbarten Gefäßen zu minimieren.

[0039] Werte für $d/o.d.$ größer als das Minimum sind zulässig, jedoch bestehen, je größer der Wert ist, umso mehr Beschränkungen bezüglich dessen, wie nahe die Gefäße positioniert werden können.

[0040] Es gibt Situationen, in denen keine Trennung der Kern- und Wandstrahlen möglich ist. Beispielsweise für ein zylindrisches Gefäß tritt dies in zwei allgemeinen Fällen auf. Erstens, wenn der Brechungsindex des Materials im Kern zu niedrig ist, beispielsweise Luft in einem Silika- oder Glasgefäß ([Fig. 6](#)). zweitens, wenn das Verhältnis $i.d./o.d.$ zu niedrig ist, beispielsweise Wasser in einem Silika- oder Glasgefäß von einem $i.d./o.d.$ Verhältnis 0,2 ([Fig. 8](#)). Die tatsächlichen Dimensionen der Kapillare in [Fig. 8](#) sind i.d. 75 µm und o.d. 364 µm, ein Kapillarentyp, der weithin in der Kapillarelektrophorese verwendet wird. [Fig. 7](#) zeigt, dass für denselben $i.d.$ jedoch einen kleineren $o.d.$, 194 µm, eine Strahlteilung einfach erreicht wird.

[0041] Überlegungen bezüglich der optischen Eigenschaften von gefüllten zylindrischen Gefäßen zeigen, dass die Beschränkungen des Brechungsindex und des i.d./o.d. unabhängig sind, wobei betont wird, dass für jedes Gefäß und Inhaltstyp jeder Fall bezüglich seiner Vorzüge berücksichtigt werden sollte.

[0042] In dem Fall, wo der Brechungsindex der Gefäßinhalte höher als der der Gefäßwände ist, ist keine Strahlteilung möglich, es sei denn bei Abständen, die ungeeignet nahe zur Gefäßaußenwand sind.

[0043] Das Gefäß kann mit zusätzlichen optischen Komponenten im austretenden Lichtweg verbunden sein, um einen oder beide der räumlich getrennten Strahltypen zu fokussieren oder anderweitig zu manipulieren.

[0044] Das Array kann feste oder variable Spacer bzw. Distanzstücke zwischen jedem Probengefäß umfassen, zum Justieren der Beabstandung von austretenden Lichtstrahlen B in einer Abfolge von Gefäßen 1 2 3 etc. wie in [Fig. A](#) gezeigt, mit einer Wand w und einem Kern c, wobei beispielsweise jeder Strahl mit einem Arraydetektionsort korrespondiert:

B1w B1c B1w B2w B2c B2w B3w B3c B3w...

[0045] Wenn gewünscht, können benachbarte Wandstrahlen koinzident sein:

B1w B1c B1w/B2w B2c B2w/B3w B3c B3w/...

[0046] Andere außertrittliegende Anordnungen sind möglich, können jedoch eine komplexere Kopplung und Ablesung des Detektororts erfordern.

[0047] Distanzstücke können verlängerte Filter umfassen, die entworfen sind, um den gesamten oder einen Teil des Wandlichtweges zu screenen, oder einen Filter, um einen Teil der Gefäßwand zu screenen, wobei dadurch die Wandlichtwege begrenzt werden, in beiden Fällen zum Minimieren des interkapillaren Streulichts und der Kreuzkopplung.

[0048] Ein Distanzstück kann deshalb jedes beliebig geeignete Material für die kombinierte Beabstandung und Filtration sein, das optional auch als Trägermittel für das zumindest eine Probengefäß dient, und ist aus geeignetem opaken Material wie beispielsweise einem opaken glasgefülltem Polymer.

[0049] Die Probengefäße können aus jedem beliebigen transparenten Polymer, Glas, Quarz, Silika, z. B. Quarzglas oder anderem Material, vorzugsweise von optischem Grad, zusammengesetzt sein. Polymere von optischem Grad beinhalten die Klassen der Siloxane wie beispielsweise Polydimethylsiloxan (PDMS), amorphe Polycycloolefine, basierend auf Norbonen, und Polymethylmethacrylat (PMMA), Polycarbonat und andere transparente flexible Polymere und Fluorpolymere. Flexible transparente Polymere sind kommerziell verfügbar als transparentes flexibles Rohrmaterial wie beispielsweise Polyetherimid wie beispielsweise Ultem, Polypropylen, Fluorpolymere einschließlich der transparenten PCTFE-, ECTFE-, ETFE-, PTFE-, PFA-, FEP- oder PVDF-Harze, vorzugsweise das Fluorpolymer Tygon Chemfluor 367 und dergleichen.

[0050] Die Gefäßwand kann teilweise oder vollständig transparent sein und ist vorzugsweise überall aus demselben Material.

[0051] Eine Kapillare wie hierin zuvor definiert kann jede beliebige extrudierte Kapillare oder mikrofabrizierte Kapillare oder Kanal oder andere parallele verlängerte geschlossene Röhrenmittel umfassen. Eine Kapillare kann flexibel oder starr sein und kann gerade oder gekrümmt entlang ihrer gesamten Länge oder eines Teils davon sein.

[0052] Kapillararrays und mikrofabrizierte Kanalarrays sind kommerziell verfügbar. Kapillararrays werden typischerweise durch Ziehen oder Extrusion hergestellt, wobei ein Kern von leerem kreisförmigen Querschnitt von hohen Gleichförmigkeitsdimensionen erzeugt wird. Mikrofabrizierte Arrays werden typischerweise durch Spritzgießen von einem Werkzeug hergestellt, was einen Kanal von freiem quadratischen oder rechteckigen Querschnitt erzeugt, der dann optional mit einer Deckschicht versiegelt bzw. abgedichtet wird, und bietet den Vorteil der absoluten Reproduzierbarkeit von hochpräzisen Kanälen und der Freiheit des Kanaldesigns.

[0053] Ein Probengefäß kann einen Teil eines Arrays von jeder beliebigen Anzahl von Gefäßen umfassen, kommerziell erhältliche Arrays beinhalten 8 bis 1536 Gefäße, vorzugsweise 8 bis 520 Kapillaren oder 96 bis 1536 Wells, beispielsweise 8, 12, 16, 24, 32, 48 oder 96 Kapillare oder 96, 384 oder 1536 Wells.

[0054] Das Gefäß kann einen Teil eines Arrays oder eine größere Anzahl von Gefäßen umfassen, welche in

Zukunft verfügbar sein können.

[0055] Mikrofabrizierte Arrays, die in einer schichtartigen planaren Weise hergestellt wurden, dazwischen liegende Elemente einer Vorrichtung in aufeinander folgenden Ebenen erzeugend, erfreuen sich zunehmender Akzeptanz und weit verbreiteter Verwendung. Sie weisen vielzählige Vorteile bezüglich der Genauigkeit, Reproduzierbarkeit, Einfachheit und Flexibilität der Herstellung auf.

[0056] Die Gefäße können jede beliebige gewünschte Trennung aufweisen, sind geeigneterweise vereinigt oder benachbart oder mit Abstand versehen. Eine geringere Trennung erhöht die Packungsdichte, jedoch reduziert eine größere Trennung eine Interferenz zwischen den Gefäßen, insbesondere eine optische Interferenz. Es ist ein besonderer Vorteil der Erfindung, dass eine Beabstandung zwischen den Gefäßen verwendet werden kann. Dies ist nicht möglich beispielsweise in der Ausführungsform von Yeung et. al. oben, welche eine minimale Gefäßtrennung benötigt, um Streulicht zu minimieren.

[0057] Das Gefäß kann von geeigneter Länge und Tiefe gemäß der gewünschten Verwendung sein. Vorzugsweise liegt für Kapillaren oder Kanäle die Länge im Bereich von 2 cm bis 2 m, beispielsweise im Bereich von 2,5 bis 6 cm für mikrofabrizierte Kanäle oder 6 bis 100 cm Länge für Kapillaren, bevorzugter 10 bis 60 cm. Größere Längen erlauben die Anwendung einer höheren Spannung bei Kapillarelektrophorese und eine verbesserte Trennung. Für ein Mikrotiterplatten-Well sind die Zentrum-zu-Zentrum-Beabstandungen zwischen den Gefäßen vorzugsweise kompatibel mit Standardmikrotiterplattenformaten wie beispielsweise 2,25, 4,5 und 9 mm.

[0058] Vorzugsweise ist ein Gefäß 3 μm bis 20 mm in der Tiefe oder im Innendurchmesser, und 4 μm bis 30 mm im Außendurchmesser, bevorzugter 9 μm bis 3 mm in der Tiefe oder im Innendurchmesser und 10 μm bis 3,5 mm im Außendurchmesser, bevorzugter 10 bis 380 μm , am meisten bevorzugt weniger als oder gleich 200 μm in der Tiefe oder im Innendurchmesser oder Außendurchmesser. Eine Gefäßwand ist bedeutenderweise von geeigneter Dicke für die optischen Eigenschaften der Erfindung. Dies ist insbesondere relevant für Gefäße von kleinen Innendurchmessern. Folglich kann der Gefäßinnendurchmesser oder die "Bohrung" ausgewählt werden und das Gefäßwandmaterial ausgewählt werden und der geeignete Außendurchmesser demgemäß bestimmt werden, um die erforderlichen optischen Eigenschaften zu ergeben. Für Silikakapillaren mit einem Innendurchmesser (hierin im Folgenden i.d.) im Bereich von 20 bis 250 μm , beispielsweise 20, 25, 50, 75 oder 100 μm , liegen die Außendurchmesser (hierin im Folgenden o.d.) vorzugsweise im Bereich von 100 bis 380 μm , beispielsweise 150, 200 oder 360 μm . Beispielsweise kann ein Gefäß von 75 bis 100 μm i.d. und 194 μm o.d. oder 180 μm i.d. und 364 μm o.d. sein. Es ist wichtig anzumerken, dass für ein Gefäß mit 75 μm i.d. und 364 μm o.d., wie in der Kapillarelektrophorese weit verwendet, keine Trennung der Kern- und Wandstrahlen möglich ist, wenn in wässrigen Lösungen gearbeitet wird. Für Silikakapillaren ist die Dicke geeigneterweise im Bereich von 30 bis 500 μm , beispielsweise 30 bis 150 μm : Gefäße von niedrigem i.d. weisen vorzugsweise eine niedrige Wanddicke auf, um ein minimales Verhältnis i.d. zu o.d. von 2 bis 4, beispielsweise 0,25, zu ergeben.

[0059] Beim Arbeiten mit Reaktionsgefäßen von größerem Durchmesser treten ähnliche Beschränkungen auf, jedoch fällt normalerweise das i.d./o.d.-Verhältnis in den Bereich, der eine geeignete Strahlentrennung ergibt. Beispielsweise weist ein Glasreaktionsgefäß, das einen i.d. von 20 mm und einen o.d. von 30 mm aufweist, ein i.d./o.d.-Verhältnis gleich zu 0,67 auf, was eine Strahlentrennung mit allen herkömmlichen Lösungsmitteln (siehe Tabelle 1) erlaubt. Für ein Polycarbonatreaktionsgefäß und Wasser als Lösungsmittel, für einen i.d. von 0,33 cm, wäre ein o.d. von 1,0 cm geeignet, jedoch wäre ein o.d. von 1,5 cm ungeeignet. Für ein repräsentatives Fluorpolymerrohrmaterial, Tygon Chemfluor 367 mit einem i.d. 1116" (1,6 mm) und einem o.d. von 1/8" (3,2 mm), ist das i.d./o.d.-Verhältnis 0,50 und eine Strahlentrennung mit Wasser als Lösungsmittel wird für alle Werte des Verhältnisses d/o.d. größer als 0,4, d. h. $d < 1/20"$ (1,3 mm), erreicht. Wenn man jedoch mit Hexan als Lösungsmittel in einem derartigen Rohrmaterial arbeitet, ist der Brechungsindex der Gefäßinhalte größer als der der Wände (Werte für die Brechungsindizes sind in der Fußnote zu Tabelle 1 angegeben), und keine Strahlentrennung ist möglich, es sei denn bei Abständen ungeeignet nahe zur Gefäßaußenwand.

[0060] Das Probengefäß kann frei oder verpackt sein, beispielsweise kann es eine stationäre Phase umfassen oder es kann beschichtet oder anderweitig mit geeigneten Materialien konfiguriert sein, wie sie im Stand der Technik beispielsweise in der HPLC bekannt sind. Eine geeignete Verpackung, sofern vorhanden, ist von korrespondierenden Brechungsindex zur Massenphasenprobe oder zum Lösungsmittel, das in der zu detektierenden Probe enthalten ist.

[0061] Vorzugsweise umfasst das Gefäß wesentliche Eigenschaften und Komponenten, die charakteristisch

für Säulen oder Kapillaren sind, die in druckangetriebenen oder elektrisch angetriebenen Trennungen vorhanden sind, einschließlich HPLC (für druckangetriebene) oder Kapillarelektrochromatographie (CEC) (elektrisch angetriebenes Äquivalent zu HPLC, trennend mittels Bindungs- oder Partitionskoeffizient, unter Verwendung z. B. hydrophober stationärer Phasen), micellare elektrokinetische Chromatographie und Kapillarelektrophorese (CE), einschließlich der Fokussierungs- und Konzentrationstechniken der isoelektrischen Fokussierung (IEF, trennend durch isoelektrischen Punkt, unabhängig von Größe und Form der Moleküle), Isotachophorese (ITP), Kapillarzonenlektrophorese (CZE, trennend durch Verhältnis von Ladung zu Größe) und dynamischen Feldgradientfokussierung (DFGF, wo eine konstante hydrodynamische Kraft einem Gradienten im elektrischen Feld gegenübersteht, was geladenen Molekülen erlaubt, zu fokussieren, in der Abfolge ihrer apparenten elektrophoretischen Mobilitäten und selektiven Konzentration der Analyten, z. B. Proteine – siehe "Digitally controlled electrophoretic focusing" Huang and Cornelius, Anal. Chem., 1999, 71, 1628-1632).

[0062] Die Trennung zwischen einem Probengefäß und dem Detektor, d , ist geeigneterweise derart, dass sie ein Koppeln der räumlich getrennten Lichtwege zu den Detektororten erleichtert. Geeigneterweise ist die Trennung eine Funktion des Gefäß-o.d. und des Grades der Trennung der Lichtwege, und ist vorzugsweise durch das Verhältnis $d/o.d.$ gegeben, das geringer als 10 ist, beispielsweise im Bereich von 0,5 bis 5, vorzugsweise 0,5 bis 1, ist. In einem besonderen Vorteil erlaubt die optische Anordnung der Erfindung eine extrem kompakte Struktur, wenn mit Kapillaren gearbeitet wird, in denen die Trennung d von der Größenordnung 50 bis 360 μm , beispielsweise 200 μm , ist. Dies ist insbesondere vorteilhaft, da, je kleiner der Wert d ist, desto kompakter und robuster die Anordnung ist und desto intensiver die transmittierten Lichtstrahlen beim Detektor sind. Die Trennung d kann angepasst sein, räumlich getrennte Lichtwege in Sequenz wie hierin zuvor definiert zu koppeln, mit oder ohne dazwischenliegenden optischen Komponenten, und vorzugsweise ohne dazwischen liegende optische Komponenten.

[0063] Es gibt eine Anzahl von kommerziell erhältlichen Arraydetektionssystemen, einschließlich beispielsweise die gewöhnlich verwendeten Photodioden und in jüngerer Zeit erhältlichen ladungsgekoppelten Vorrichtungen bzw. CCDs und aktive Pixelsensoren (APSs), z. B. Komplementär-Metalloxid-Halbleiter (CMOS).

[0064] Vorzugsweise umfasst deshalb ein Arraydetektor gemäß der Erfindung eine Festkörpermessvorrichtung, bevorzugter ein CCD, CID oder ein CMOS APS.

[0065] Eine Detektionszone kann von jeder beliebigen gewünschten Bereichsgröße sein und ist geeigneterweise von Zonendimensionen, die im Wesentlichen gleich zum Gefäß- oder Arrayquerschnitt in einer Ebene rechtwinklig zum Lichtweg sind, korrespondierend zu einem Eins-zu-Eins-Bild. Eine Detektionszone kann einen oder eine Vielzahl von Arraydetektoren umfassen.

[0066] Eine kleinere Zonengröße erhöht das Rauschen und reduziert die Empfindlichkeit, kann jedoch zu geringeren Kosten bereitgestellt werden. Vorzugsweise umfasst die Vorrichtung CCDs von niedrigstem Rauschen und höchster Sensitivität bzw. Empfindlichkeit in einer Vorrichtung von relativ kleinem Bereich, wie beispielsweise 1024 \times 256 Pixel CCD (MAT CCD30-11).

[0067] Ein CCD für die Verwendung in einer Vorrichtung der Erfindung kann 22 bis 5000 oder mehr Pixel in jeder Dimension aufweisen, vorzugsweise 256, 512, 770, 1152, 2048 oder 4096 Pixel, von einer Pixelgröße von 7 bis 35 μm , vorzugsweise 20 bis 30 μm , bevorzugter 22 bis 30 μm . Vorzugsweise umfasst das CCD 3 bis 28, beispielsweise 10, Pixel pro Kapillare oder 30 bis 2500, beispielsweise 100, Pixel pro Well. Pixel außerhalb des Bildgebungsbereichs werden vorzugsweise nicht digitalisiert, um die Auslesezeit zu reduzieren.

[0068] Kommerziell erhältliche CCDs können einen Ansatz beinhalten zum Schutz der CCD-Oberfläche, der üblicherweise in der CCD-Trägerverpackung eingelassen ist, und um die Bildqualität zu bewahren. Vorzugsweise umfasst der Ansatz eine Beschichtung, um einfallendes Licht zu absorbieren und bei einer unterschiedlichen Wellenlänge wieder zu emittieren, um UV in sichtbares Licht umzuwandeln, um eine Detektion durch das CCD zu erlauben. Eine Beschichtung ist beispielsweise eine Phosphorbeschichtung. Die Phosphorbeschichtung kann direkt auf den Ansatz oder auf ein Deckglas aufgebracht sein, das zwischen dem Ansatz und der Kapillare zwischengelagert ist, was es erleichtert, den Phosphor nach Bedarf auszutauschen, indem das Deckglas ersetzt wird, ohne einer Notwendigkeit des Ersetzens des Ansatzes.

[0069] Jede Kamera ist mit Steuermitteln verbunden, vorzugsweise Steuerungssteuermitteln, die eine geeignete Pixelausleserate bereitstellen, geeigneterweise in der Größenordnung von MHz, vorzugsweise größer als 4 oder 5 MHz.

[0070] Vorzugsweise sind die Verarbeitungsmittel für die Selektion von Ladungsbindungsvorgängen auf dem Chip programmiert, um den Signalstrom (Photoelektronen pro Sekunde) und die Auswahl des Bereichs von Interesse für ein Auslesen zu erhöhen. Zusätzlich steuern die Verarbeitungsmittel die Kameraauslesung und sammeln, speichern und analysieren Daten.

[0071] Im Falle einer Anordnung, die ein Röhrenprobengefäß umfasst, das für die dynamische Probendetektion vorgesehen ist, arbeitet die Vorrichtung vorzugsweise mit Echtzeitsignalverarbeitung für eine optimale Signal- bzw. Peakdetektion und Parametrisierung/Charakterisierung und potentiell für eine automatische Systemverwaltung, einschließlich Regelung der Vorrichtung und der Systeme. Beispielsweise könnte eine Rückmeldung das Stoppen oder Verlangsamen des Flusses, folgend einer anfänglichen Beobachtung im Detektionsfenster, sein, um es einer Probe zu erlauben, im Detektorfenster zu ruhen und eine längere Zeit für den Datenerwerb und ein verbessertes Signal bezüglich des Rauschens zu ergeben, oder um eine Detektion entlang der Länge eines Gefäßes zu erleichtern.

[0072] Die Flussgeschwindigkeit kann gesteuert werden durch Justieren des elektrischen Feldes (wie in der Kapillarelektrophorese) oder durch Justieren des Drucks (wie in der Flüssigchromatographie), oder durch eine Kombination der beiden. Für einen durch Zentrifugalkräfte angetriebenen Fluss wird die Flussgeschwindigkeitssteuerung durch Justieren der Winkelgeschwindigkeit ausgeführt.

[0073] Geeigneterweise umfasst die Anordnung Mittel zum Detektieren der Anwesenheit einer Probe in einem Detektionsfenster sowie Rückmeldungssteuerungsmittel zum Ausschalten der Spannung, wenn detektiert wird, dass sie ins Zentrum des Fensters migriert ist (siehe [Fig. 13](#)). Rückmeldungssteuerungsmittel beinhalten geeigneterweise Mittel zum Überwachen der anschließenden Verbreiterung des Probenpeaks bzw. -signals aufgrund von Diffusion als eine Funktion der Zeit und für eine Analyse der Änderung in der Peakvarianz über die Zeit sowie zum Bestimmen des Diffusionskoeffizienten, was es gestattet, dass der hydrodynamische Radius des Analyten abgeleitet wird, sowie Mittel zum Kombinieren mit der Mobilität, erhalten von der Zeit, die benötigt wird, das Fenster unter einer gegebenen Feldstärke zu erreichen, was es gestattet, dass die Ladung auf dem Analyten abgeleitet wird. Die Steuermittel sind in der Lage, mit jeder beliebigen Startpeakform zu arbeiten, da eine Faltung des Peaks nach Gauss es ermöglicht, dass die gausssche Komponente der Peakverbreiterung extrahiert wird. Die Datenqualität, die mit der Anordnung der Erfindung erhalten wird, ist derart, dass Diffusionskoeffizienten mit guter Präzision in weniger als 3 Minuten gemessen werden könnten. Diese Anordnung könnte verwendet werden, um Diffusionskoeffizienten, die Größe und Ladungen sowohl von kleinen Molekülen als auch großen Molekülen, einschließlich Proteinen, DNA und Polysacchariden, zu messen und eine einfachere Alternative zu analytischen ultrazentrifugen Verfahren zu bieten.

[0074] Alternativ könnte die Regelung Mittel beinhalten wie beispielsweise Peak-Erkennungs- und Entscheidungssoftware zum Instruieren eines Schaltventils und zum Steuern von Schaltzeiten, um eine Fraktionsammlung zu ermöglichen oder um eine Fraktion zu einem Massenspektrometer, z. B. über eine Elektrospray-Schnittstelle, oder zu einem NMR-Spektrometer zu dirigieren. Mittel zum Beobachten des Flussstroms sowohl vor als auch nach dem Ventil ermöglichen es, dass die Qualität des Analytumschaltens und die Effizienz der Umschaltmittel überwacht werden. Ein schematisches Beispiel einer Regelung ist in [Fig. 14](#) gegeben. Vorzugsweise positioniert die Anordnung die Kapillare in zwei separaten Lichtwegen und um zwei Sätze von räumlich getrennten transmittierten Lichtwegen zu erzeugen, die an zwei Detektoren oder Detektorzonen gekoppelt sind, wobei das Schaltventil dazwischen liegt, wobei nach der geeigneten Umschaltung das Eluens wiederum in einem zweiten Durchlauf des Detektors überwacht wird, so dass die Effizienz des Umschaltverfahrens überwacht werden kann. Eine Alternative ist, über mehrere Ausgaben des Schaltventils, passierend den Detektor für die Visualisierung, zu verfügen.

[0075] Die Regelung kann ferner das Steuern der Geschwindigkeit der Proben in verschiedenen Gefäßen, beispielsweise in einem Kapillararray, beinhalten, um die Ausgangszeiten in ihrer Reihenfolge zu koordinieren, oder für das Kombinieren von Proben von verschiedenen Kapillaren in gemeinsame Ausgangsmittel simultan. Die Geschwindigkeit kann gesteuert werden durch Steuern der Spannung oder des Drucks, beispielsweise der Pumpflussrate, und kann mit Schaltvorrichtungen bedient werden. Die Geschwindigkeit kann es ermöglichen, dass der Probenfluss bei einer gewünschten Zeit gestoppt wird, um mit einem Ereignis zusammenzufallen, welches auf der Probe auszuführen ist oder in der Probe stattzufinden hat. Ein gesteuerter Austritt kann für eine anschließende Fraktionssammlung oder Analyse dienen, beispielsweise zum Verbinden der Ausgabe eines Kapillarbündels an ein Massenspektrometer durch Elektro-Spray, oder an ein NMR-Spektrometer oder dergleichen.

[0076] Vorzugsweise wird eine Regelung bereitgestellt durch Erzeugen einer Potentialdifferenz über die Län-

ge der Kapillare und/oder Variieren der angelegten Spannung, um die Migration der Probe zu steuern, einschließlich des Verlangsamens oder Stoppens, um das Signal/Rausch-Verhältnis zu verbessern, sowie einschließlich die zeitliche Einstellung der Probenmigration, um eine gewünschte Ankunftszeit der Probe bei einem Punkt zu erzielen, um in die Probensammelmittel wie beispielsweise das Massenspektrometer umzuschalten. Das System kann mit einer Druckdifferenz und Pumpen, elektrischer Feldstärke, Säulenversetzung oder dergleichen arbeiten. Eine Kapillare umfasst deshalb vorzugsweise Elektroden, Ventile oder Druckregulatoren bzw. -steuermittel an den Enden davon oder entlang der Länge davon bei der Detektionszone oder jeder Detektionszone, zusammen mit Schaltungen zum Steuern der Elektroden oder zum Erleichtern der Pumpsteuerung. Im Falle der spannungsgesteuerten Migration wird ein Probengefäß vorzugsweise mit einer Pufferversorgung verbunden und ein elektrisches Feld wird derart angeordnet, dass die Pufferversorgung und Probeneinführung am Hochpotentialende der Kapillare erfolgt, wobei hoch entweder positiv oder negativ bezüglich der Masse sein kann.

[0077] In einem weiteren Aspekt der Erfindung wird ein optisches Anordnungsmodul für die Verwendung mit einer Säulen- oder Kapillarentrennvorrichtung wie im Stand der Technik bekannt bereitgestellt, wobei das Gefäß eine Kapillare oder Säule ist, die Verbindungsmittel an einem Ende zum Einsetzen in den Auslass einer Säulen- oder Kapillarentrennvorrichtung umfasst, und optional Verbindungsmittel umfasst, die ein Einsetzen in den Einlass von Analysemiteln am anderen Ende umfasst, oder Verbindungsmittel an beiden Enden für das Einsetzen entlang der Länge einer Kapillare oder Säule umfasst. Ein Modul zum Einsetzen entlang der Länge einer Säule oder Kapillare weist typischerweise einen Säulen- oder Kapillarenabschnitt von übereinstimmendem i.d. und o.d. als die Trennvorrichtung oder das Verbindungsmittel auf, was einen weichen Flussübergang erlaubt.

[0078] In einem weiten Aspekt der Erfindung wird eine Ansteckvorrichtung der optischen Anordnung bereitgestellt, die geeignet bzw. angepasst ist, um bei einem Abschnitt einer Kapillare oder Säule angeordnet zu sein, der von geeignetem i.d., o.d. und Brechungsindex ist, wie hierin zuvor definiert, umfassend Mittel zum Anordnen bei der Kapillare oder Säule einer Trennvorrichtung. Optional weist die Kapillare oder Säule ihren Auslass eingefügt in das Massenspektrometer auf, wobei in diesem Fall der Aufsatz so nahe beim Massenspektrometer wie möglich angeordnet ist. Im Falle eines Aufsatzes kann die Kapillare oder Säule der Trennvorrichtung von jeder beliebigen Oberflächenbeschichtung abgenommen werden, um die Durchführung des Verfahrens der Erfindung zu erleichtern, wobei die abgenommene Kapillare oder Säule, wie beispielsweise ein kapillarer Elektrophorese- oder Mikrobohr-HPLC-Abschnitt, das Probengefäß der Anordnung bereitstellt.

[0079] In einem weiteren Aspekt der Erfindung wird eine Vorrichtung für eine chemische Reaktion oder Synthese oder Analyse oder für eine Probentrennung oder Transport bereitgestellt, wobei die Vorrichtung die optische Anordnung wie hierin zuvor definiert umfasst. Das chemische Reaktionsgefäß selbst könnte zylindrisch sein und die Reaktion im Stapelflussmodus als eine Funktion der Zeit überwacht werden und Rückmeldungssteuerung zum Halten der Reaktion verwendet werden – z. B. durch Zumischen eines Abschreckreagenz, durch Verändern der Temperatur oder durch Exportieren der Gefäßinhalte. Alternativ könnte das Reaktionsgefäß röhrenförmig sein und in kontinuierlichem Flussmodus verwendet werden. Die Vorrichtung kann eine Vielzahl von Mitteln zum Einführen von einem oder mehreren Reagenzien in zumindest ein Probengefäß umfassen, zusammen mit Mitteln zum Regulieren bzw. Steuern der Reaktionsbedingungen, um eine gewünschte chemische Synthesereaktion innerhalb des zumindest einen Probengefäßes zu bilden; oder kann Mittel für den Einlass und Auslass einer Probe in dynamischer Weise in das zumindest eine Probengefäß beinhalten, zusammen mit Mitteln zum Anwenden einer Druckdifferenz oder Potentialdifferenz über die Enden des Gefäßes, sowie Mittel zum Zuführen eines Trennmediums wie beispielsweise einen Puffer, um Trennungen innerhalb des zumindest einen Probengefäßes durchzuführen; oder kann Trennmittel wie beispielsweise eine Chromatographiesäule wie im Stand der Technik bekannt beinhalten, die einen Auslass mit einem Einlassende des zumindest einen Probengefäßes wie hierin zuvor definiert für die dynamische Analyse der getrennten Probe aufweist.

[0080] In einem weiteren Aspekt der Erfindung wird ein Verfahren für die Detektion des Lichts bereitgestellt, transmittiert durch zumindest eine Probe, die innerhalb des Kerns von zumindest einem Probengefäß einer optischen Anordnung wie hierin zuvor definiert enthalten ist, umfassend Beleuchten des Gefäßes mit einer im Wesentlichen kollimierten Lichtquelle oder -quellen und Detektieren des transmittierten Lichts in einem Detektor, wobei transmittiertes Licht räumlich in zumindest zwei Lichtwege getrennt ist, einen Wandweg, der lediglich durch die Gefäßwände getreten ist, räumlich getrennt von einem Kernweg, der durch die Wände und den Kern getreten ist, wobei die räumlich getrennten Lichtstrahlen an individuelle Detektionsorte auf dem Arraydetektor gekoppelt sind. Geeigneterweise umfasst das Verfahren beliebige Merkmale oder Ausführungsformen, die mit den oben ausgeführten Vorrichtungsmerkmalen und -ausführungsformen korrespondieren.

[0081] Vorzugsweise ist das Verfahren ein Verfahren zum Detektieren von Licht von Proben in einer Probenanalyse beispielsweise für Hochdurchsatzscreening (HTS) oder Profilbestimmung von Assays, wie beispielsweise Enzymassays; und Verwendungen davon in den pharmazeutischen, biomedizinischen und biowissenschaftlichen, gesundheitsbezogenen, agrochemischen, veterinären, industriellen, umweltbezogenen oder materialbezogenen oder ähnlichen Gebieten, für die Detektion, Analyse, Charakterisierung und Quantifizierung oder dergleichen von in einem Gefäß enthaltenen Proben, und optional ferner zum Sammeln von getrennten Komponenten davon; insbesondere in kombinatorischer Chemie; in Metabolomics, Proteomics oder Genomics, Assay und Hochdurchsatzanalyseanwendungen, typischerweise Hochsensitivitätsanalysen, Trenn- und/oder Quantifizierungsstudien und für die Probentrennung, beispielsweise Chromatographie oder Elektrophorese, insbesondere Säulenchromatographie, Kapillarelektrophorese mit Echtzeit- oder Nachtrennanalyse, in Krankenhaus- oder Chirurgiebluttests und anderen Assays, in industrieller Qualitätskontrolle, in Umweltpes-tizidgradüberwachung und dergleichen.

[0082] Das Verfahren kann ein Verfahren zum Detektieren von Licht von einer statischen oder dynamischen Probe sein. Typischerweise ist eine statische Probe in einem geschlossenen Gefäß wie hierin zuvor definiert enthalten, typischer in einem Gefäß in der Form einer Zelle oder eines Well, was eines von einer Vielzahl von Gefäßen beispielsweise in einer Mikrotiterplatte oder einer Wellplatte oder einer Probenplatte wie hierin zuvor definiert sein kann. Proben, die von Enzymassays oder einer anderen Mehrfachprobenanalyse abgeleitet sind, können in dieser Form für die Detektion vorliegen.

[0083] In einer Ausführungsform des Verfahrens dient das Verfahren zur Einzelkapillar- oder Mehrfachkapillarextinktionsdetektion, umfassend das Ziehen von Lösungsmittel und dann Probe in die Kapillare(n), durch Kapillarbetätigung, Druck, Pipettieren oder dergleichen, Durchführen der Detektion der Differenz im Transmissionsgrad der Probe und des Lösungsmittels, und Entsorgen oder Zurückblasen der Probe zur Quelle. Dieses Verfahren ist nützlich in der Biowissenschaft zur Durchführung von Extinktionsmessungen auf kleinem Proben-volumina von Mikrolitern oder weniger. Enzymassays können mit einem oder zwei Strömen durchgeführt werden, die das Gefäß betreten, und Detektieren einer zeitabhängigen Veränderung, normalerweise bei der Profilbestimmung, für den Enzymassay.

[0084] Typische dynamische Proben sind elektrisch oder durch Druck angetrieben und sind in einem Gefäß vom offenendigen Leitungstyp wie hierin zuvor definiert vorhanden, wie beispielsweise einer Kapillare, die Einlass- und Auslassenden für den Fluss der Probe durch die Kapillare aufweist, wobei die Kapillare eine einzelne Kapillare oder ein Teil eines kapillaren Arrays wie hierin zuvor definiert sein kann. Proben, die von Hochdurchsatzscreening oder von den Trenn- oder Transporttechniken abgeleitet sind, können in dieser Weise für die Detektion bereitgestellt werden, wobei davon Proben, die von Trenntechniken abgeleitet sind, für die Trennung innerhalb der Kapillare mit simultaner Detektion der Lichttransmission bereitgestellt werden können, oder in einem Trennverfahren wie beispielsweise Säulenchromatographie getrennt werden können, und der abgetrennte Probenfluss von der Säule direkt in eine Kapillare für die Detektion der Lichttransmission gekoppelt werden kann.

[0085] Vorzugsweise ist das Verfahren für die Detektion einer dynamischen Probe ein Verfahren für eine Säulen- oder Kapillartrennung wie im Stand der Technik bekannt, geeigneterweise ausgewählt aus druckangetriebenen oder elektrisch angetriebenen Trennungen einschließlich HPLC (für druckangetriebene) oder Kapillarelektrochromatographie (CEC) (elektrisch angetriebenes Äquivalent zu HPLC, trennend mittels Bindungs- oder Partitionskoeffizient, unter Verwendung z. B. hydrophober stationärer Phasen), micellare elektrokinetische Chromatographie und Kapillarelektrophorese (CE), einschließlich der Fokussierungs- und Konzentrations-techniken der isoelektrischen Fokussierung (IEF, trennend durch isoelektrischen Punkt, unabhängig von Größe und Form der Moleküle), Isotachophorese (ITP), Kapillaronenelektrophorese (CZE, trennend durch Verhältnis von Ladung zu Größe) und dynamischen Feldgradientenfokussierung (DFGF, wo eine konstante hydrodynamische Kraft einem Gradienten im elektrischen Feld gegenübersteht, was geladenen Molekülen erlaubt, zu fokussieren, in der Abfolge ihrer apparenten elektrophoretischen Mobilitäten und selektiven Konzentration der Analyten, z. B. Proteine – siehe "Digitally controlled electrophoretic focusing" Huang and Cornelius, Anal. Chem., 1999, 71, 1628-1632. Andere elektrisch angetriebene Techniken sind bekannt oder können in Zukunft entwickelt werden.

[0086] Ein Verfahren, das ein Verfahren für die elektrophoretische Trennung von Molekülen ist, wird mit einer Anordnung, einem Modul oder einem Aufsatz in einer Kapillare oder einem Kanal wie hierin zuvor definiert ausgeführt, die bzw. der mit einer Pufferzufuhr verbunden ist. Ein elektrisches Feld im Bereich von Kilovolt wird über beide Enden der Kapillare oder des Kanals angelegt, um die Moleküle zu veranlassen, zu migrieren. Proben werden typischerweise bei einem Hochpotentialende eingeführt und bewegen sich unter dem Einfluss des

elektrischen Felds in Richtung eines Niederpotentialendes des Kanals. Eine Extinktionsanalyse kann entlang der Länge der Kapillare oder des Kanals oder nahe des Auslasses durchgeführt werden, was ein Beobachten des gesamten Verfahrens erlaubt, das in der Länge der Kapillare oder des Kanals stattfindet, oder das Ergebnis davon.

[0087] Eine weitere Verwendung der dynamischen Detektion liegt im Messen der Brechungsindexänderung. Durch Analyse des Beleuchtungsmusters des Kernstrahls bei einer hohen räumlichen Auflösung rechtwinklig zur Kapillarachse weist der Detektor die Fähigkeit auf, die Brechungsindexänderung im Lösungsmittel in der Kapillare zu überwachen. Dies würde eine Unterscheidung zwischen zwei Lösungsmitteln erlauben, und bei Ausdehnung die Fähigkeit, direkt die mobile Phasenzusammensetzung während einer stufenweisen Elutions-trennung in Duallösungsmittelmischungen zu überwachen. Sofern notwendig könnte eine Vergrößerung in der Richtung rechtwinklig zur Kapillarachse verwendet werden, um die Auflösung hinsichtlich der mobilen Phasenkomposition zu erhöhen. Dies würde bei HPLC von Vorteil sein. Da der Lösungsmittelbrechungsindex temperaturabhängig sein kann, könnte eine Anwendung eines Wärmepulses, der einen Temperaturanstieg oberhalb des Detektors bereitstellt, verwendet werden, um die Geschwindigkeit der mobilen Phase in Kapillar-HPLC zu bestimmen.

[0088] Eine weitere Verwendung von Multikapillarextinktionsdetektion dient für die schnelle Messung des pK_a . Hier werden Aliquots der Probenlösung in einen Satz von Pufferlösungen gemischt, die einen Bereich von pH-Werten abdecken, der sich typischerweise über den Bereich 2 bis 12 erstreckt, und alle Mischungen werden dann in separate Kapillaren in der Reihenfolge Puffer dann Mischung des Puffers plus Probe aufgezogen. Durch Nehmen von Messungen bei einer oder mehreren Wellenlängen, wo Säure- und Basenformen eine unterschiedliche Extinktion aufweisen, können Ergebnisse von allen Kapillaren bezüglich der Extinktion als eine Funktion des pH verarbeitet werden, um die pK_a -Werte zu bestimmen. Unter Verwendung von geeigneten nicht- oder schwachabsorbierenden anorganischen Puffern ist dies für organische oder biologische Verbindungen anwendbar, die alle übliche titrierbare funktionelle Gruppen enthalten, einschließlich Carboxyl- und Amingruppen, sowie bei Konzentrationen hinab bis 100 Mikromolar. Dies ist von Vorteil in beispielsweise der pharmazeutischen Industrie und für Hochdurchsatzscreening.

[0089] Die Erfindung weist eine besondere Anwendung in Bezug auf Proben von kleinen Molekülen oder von einem Molargewicht in der Größenordnung 15 bis 500 auf, kann jedoch auch in Bezug auf Proben von größeren Molekülen verwendet werden, wie beispielsweise Polymeren, Proteinen, DNA und anderen Biomolekülen von einem Molargewicht in der Größenordnung 500 bis 106. Die Erfindung ist von besonderem Vorteil in einer Ausführungsform aufgrund ihrer kleinen Größe. Dies kann zum Vorteil eingesetzt werden in Krankenhäusern und dergleichen für eine Probenanalyse ohne die Notwendigkeit für klinische biochemische Laboratorien, beispielsweise als ein Farb-Assay. Bluttests können auf Blutproben durchgeführt werden, die gegenwärtig geschleudert werden, um rote Blutzellen und Plasma in einem Labor zu trennen. Die Anordnung der Erfindung kann verwendet werden, um rotes Blut und Plasma zu detektieren, entweder vor oder nach Zentrifugation, beispielsweise durch Hinzufügen eines Reagenz zur Plasmaphase und Beobachten der Reaktion.

[0090] In einer alternativen Ausführungsform erlaubt eine Mehrfachwellenlängendetektion eine Detektion bei einem Bereich von Wellenlängen entlang der Länge einer Kapillare oder eines Kanals.

[0091] Vorzugsweise ist das Verfahren ein Verfahren, das eine gewisse Transformation ermöglicht oder erlaubt, oder das Auftreten eines Ereignisses in einem Gefäß, sowie die Bildgebung des Ereignisses. Die Bildgebung kann am Ende der Transformation oder des Ereignisses oder während der ganzen Zeit durchgeführt werden. Die Bildgebung während der ganzen Zeit eines Ereignisses erfordert eine Zeiteinstellung, um mit der Migration der Probe im Gefäß zusammenzutreffen, vorzugsweise unter Verwendung einer Regelung wie hierin zuvor definiert, um die Probenmigration im Gefäß bei einem gewünschten Ort oder Intervall für die Bildgebung zu stoppen.

[0092] Beispielsweise kann das Verfahren ein Verfahren zum Beobachten einer chemischen Reaktion für biochemische, biowissenschaftliche, gesundheitsbezogene, agrochemische, veterinäre, pharmazeutische, industrielle oder umweltbezogene Zwecke sein, wobei eine Mehrfachdetektion durchgeführt werden kann auf dem Einlass und dem Auslass und im Abfall, um sicherzustellen, dass das gesamte Reaktionsprodukt gesammelt worden ist. Die Reaktion kann im Gefäß in der Form einer Kapillare durchgeführt werden, die gekrümmt sein kann, was eine Einfachheit der Detektion von mehreren Positionen unter Verwendung einer gemeinsamen Lichtquelle und Detektor erlaubt.

[0093] In einer alternativen Ausführungsform umfasst das Verfahren das Detektieren einer Probe von phar-

mazeutischen Studien in der Form eines Analyten in Lösungsmittel wie beispielsweise Dimethylsulfoxid (DMSO), gespeichert in Mikrotiterplatten, wie es in der pharmazeutischen Praxis üblich ist. Das Verfahren der Erfindung kann auf Proben durchgeführt werden entweder im Mikroplattenarray in situ, als ein Gefäßarray wie hierin zuvor definiert, oder dem Aufziehen von Teilen in eine oder mehrere Kapillaren folgend, als eine einzelne Kapillare oder ein Kapillarenarray. Die Verwendung einer kurzen Weglänge von weniger als 9 mm, vorzugsweise in der Größenordnung von 300 µm oder weniger, erlaubt eine UV Extinktionsdetektion ohne Totalabsorption von Licht durch das DMSO-Lösungsmittel.

[0094] In einer alternativen Ausführungsform ist das Verfahren ein Verfahren zum Messen von physiochemischen Eigenschaften, beispielsweise Partitionskoeffizienten, umfassend das Platzieren einer Probe eines Analyten in einem ersten Lösungsmittel im Gefäß, zusammen mit einem zweiten nicht mischbaren Lösungsmittel, beispielsweise jeweils Wasser und Octanol, und Beobachten der Bewegung des Analyten zwischen den zwei nicht mischbaren Phasen. In einem speziellen Vorteil ermöglicht das Verfahren der Erfindung ferner die Bildung der Lösungsmittelphasen, wobei deren Schnittstelle ebenfalls sichtbar ist.

[0095] In einer alternativen Ausführungsform kann das Verfahren ein Verfahren zur Detektion von Licht von einer Vielzahl von Probengefäßen für die Hochdurchsatzanalyse von verschiedenen Proben in jedem Gefäß sein, beispielsweise für eine Vergleichsanalyse davon, oder kann ein Hochbeladungsverfahren zum Detektieren eines großen Volumens derselben Proben in jedem Gefäß, ein Hochfluss- oder anderweitiges Mengenstromverfahren sein, vorgesehen zum Kombinieren einer gewünschten Komponente von jeder Probe. Ein Hochbeladungsverfahren kann das Einführen der Ausgabe von einer einzelnen HPLC umfassen, beispielsweise eine Flussrate aufweisend, die eine in einer einzelnen Kapillare mögliche übersteigt, jedoch geeignet zum Einführen in ein Kapillarray, was dann effektiv als ein einzelner Detektor funktionieren kann. Beispielsweise kann das Verfahren das Detektieren von Analyten, die in einer Probe vorhanden sind, die sich in einer Mikrobohr-Flüssigkeitschromatographiesäule befindet oder aus dieser austritt, und die Säule kann einen Durchmesser im Mikrometerbereich bis zum Millimeterbereich aufweisen. Eine hohe Beladung in einer Vielzahl oder einem Array von Gefäßen erzielt eine höhere Auflösung in der Trennung und eine potentiell höhere Sensitivität in der Detektion als der Betrieb auf einem großen Maßstab in einem einzelnen Gefäß von einem einzelnen großen Bohrtrennkanal. Darüber hinaus ist in einem Array von Kapillaren eine kürzere Weglänge möglich, als in einer Standard-HPLC-Zelle möglich ist, und dies erlaubt den Betrieb bei einer niedrigeren Wellenlänge wie hierin zuvor definiert.

[0096] Ein Verfahren für die Detektion im DFGF oder ein Mehrfachdetektionsverfahren setzt vorzugsweise eine Regelung wie hierin zuvor definiert ein.

[0097] Vorzugsweise umfasst das Verfahren das Beleuchten des zumindest einen Probengefäßes mit kollimiertem Licht, umfassend eine einzelne oder eine Vielzahl von Wellenlängen, ausgewählt im Bereich wie hierin zuvor definiert. In einem besonderen Vorteil findet die Beleuchtung mit einer kollimierten Lichtquelle einer einzelnen Wellenlänge bei einer gegebenen Zeit statt, wobei dadurch das Auslesen der optischen Detektionsergebnisse vereinfacht wird.

[0098] Eine Probe wie hierin zuvor definiert kann jede beliebige Probe von einem oder mehreren kleinen oder großen Molekülen umfassen, die in einer flüssigen oder Gelphase vorhanden sind, geeigneterweise in Lösung mit flüssigem Phasenlösungsmittel oder Co-Lösungsmittel, wie beispielsweise eine inerte oder nichtreaktive Flüssigkeit. Das Lösungsmittel oder Gel kann einen Brechungsindex im Bereich wie hierin zuvor definiert aufweisen. Geeigneterweise jedoch sind diese Proben charakterisiert durch einen Brechungsindex, der geringer ist als der der Probengefäßwände jedoch in derselben Größenordnung, wobei die Probe einen im Wesentlichen konvergenten Lichtweg bereitstellt. Vorzugsweise umfasst deshalb die Probe eine Lösung oder eine Suspension von zu detektierenden Molekülen in einem Lösungs- oder Suspensionsmedium, ausgewählt aus Wasser, Alkoholen, Acetonitril, Hexan, Dichlormethan, Aceton, DMSO und anderen geläufigen Lösungsmitteln und Co-Lösungsmitteln und Mischungen davon; oder die Probe kann bereitgestellt sein in der Form eines Gels beispielsweise nicht verknüpften Polymerlösungen wie beispielsweise Zellosederivaten (z. B. Hydroxypropylzellulose) und synthetischen Polymeren (z. B. Polyethylenoxid).

[0099] Vorzugsweise umfasst das Verfahren der Erfindung das Auswählen einer Probe für die Analyse, Bestimmung individueller Wellenlängen, bei welchen eine Absorption der gewünschten Probenkomponenten am stärksten ist, das Prüfen des Brechungsindex in der Probe, um ein geeignetes Probengefäß auszuwählen, welches dann, wenn es die Probe enthält und wenn es beleuchtet wird, räumlich getrennte Strahlen wie hierin zuvor definiert erzeugen wird, oder Auswählen einer geeigneten Kombination von optischen Komponenten, Filtern und dergleichen und eines geeigneten Gefäßes, um eine Array-Trennung zu detektieren, um räumlich ge-

trennte Strahlen an unabhängige Orte auf dem Detektorarray zu koppeln.

[0100] Die Probe kann in das zumindest eine Probengefäß wie hierin zuvor definiert in bekannter Weise eingeführt werden, beispielsweise durch Injektion, Schleifeninjektion, eine Pipette, hydrostatische, elektrokinetische oder ähnliche Injektionstechniken, und kann vom Gefäß in bekannter Weise entfernt werden, wie beispielsweise Injektion, Elektrospray oder eine andere Schnittstelle zur Entsorgung zu einem weiteren Gefäß für die Speicherung oder zu einem späteren Identifikationsmittel wie beispielsweise einem Massenspektrometer.

[0101] Detektiertes Licht wird an individuelle Detektionsorte auf dem Arraydetektor wie hierin zuvor definiert gekoppelt. Das zumindest eine Probengefäß wie hierin zuvor definiert wird an eine Vielzahl von Detektororten in der Weise gekoppelt, dass die Kerndetektororte mit dem Kernlichtweg von dem zumindest einen Probengefäß entsprechen, und periphere Detektororte mit dem/den peripheren Wandpunkt(en) vom Gefäß entsprechen. Vorzugsweise umfasst das Verfahren die Bildgebung des transmittierten Lichts, detektiert von den Detektionsmitteln, beispielsweise in der Form eines CCD-Bildes wie im Stand der Technik bekannt. Vorzugsweise umfasst das Verfahren ferner das Referenzieren des von den Detektionsmitteln detektierten Lichts mittels einer Expositionsreferenzierung, wobei das Verhältnis der Kernstrahlintensität zur Wandstrahlintensität einen Wert für die Probenintensität bei jedem Ort ergibt, wobei ein Überschuss oder Flimmerrauschen aufgrund von Lichtquellenfluktuation eliminiert wird.

[0102] Folglich umfasst deshalb das Verfahren das Koppeln des zumindest einen Probengefäßes an zumindest drei Detektororte, vorzugsweise 3 bis 25 Detektororte für ein Probengefäß mit einem Durchmesser in der Größenordnung von Mikrometern, wobei die Orte beispielsweise 1:1:1-5:15:5 oder 8:9:8 aufgeteilt werden können, abhängig von der relativen Wand- und Kernstrahlbreite; und für ein Probengefäß in der Größenordnung von cm in einer Menge von 30 bis 2500 Pixel pro Probengefäß, beispielsweise im Verhältnis 5:20:5 oder 10:10:10 bis 500:1500:500 oder 800:900:800, abhängig von der relativen Wand- und Kernstrahlbreite. Das Verfahren kann das Summieren der Pixel oder Ähnliches für eine verbesserte Signalstärke und Rauschreduktion wie im Stand der Technik bekannt beinhalten.

[0103] Vorzugsweise beinhaltet das Verfahren das anschließende Messen der Menge der Absorption von Licht durch Spezies im Probengefäß, was die Menge der absorbierenden Spezies in einer im Stand der Technik bekannten Weise anzeigt, und umfassend das Messen der Intensität des Lichts in der Abwesenheit und Anwesenheit der Probe. In einem besonderen Vorteil erfolgt eine Messung gemäß der Erfindung einfach durch Messen der Intensität von Licht in einem Wandstrahl und einem Kernstrahl. Der Logarithmus des Verhältnisses, genommen in Verbindung mit den in der Abwesenheit der Probe gemessenen Werten, stellt die Extinktion gemäß dem Lambert-Beerschen Gesetz bereit.

[0104] Die Extinktion kann beispielsweise als ein CCD-Schnappschuss abgebildet werden. vorzugsweise jedoch ist das Verfahren ein Verfahren für die Schnappschussdetektion, wobei die Detektion in einer Vielzahl von finiten Expositionen aufgezeichnet wird, beispielsweise fünf Expositionen pro Sekunde, und Expositionen sind überlagert, direkt im Fall eines statischen Beispiels oder mit Zeitverschiebung im Fall einer dynamischen Probe. Folglich zeigt ein individuelles Bild beschränkte Informationen und deshalb stellt das Detektionsarray vorzugsweise Rohdaten bereit, welche für eine graphische Anzeige kompiliert und konvertiert werden, beispielsweise in der Form eines Elektropherogramms.

[0105] In einem weiteren Aspekt der Erfindung wird die Verwendung der optischen Anordnung, des Verfahrens und der Vorrichtung wie hierin zuvor definiert in der Probenanalyse bereitgestellt, beispielsweise für Hochdurchsatzscreening (HTS), beispielsweise in einem Array wie hierin zuvor definiert, oder Profilbestimmung von Assays, wie beispielsweise Enzymassays, und Verwendungen davon in den pharmazeutischen, biomedizinischen und biowissenschaftlichen, gesundheitsbezogenen, agrochemischen, veterinären, materialbezogenen, industriellen, umweltbezogenen oder ähnlichen Gebieten, für die Detektion, Analyse, Charakterisierung und Quantifizierung oder dergleichen von in einem Gefäß enthaltenen Proben, und optional ferner zum Sammeln von getrennten Komponenten davon; insbesondere in kombinatorischer Chemie; in Metabolomics, Proteomics oder Genomics, Assay und Hochdurchsatzanalyseanwendungen, typischerweise Hochsensitivitätsanalysen, Trenn- und/oder Quantifizierungsstudien und für die Probenrennung, beispielsweise Chromatographie oder Elektrophorese, insbesondere Säulenchromatographie, Kapillarelektrophorese mit Echtzeit- oder Nachtrennanalyse, in Krankenhaus- oder Chirurgiebluttests und anderen Assays, in industrieller Qualitätskontrolle, in Umweltpestizidgradüberwachung und dergleichen.

[0106] Die Erfindung wird nun in einer nichtbeschränkenden Weise mit Bezug auf die folgenden Beispiele und Figuren verdeutlicht, worin gilt:

- [0107] [Fig. A](#) zeigt Aufrisse von Kapillararraytyp-Gefäßen und Detektionsmitteln einer optischen Anordnung der Erfindung
- [0108] [Fig. 1](#) zeigt ein schematisches Diagramm einer Vorrichtung der Erfindung für Parallelkapillarextinktionsdetektion
- [0109] [Fig. 2](#) zeigt eine kollimierte Beleuchtung eines rechteckigen CCD-Bereichs (26,6 mal 6,7 mm) mittels einer Lichtausgabe von einer Quarzglas-Glasfaser von 1 mm Durchmesser (N.A. = 0,22) mittels eines zylindrischen und sphärischen Quarzglaslinselements
- [0110] [Fig. 3](#) zeigt die CCD- und Gefäßanordnung der optischen Anordnung der Erfindung
- [0111] [Fig. 4](#) zeigt einen Teil eines CCD-Schnappschusses, zeigend ~3 mm von vier Kapillaren (100 µm i.d., 194 µm o.d.); der gesamte abgebildete Bereich ist 6,7 × 26,6 mm. Die Inhalte der Kapillaren sind erstens Luft, zweitens Wasser, drittens und viertens Tintenlösung
- [0112] [Fig. 5](#) zeigt ein Lichtstrahl-Strahlverfolgungsdiagramm gemäß der Erfindung, das den Lichtweg durch eine wassergefüllte Kapillare, 100 µm i.d., 194 µm o.d., zeigt. Die dunklen Strahlen repräsentieren das Licht, das durch das Wasser beim Kapillazentrum passiert, und die hellen Strahlen zeigen das Licht, das nur durch die Kapillarwände passiert. Die gestrichelte Linie zeigt die ungefähre Position der Fiberglasoptik-Ansatzoberfläche
- [0113] [Fig. 6](#) zeigt Lichtstrahlverfolgungen, nicht gemäß der Erfindung, die einen Lichtweg durch eine luftgefüllte Kapillare, 100 µm i.d., 194 µm o.d., zeigen
- [0114] [Fig. 7](#) zeigt Lichtstrahlverfolgungen gemäß der Erfindung, die einen Lichtweg durch eine wassergefüllte Kapillare, 75 µm i.d., 194 µm o.d., zeigen
- [0115] [Fig. 8](#) zeigt Lichtstrahlverfolgungen nicht gemäß der Erfindung, die einen Lichtweg durch eine wassergefüllte Kapillare, 75 µm i.d., 364 µm o.d., zeigen
- [0116] [Fig. 9](#) zeigt Elektropherogramme von ~16 nL 100 mM 4-Nitrophenol, eingebracht in jede von vier parallelen 100 µm i.d. Kapillaren. Kapillarlänge: 500 mm insgesamt, 300 zum Detektor. Trennungsspannung: 5000 V. Puffer: Natriumphosphat pH 7,5 (15 mM Natrium)
- [0117] [Fig. 10](#) zeigt Elektropherogramme von 100 µM 4-Nitrophenol nach einer Korrektur bezüglich Kreuzkopplung zwischen den Kapillaren
- [0118] [Fig. 11](#) zeigt Elektropherogramme von ~16 nL 1 µM 4-Nitrophenol, eingebracht in jede Kapillare
- [0119] [Fig. 12](#) zeigt ein Elektropherogramm, erzeugt durch Nehmen des Durchschnitts der vier in [Fig. 11](#) gezeigten Verfolgungen
- [0120] [Fig. 13](#) zeigt eine Peak-Bildgebung und -Varianz für eine Probe von Rhodamin 700, eingebracht auf eine Kapillare und migriert mittels CE zur Detektionszone, die durch laserinduzierte Fluoreszenz mit einem CCD abgebildet wird. Die Spannung wird abgeschaltet (bei $\Delta t = 0$) und die Signal- bzw. Peakverbreiterung aufgrund von Diffusion wird für 1800 s (oben) überwacht. Die Änderung in der Peak-Varianz wird gegeben die Zeit aufgezeichnet (unten)
- [0121] [Fig. 14](#) zeigt eine schematische Darstellung einer möglichen Anordnung für eine Regelung. Die Ausgabe von einem flüssigen Chromatographiesystem wird während eines ersten Passierens des Bereichsdetektors überwacht, eine Peakerkennungs- und Entscheidungssoftware kann das Schaltventil instruieren, die geeignete Fraktion zur Sammlung oder beispielsweise zu einer Massenspektrometerschnittstelle zu dirigieren. Nach dem geeigneten Umschalten wird das Eluens wiederum in einem zweiten Passieren des Detektors überwacht, so dass die Effizienz des Schaltverfahrens überwacht werden kann. Eine Alternative wäre es, mehrere Ausgaben vom Schaltventil zu haben, die den Detektor für eine Visualisierung passieren.
- [0122] [Fig. 15](#) zeigt ein Beleuchtungsmuster, rechtwinklig zur Kapillarachse, erzeugt durch Licht, das durch den Kern einer Kapillare von 75 µm i.d. 194 µm o.d. passiert, die 260 µm von der Detektionsoberfläche positioniert ist. Aufzeichnungen sind gezeigt für die Kapillare, die Wasser und Acetonitril enthält (bei 20 °C, Natri-

um-D-Linie); die Differenz im Beleuchtungsmuster würde die direkte Bestimmung der mobilen Phasenzusammensetzung während einer stufenweise Eluierung erlauben. Acetonitril bei 44 °C weist denselben Brechungsindex auf wie Wasser bei 20 °C; derselbe Ansatz würde verwendet werden, um die mobile Phasengeschwindigkeit zu bestimmen, durch Anwenden eines Wärmepulses oberhalb des Detektors

[0123] [Fig. 16](#) ist ein Diagramm, das eine Aufsatzvorrichtung einer optischen Anordnung der Erfindung zeigt, die die ungefähren Dimensionen für die Extinktionsdetektion gemäß der Erfindung, wie beispielsweise CE oder Extinktion, zeigt. Eine Modulvorrichtung der Erfindung würde dadurch abweichen, dass sie eine Kapillare mit Schnittstellenmitteln zum Einführen in eine Kapillare z. B. von Mikro LC oder in ein Massenspektrometer, umfasst.

Beispiel 1

[0124] Der experimentelle Aufbau ist in [Fig. 1](#) gezeigt. Die Ausgabe von einer 75 W Xenonlampe wird in eine einzelne Quarzglas-Glasfaser von 1 mm Durchmesser geschickt. Die Lichtausgabe von der Glasfaser wird geformt und kollimiert unter Verwendung von zylindrischen und sphärischen Quarzglaslinselementen ([Fig. 2](#)), um den rechteckigen Bereich auf dem CCD zu beleuchten. Der verwendete CCD Chip ist EEV CCD 30-11 und ist von einem System thermostatisch geregelt und gesteuert, das von York Electronics Centre entworfen und hergestellt ist; es weist 1024 mal 256 aktive Pixel auf, jedes 26 µm im Quadrat, mit einem aktiven Gesamtbereich von 6,7 mal 26,6 mm. Der CCD Chip weist einen Fiberglasansatz (Stirnplatte) auf, der die CCD Oberfläche schützt. Der Fiberglasansatz ist nicht UV transparent, so dass ein UV-Phosphor auf die Oberfläche des Ansatzes aufgebracht ist, um dem Detektor empfindlich für einen breiten Wellenlängenbereich von NIR bis unterhalb 200 nm zu machen. Die auf dem CCD akkumulierte Ladung wird in einer Serie von Schnappschüssen ausgelesen; um ein Verschmieren des Bildes zu verhindern, stellt ein Licht-Chopper bzw. eine Schwingblende sicher, dass das CCD nicht während der Ausleseperiode beleuchtet wird. Eine Expositionsrate von 5 Hz wird verwendet mit einem 50 % Arbeitszyklus (100 ms Exposition und 100 ms Auslesezeit). Ein Bild von 1024 × 256 Pixeln mit 14 Bit Digitalisierung wird von jedem Schnappschuss erhalten.

[0125] Eine ideale Anordnung der Kapillaren könnte sein, diese Parallel zur kurzen Achse des CCD bei einer Beabstandung von 260 µm (10 Pixel pro Kapillare) auszurichten. Diese Anordnung würde bis zu 102 Kapillaren erlauben, was ideal ist, um die Anzahl zu beherbergen, die verwendet wird, wenn von einer Standard 96 Wellplatte untersucht wird. Die Beabstandung bedeutet einen Spalt von 66 µm zwischen jeder Kapillare, dies würde es mehr Referenzlicht erlauben, das CCD zu erreichen, als in der gegenwärtigen Anordnung, bei der die Kapillaren dichter gepackt sind. Eine bessere Expositionsreferenzierung und eine niedrigere Kreuzkopplung sollten von dieser Anordnung resultieren.

Kapillarbeleuchtung

[0126] Im Demonstrationsexperiment wurden vier Quarzglaskapillaren (100 µm i.d., 194 µm o.d., 500 mm lang) Seite an Seite annähernd 200 µm oberhalb des CCD und parallel zur langen Achse des CCD wie in [Fig. 1](#) und [Fig. 3](#) gezeigt platziert. Der abgebildete Abschnitt der Kapillaren war ein Ausschnitt von 273,4 bis 300,0 mm vom Einlassende. [Fig. 4](#) zeigt einen Abschnitt von einem Schnappschuss, der von den vier Kapillaren, gefüllt mit Luft, Wasser und die letzten zwei mit einer Tintenlösung, aufgenommen wurde. Eine ausgezeichnete Referenzierung ist für die Anordnung ohne irgendwelche Linsen oder andere Optik zu sehen. Es kann von einem Vergleich zwischen Kapillaren 1 und 2 gesehen werden, dass das kollimierte Licht, das durch den Kapillarkern passiert, konvergent ist, wenn die Kapillare mit Wasser gefüllt ist, was eine Linie erzeugt, die heller als der Hintergrund ist. [Fig. 5](#) und [Fig. 6](#) zeigen im Detail, wie Licht durch die wasser- und luftgefüllten Kapillaren passiert; sie zeigen auch, dass im Fall der gefüllten Kapillare eine gute Trennung auf dem CCD zwischen dem Licht, das durch den Kapillarkern passiert, und das, das lediglich durch die Kapillarwände passiert, besteht. Dies wird in

[0127] [Fig. 4](#) bestätigt, wo ein hoher Kontrast zwischen den Bildern der wasser- und tintegefüllten Kapillaren beobachtet wird. Es ist wichtig, Kapillaren mit einem kleinen o.d. zu verwenden; [Fig. 7](#) zeigt, dass gute Ergebnisse erzielt werden würden unter Verwendung von Kapillaren mit demselben o.d. von 194 µm, wie hierin verwendet, jedoch mit dem häufiger verwendeten 75 µm i.d. Die 364 µm o.d. Kapillaren jedoch, die normalerweise in der Kapillarelektrophorese verwendet werden, wären nicht geeignet; [Fig. 8](#) zeigt, dass der größere Radius an der Luft/Quarzglas-Schnittstelle das Licht nicht adäquat fokussiert, das durch den Kapillarkern hindurchgetreten ist, um dieses vom Licht zu trennen, das lediglich durch die Kapillarwände hindurchgetreten ist. Während eines Experiments wurde das Bild vom gesamten CCD in den Computer für jede Exposition gelesen; für dieses Experiment enthielt ein Bereich von 32 × 1024 Pixeln das Bild der vier Kapillaren; der Rest wurde verworfen,

um Computerspeicher zu sparen. Die Daten wurden weiter reduziert durch Zusammenfügen der Pixelwerte in Gruppen von vier hinunter die Kapillarlänge, um insgesamt 32×256 effektive Pixel für jeden Schnappschuss zu ergeben; jedes effektive Pixel weist eine 16 Bit Auflösung und Dimensionen von $26 \times 104 \mu\text{m}$ auf.

Expositionsreferenzierung

[0128] Fluktuationen in den Expositionszeiten und in der Lichtquellenintensität, die über das Schrotrauschen hinausgehen, müssen berücksichtigt werden, um die bestmögliche Leistung vom Detektor zu erhalten. Dies wird gewöhnlich erreicht durch Verwenden einer Doppelstrahlanordnung, wo ein Teil des Lichts von der Quelle, der nicht durch die Probe hindurchtritt, überwacht und als eine Referenz verwendet wird. Das Verhältnis dieser Referenz und des Lichts, das durch die Probe hindurchtritt, wird verwendet, um die Extinktion zu berechnen. In diesem Experiment wird das Licht, das das CCD trifft, das nur durch die Kapillarwände hindurchgetreten ist, als die Referenz verwendet. Die Elektrophorese von 4-Nitrophenol in seiner ionischen Form wurde verwendet, um die Leistung des Detektionssystems zu untersuchen. Ein optischer Filter mit einer Mittelwellenlänge von 405 nm und einem Bandpass von 10 nm wurde bei der Eingabe in die Fiberoptik platziert, um mit der Extinktionswellenlänge von 4-Nitrophenol bei pH 7,5 übereinzustimmen (Extinktionskoeffizient, $\epsilon_{405} = 1700 \text{ m}^2 \text{ mol}^{-1}$). Um festzulegen, welche der Bildpixel als "Referenzpixel" zu verwenden waren, und welche als "Probenpixel" zu verwenden waren, wurden Schnappschüsse mit den Kapillaren, gefüllt mit Wasser, mit jenem mit den Kapillaren, enthaltend eine 1 mM Lösung von 4-Nitrophenol, verglichen. Die durchschnittliche Weglänge ist $\pi d/4 = 79 \mu\text{m}$; dies stimmt mit einer Extinktion von 0,13 AU für diese Lösung überein. Die Pixel, die eine Reduktion im Signal in der Anwesenheit der 4-Nitrophenollösung gezeigt hatten, die mit einer Extinktion von $< 0,02$ korrespondiert, wurden als Referenzpixel verwendet, jene mit $> 0,1$ wurden als Probenpixel verwendet.

Kapillarelektrophorese und Datenverarbeitung

[0129] Eine Serie von parallelen Kapillarelektrophoreseexperimenten wurde ausgeführt unter Verwendung eines pH 7,5 Natriumphosphatpuffers (15 mM Natrium) auf Verdünnungen von einer 4-Nitrophenollösung, hergestellt in Puffer. Injektionen wurden durchgeführt, die das Einlassende von allen Kapillaren in die Probenlösung einsetzen, die bei 2 cm oberhalb des Niveaus des Puffers im Auslassfläschchen für 15 s gehalten wurde. Das in jede Kapillare mittels Saugen injizierte Volumen sollte annähernd 16 nL sein. Eine Spannung von +5 kV wurde an das Einlassfläschchen angelegt und die Elektrophorese wurde durchgeführt; ein elektroosmotischer Fluss stellte sicher, dass sich der Analyt in Richtung der geerdeten Katode am Auslass bewegte. Die Schnappschussdaten wurden gesammelt im Computer-RAM während des Experiments und auf Platte am Ende eines Laufs gespeichert.

[0130] Die während eines Experiments gesammelten Rohdaten wurden zuerst auf feste periodische Störungen korrigiert, wie im Detail beschrieben in "A charge coupled device array detector for single-wavelength and multi-wavelength ultraviolet absorbance in capillary electrophoresis", Bergstrom und Goodall, Pokric und Allison, Anal. Chem. 1999, 71, 4376-4384, und dann verarbeitet, um einen Satz von Elektropherogrammen, eines für jede Kapillare, zu erzeugen. Dies stellt sicher, dass eine hohe räumliche Auflösung aufrechterhalten wird, beschränkt lediglich durch die Dimensionen der verwendeten effektiven Pixel, $106 \mu\text{m}$ in diesem Fall.

[0131] [Fig. 9](#) zeigt die vier Elektropherogramme, die unter Verwendung einer Probenlösung von $100 \mu\text{M}$ erhalten wurden. Es ist klar von den Senken in der Grundlinie bei Zeiten, die mit Peaks in benachbarten Kapillaren korrespondieren, dass dort eine Kreuzkopplung zwischen den Kapillaren vorliegt. Dies wird hauptsächlich durch etwas Licht verursacht, das durch die Probe passiert, die als Teil der Referenz verwendet wird, und zu einem niedrigeren Ausmaß gibt es etwas Licht, das nach dem Hindurchtreten durch die Probe in einer Kapillare auf einem Probenpixel einer benachbarten Kapillare landet. Das Ausmaß von beiden dieser Effekte wurde gemessen durch Füllen jeder Kapillare wiederum mit der Probenlösung. Es wurde angenommen, dass der Grad der Kreuzkopplung linear mit der Extinktion wiegt, und die Korrektur, basierend auf der Messung bei dieser einzelnen Probenkonzentration, wurde bei allen nachfolgenden Experimenten angewendet. Die ungefähre Korrektur wird leicht wie in [Fig. 10](#) dargestellt durchgeführt.

Rauschleistung

[0132] [Fig. 11](#) zeigt die vier Elektropherogramme, die durch Injektion einer Lösung von $1 \mu\text{M}$ 4-Nitrophenol erhalten wurden. Die Peakhöhen in [Fig. 11](#) korrespondieren mit einer Konzentration von $\sim 0,6 \mu\text{M}$, die Grenze der Detektion wird berechnet auf $0,22 \mu\text{M}$, basierend auf 3 mal das RMS-Grundlinienrauschen von $0,4 \mu\text{AU}$ (1 s Anstiegszeit). Das theoretisch schrotrauschbegrenzte Grundlinienrauschniveau wurde berechnet durch Erzeugen von simulierten Datensätzen basierend auf den Durchschnittsexpositionsmustern und Niveaus, die in

dem Experiment gefunden wurden und unter der Annahme einer Pixelvollwellkapazität von 5×10^5 Elektronen. Diese erzeugten Schnappschussdatensätze wurden identisch mit den experimentellen Datensätzen verarbeitet; für das RMS-Schrotrauschniveau wurde gefunden, dass es $9,0 \mu\text{AU}$ ist. Dies ist sehr nahe beim beobachteten Wert und zeigt an, dass der Detektor schrotrauschbegrenzt ist.

[0133] Das in diesem Experiment verwendete CCD ist groß genug, um über 30 Kapillaren zu beherbergen, die wie die vier hier verwendeten ausgerichtet sind. Die Sensitivität der Detektion von jeder dieser Kapillaren wäre dieselbe, wie in dieser Studie gefunden (d. h. $\sim 9 \mu\text{AU}$ RMS-Rauschen mit einer Anstiegszeit von 1 s). Alternativ könnten über 120 Kapillaren beherbergt werden, wenn diese parallel zur kurzen Dimension des CCD ausgerichtet würden; dies würde in eine Reduktion in der Signalintegrationszeit für jede Kapillare um einen Faktor 4 resultieren und deshalb in einem Anstieg des Rauschniveaus um einen Faktor Wurzel 4 = 2. Die Kapillarelektrophorese mit Arrays von Kapillaren weist offensichtlich eine Anwendung für die Hochdurchsatzanalyse auf, da die Anzahl von Trennungen, die simultan ausgeführt werden können, mit der Größe des Arrays zusammenhängt. Wenn jedoch dieselbe Probe simultan in alle Kapillaren im Array injiziert wird, wie dies in diesem Experiment gemacht wurde, ist dies ein Mittel zum Erhöhen der Probenbeladung und deshalb des dynamischen Bereichs und der Konzentrationssensitivität. Wenn alle Elektropherogramme kombiniert werden, durch Nehmen des arithmetischen Mittels nach Kompensation der geringen Unterschiede in den Analytgeschwindigkeiten zwischen den Kapillaren, dann wird eine Erhöhung im Signal-zu-Rauschverhältnis von Wurzel N erzielt, wobei N die Anzahl der Kapillaren ist. Das Aufsplitten einer großen Probenbeladung in viele Kapillaren reduziert die Probleme, die mit dem Überladen verbunden sind, welche eine schlechte Peakform beinhalten, induziert durch Elektromigrationsdispersion und große Injektionslängen, sowie eine nichtlineare Detektorantwort bei hohen Extinktionen von hochergiebigen Komponenten. [Fig. 12](#) zeigt das Ergebnis der Mittelung der vier Elektropherogramme von [Fig. 11](#). Das RMS-Basislinienrauschniveau ist $4,7 \mu\text{AU}$, eine Reduktion um einen Faktor 2 bezüglich der individuellen Verfolgungen, dies ist die für vier Kapillaren erwartete Verbesserung.

[0134] Die Rauschleistung, gemessen durch Kombinieren des Signals von vier Kapillaren, befindet sich immer noch am Schrotrauschlimit und ist besser als die Leistung, die zuvor in Bergström et. al. oben erzielt wurde, wo vorgeschlagen wurde, dass Fluktuationen in der räumlichen Distribution der Lampenentladung, die auf der Fiberglasbündeleingabe abgebildet wird, in Fluktuationen in der räumlichen Trennung der CCD Beleuchtung resultieren würde. Dies würde in einem Rauschniveau resultieren, das über das Schrotrauschen hinausgeht, da separate Bereiche auf dem CCD das Signal und Referenzniveau überwachen. Die Verwendung einer einzelnen optischen Faser statt des Faserbündels, das zuvor verwendet wurde, sollte zu einem großen Teil beliebige räumliche Inhomogenitäten in der Lampenentladung verwürfeln. Das Bruchskalieren des Experiments auf 30 parallele Kapillaren sollte ein kombiniertes RMS Grundlinienrauschniveau von $1,7 \mu\text{AU}$ ergeben, korrespondierend zu einer 4-Nitrophenolkonzentration LOD von 40 nM auf der Säule.

[0135] Wenn die Analytkonzentration niedrig relativ zur Konzentration des Hintergrundelektrolyten ist, dann sollten es nur die Länge des Injektionsstopfens und die Analytdiffusion sein, die signifikant zur gemessenen Peakbreite beitragen, unter der Annahme, dass die räumliche Auflösung des Detektors hoch ist. Die Peakvarianz, verursacht durch Analytdiffusion, kann berechnet werden, $\sigma^2 = 2Dt = 1,2 \times 10^{-6} \text{ m}^2$, wobei D der Diffusionskoeffizient ist ($8,1 \times 10^{-1} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ für 4-Nitrophenol) und t die Zeit ist. Der Beitrag Peakvarianz von der Länge des Stopfens der injizierten Probe ist gegeben durch $l_i^2/12 = 0,4 \times 10^{-6} \text{ m}^2$ (wobei l_i die Injektionslänge von 2,0 mm ist). Diese zwei Beiträge ergeben eine Gesamtstandardabweichung, σ , von 1,3 mm; geteilt durch die Analytgeschwindigkeit ergibt $\sigma = 3,2 \text{ s}$ in Zeiteinheiten. Dies stimmt gut mit einer Standardabweichung von 3,1 s überein, gemessen durch Passen einer Gaussfunktion bezüglich des Peaks in [Fig. 12](#). Dies ist der experimentelle Beweis, dass das Detektionsverfahren der Bildgebung eines 26,6 mm Kapillarabschnitts und der anschließenden Kombination von parallelen Elektropherogrammen nicht die Trenneffizienz verschlechtert.

Beispiel 2

Tabelle 1. Tabelle, die für ein Gefäß mit kreisförmigen Außen- und Innenquerschnitten die Minimalwerte des Verhältnisses des Abstands d der Außenwand vom Detektor sowie den Außendurchmesser des Gefäßes o.d. (d/o.d.) zeigt, um eine räumliche Trennung zwischen den Kern- und Wandstrahlen zu erzielen. Werte sind als eine Funktion des Verhältnisses des Innen- und Außendurchmessers des Gefäßes (i.d./o.d.) für einen Bereich von Lösungsmitteln und Gefäßmaterialien gezeigt. Einträge x zeigen an, dass keine räumliche Trennung möglich ist.

	i.d./o.d. 0,20	i.d./o.d. 0,25	i.d./o.d. 0,33	i.d./o.d. 0,50
Wasser/Silika	x	2,0	1,0	0,5
Hexan/Silika	1,6	1,0	0,6	0,4
Dichlormethan/Silika	0,6	0,5	0,4	0,2
Wasser/Polycarbonat	x	x	2,1	0,5
Wasser/Flexibles klares Rohrmaterial (Tygon Chemfluor 367)	0,5	0,5	0,5	0,4

[0136] Werte der Brechungsindizes, die in der Strahlverfolgungsanalyse verwendet werden, sind: Silika (1,458), Wasser (1,333), Hexan (1,375), Dichlormethan (1,424), Polycarbonat (1,585), Tygon Chemfluor 367 (1,34). Andere übliche Umkehrphasen-HPLC-Lösungsmittel, häufig verwendet in Beimischung von Wasser, sind Methanol (1,329) und Acetonitril (1,344): diese und ihre Mischungen werden ähnliche Werte von d/o.d. zu Wasser für die verschiedenen Gefäßtypen ergeben. Hexan kann mit zwei anderen üblichen Normalfasern-HPLC-Lösungsmitteln von vergleichbarem Brechungsindex, 2-Propanol (1,378) und Ethylacetat (1,372), zusammengenommen werden. Das ein Instruieren dieser Tabelle verwendete Verfahren ist auch effektiv für die Bestimmung von Werten für andere Lösungsmittel wie beispielsweise DMSO (1,479). Von der Tabelle kann für eine Kapillare mit bekanntem o.d. der benötigte i.d. bestimmt werden von einer der Möglichkeiten, um einen Wert von d/o.d. und damit einen Wert von d zu ergeben, wie in der Beschreibung beschrieben.

Beispiel 3 – Rückmeldungssteuerung

[0137] Ein Beispiel der Rückmeldungssteuerung ist die Verwendung in einem CE-Experiment zum Stoppen der Probe im Detektionsfenster, durch Ausschalten der Spannung, wenn detektiert wird, dass sie zum Zentrum des Fensters migriert ist (siehe [Fig. 13](#)). Nach dem Stoppen wird die anschließende Verbreiterung des Probenpeaks aufgrund von Diffusion als eine Funktion der Zeit überwacht. Eine Analyse der Veränderung in der Peakvarianz mit der Zeit ermöglicht es, dass der Diffusionskoeffizient bestimmt wird. Der hydrodynamische Radius des Probenmoleküls kann dann unter Verwendung des Stokeschen Gesetzes berechnet werden. Eine Kombination des Diffusionskoeffizienten mit der Mobilität, erhalten von der Zeit, die benötigt war, um das Fenster unter einer gegebenen Feldstärke zu erreichen, ermöglicht es, dass die Ladung auf dem Analyten abgeleitet wird. Jede beliebige Startpeakform ist akzeptabel, da eine Faltung des Peaks nach Gauss es ermöglicht, dass die gaussische Komponente der Peakverbreiterung extrahiert wird. Während die Probe eine Peakverbreiterung zeigt gemessen über eine Dauer von 30 Minuten, ist die Datenqualität derart, dass die Diffusionskoeffizienten mit guter Präzision in weniger als 3 Minuten gemessen werden könnten.

[0138] Ein schematisches Beispiel der Regelung ist in [Fig. 14](#) gegeben. Hier wird die Aussage von einem LC-System während einem ersten Passieren des Bereichsdetektors überwacht. Eine Peakerkennungs- und Entscheidungssoftware wird verwendet, um das Schaltventil zu instruieren, die geeignete Fraktion für die Sammlung oder beispielsweise zu einer Massenspektrometerschnittstelle zu dirigieren. Nach dem geeigneten Schalten wird das Eluens wiederum in einem zweiten Passieren des Detektors überwacht, so dass die Effizienz des Schaltverfahrens überwacht werden kann. Eine Alternative ist es, über mehrere Ausgaben des Schaltventils, die dem Detektor für eine Visualisierung passieren, zu verfügen.

Beispiel 4 – Anwendungen

[0139] Das Detektionsverfahren der Erfindung wird verwendet beim Messen der Brechungsindexänderung.

Durch Analyse des Beleuchtungsmusters des Kernstrahls bei einer hohen räumlichen Auflösung rechtwinklig zur Kapillarachse weist der Detektor die Fähigkeit auf, die Brechungsindexänderung im Lösungsmittel in der Kapillare zu überwachen. [Fig. 15](#) zeigt für eine 75 µm i.d., 194 mm o.d. Kapillare, positioniert 260 µm von der Detektoroberfläche, die Änderung im Profil des Kernstrahls beim Verändern von Wasser (Brechungsindex 1,333) zu Acetonitril (Brechungsindex 1,344). Mit einer Pixelgröße von 10 µm würde dies eine Unterscheidung zwischen den zwei Beleuchtungsprofilen erlauben, und durch Ausdehnen, die Möglichkeit, direkt die mobile Phasenzusammensetzung während einer stufenweisen Eluentstrennung in Wasser-Acetonitrilmischungen zu überwachen. Sofern notwendig könnte eine Vergrößerung in der Richtung rechtwinklig zur Kapillarachse verwendet werden, um die Auflösung bezüglich der mobilen Phasenzusammensetzung zu erhöhen. Dies wäre von Vorteil in HPLC. Da Acetonitril bei 44 °C denselben Brechungsindex aufweist wie Wasser bei 20 °C, könnte eine Anwendung eines Wärmepulses, der einen 25 °C Temperaturanstiegsstrom des Detektors bereitstellt, verwendet werden, um die mobile Phasengeschwindigkeit in Kapillar-HPLC zu bestimmen.

[0140] Eine weitere Verwendung von Multikapillarextinktionsdetektion dient für die schnelle Messung des pK_a . Hier werden Aliquote der Probenlösung in einen Satz von Pufferlösungen gemischt, die einen Bereich von pH-Werten abdecken, der sich typischerweise über den Bereich 2 bis 12 erstreckt, und alle Mischungen werden dann in separate Kapillaren in der Reihenfolge Puffer dann Mischung des Puffers plus Probe aufgezogen. Durch Nehmen von Messungen bei einer oder mehreren Wellenlängen, wo Säure- und Basenformen eine unterschiedliche Extinktion aufweisen, können Ergebnisse von allen Kapillaren bezüglich der Extinktion als eine Funktion des pH verarbeitet werden, um die pK_a -Werte zu bestimmen. Unter Verwendung von geeigneten nicht- oder schwachabsorbierenden anorganischen Puffern ist dies für organische oder biologische Verbindungen anwendbar, die alle übliche titrierbare funktionelle Gruppen enthalten, einschließlich Carboxyl- und Amingruppen, sowie bei Konzentrationen hinab bis 100 Mikromolar. Dies ist von Vorteil in beispielsweise der pharmazeutischen Industrie und für Hochdurchsatzscreening.

Patentansprüche

1. Optische Anordnung aufweisend eine Lichtquelle, mindestens ein Probengefäß und einen Detektor, wobei das mindestens eine Probengefäß in einem Lichtweg oder -wegen, die zwischen der Quelle und dem Detektor erzeugt werden in einer Weise positioniert ist, dass die Transmission von Licht durch das Gefäß ermöglicht wird, wobei die Lichtquelle geeignet ist, einen Strahl von im wesentlichen kollimiertem Licht bereitzustellen, wobei der Detektor eine Vielzahl von Detektororten aufweist und das Gefäß eine Wand und einen Kern von relativer Form und Abmessungen aufweist, die geeignet sind, eine Probe zur Detektion zu beinhalten und mindestens zwei räumlich getrennte Wege für transmittiertes Licht festlegen, einen ersten Wandweg, der nur in die Gefäßwände eintritt und diese verlässt, räumlich getrennt von einem zweiten Kernweg, der in die Gefäßwände und zusätzlich in den Gefäßkern eintritt und diese verlässt, wobei die räumlich getrennten Wand- und Kernwege auf individuelle Detektororte auf dem Detektor gekoppelt werden und wobei der Detektor ein Arraydetektor ist.

2. Optische Anordnung nach Anspruch 1, wobei die Anordnung einen zentralen Kernweg und zwei periphere Wandwege auf dessen beiden Seiten oder einen ringförmigen Wandweg darum herum festlegt.

3. Optische Anordnung nach einem der Ansprüche 1 und 2, wobei Kern- und Wandwegstrahlen auf dem Arraydetektor räumlich nahe, bevorzugt angrenzend, sind, was das direkte Referenzieren als das Verhältnis des Kernstrahls zum Wandstrahl ermöglicht.

4. Optische Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die Lichtquelle mindestens eine Wellenlänge von Licht aufweist, das von einer oder mehreren absorbierenden Bestandteile absorbiert wird, die in der Probe zur Detektion, deren Absorptionsvermögen detektiert werden soll, enthalten sind.

5. Optische Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei Licht eine Wellenlänge im Bereich von 160 bis 1200 nm, vorzugsweise 180 oder 190 bis 1200 nm hat, was UV, UV-sichtbar bis Nahinfrarot entspricht.

6. Optische Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei das mindestens eine Probengefäß in der Vorrichtung der Erfindung eine Zelle oder einen Kanal aufweist, die/der offene Enden und eine offene Grund- und Deckfläche hat und für dynamische Probendetektion vorgesehen ist.

7. Optische Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei das Probengefäß eine einzelne Zelle oder eine Vielzahl von Zellen in einem Array ist; oder eine einzelne Kapillare oder eine einer Vielzahl von Kapillaren in einem Mikrokapillar-Array oder einem mikrofabrizierten Kanalarray ist.

8. Optische Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei das Gefäß einen inneren Durchmesser im Bereich von 3 μm bis 20 mm, einen äußeren Durchmesser o.d. im Bereich von 4 μm bis 30 mm und einen Brechungsindex im Bereich von 1,3 – <1,6 hat; der Brechungsindex der Probe im Bereich von 1,3 bis über 1,5, das Verhältnis der Entfernung von der äußeren Wand zum Detektor d zu o.d. ist 0,5 bis 10 und d ist im Bereich von 20 μm bis 300 mm.

9. Optische Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei der Arraydetektor eine Festkörper-Messanordnung aufweist, vorzugsweise ein CCD, CID oder ein CMOS APS.

10. Optische Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, wobei der Arraydetektor ein CCD, CID oder CMOS APS aufweist, das ein Oberflächenelement beinhaltet, das eine Beschichtung aufweist, die einfallendes Licht absorbiert und bei einer unterschiedlichen Wellenlänge wieder emittiert, um UV in sichtbares Licht zu konvertieren, um Detektion durch das CCD zu ermöglichen, wobei die Beschichtung direkt auf das Oberflächenelement oder auf ein Deckglas, das zwischen dem Oberflächenelement und dem Gefäß angeordnet ist, aufgebracht wird, um ein Wiederbeschichten bei Bedarf zu ermöglichen, indem das Deckglas ersetzt wird, ohne dass das Oberflächenelement ersetzt werden muss.

11. Optische Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 10, die Mittel zur Echtzeit-Signalverarbeitung für bestmögliche Erkennung und Parametrisierung/Charakterisierung des Höchstwertes und Mittel zur automatischen Systemverwaltung einschließlich Rückkopplungssteuerung der Vorrichtung und des Systems aufweist.

12. Optische Anordnung nach Anspruch 11, in der Rückkopplungs-Steuermittel Mittel zum Anhalten oder Verlangsamen des Flusses im Anschluss an anfängliche Beobachtung im Detektionsmittel beinhalten, um der Probe zu erlauben, im Detektorfenster zu bleiben und längere Zeiten für Datenerfassung und verbessertes Signal-zu-Rauschen zu geben oder das Sammeln von Fraktionen zu ermöglichen, oder eine Fraktion zu einem Analysemittel zu leiten.

13. Optische Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 12, die
(i) ein Modul zur Verwendung mit einer Säulen- oder einer Kapillartrennvorrichtung, wie aus dem Stand der Technik bekannt, ist, wobei das Gefäß eine Kapillare oder Säule ist, aufweisend Anschlussmittel an einem Ende zum Einsetzen in den Auslass einer Säulen- oder einer Kapillartrennvorrichtung oder entlang deren Länge, wobei die Kapillare oder Säule optional Anschlussmittel aufweist, die das Einsetzen in den Einlass eines Analysemittels an dem anderen Ende ermöglichen; oder
(ii) eine anklemmbare Vorrichtung ist, aufweisend Mittel zum Anordnen um einen Abschnitt einer Kapillar- oder Säulentrennvorrichtung, die einen geeigneten i.d., o.d. und Brechungsindex wie zuvor definiert hat und von jeder Oberflächenbeschichtung befreit ist, um die Anwendung des Verfahrens der Erfindung zu ermöglichen, wodurch die befreite Kapillare oder Säule das Probengefäß der Anordnung bereitstellt.

14. Optische Anordnung wie zuvor definiert in einem der Ansprüche 1 bis 13 für die Verwendung in pharmazeutischen, biomedizinischen und biowissenschaftlichen, agrochemischen, tiermedizinischen und materialwissenschaftlichen Bereichen, zur Detektion, Analyse, Charakterisierung und Quantifizierung von Proben, die in einem Gefäß enthalten sind, und optional zum weiteren Sammeln getrennter Komponenten daraus.

15. Vorrichtung zur chemischen Reaktion oder Synthese und Analyse oder zur Trennung oder zum Transport von Proben, wobei die Vorrichtung die optische Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 14 wie zuvor definiert aufweist, in der das chemische Reaktionsgefäß selbst zylindrisch ist und die Reaktion im Chargenflussmodus als Funktion der Zeit beobachtet wird und Rückkopplungssteuerung verwendet wird, um die Reaktion anzuhalten oder in der das Reaktionsgefäß röhrenförmig ist und im kontinuierlichen Flussmodus verwendet wird.

16. Verfahren zur Detektion von Licht, das durch mindestens eine Probe transmittiert wurde, die im Kern von mindestens einem Probengefäß einer optischen Anordnung wie zuvor definiert in einem der Ansprüche 1 bis 14 enthalten ist, aufweisend Beleuchten des Gefäßes mit einer im Wesentlichen kollimierten Lichtquelle oder -quellen und Detektieren des transmittierten Lichtes in einem Arraydetektor, wobei transmittiertes Licht in mindestens zwei Lichtwege räumlich getrennt wird, einen Wandweg, der nur die Gefäßwände durchdrungen hat, räumlich getrennt von einem Kernweg, der die Wände und den Kern durchdrungen hat, wobei die räumlich getrennten Lichtstrahlen auf individuelle Detektororte auf dem Arraydetektor gekoppelt werden.

17. Verfahren nach Anspruch 16, wobei eine Probe einen oder eine Vielzahl von Analyten beinhaltet, deren Detektion im Laufe einer chemischen Reaktion, die einen Bestandteil als Analyt erzeugt oder verbraucht, er-

wünscht ist

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 16 bis 17, das zusätzlich aufweist Auswählen einer Probe zur Analyse, Bestimmen individueller Wellenlängen, bei welchen die Absorption durch die gewünschten Probenkomponenten am stärksten ist, Überprüfen des Brechungsindex der Probe, um ein geeignetes Probengefäß auszuwählen, das, wenn es die Probe enthält und wenn es beleuchtet wird, räumlich getrennte Strahlen wie zuvor definiert erzeugen wird, oder Auswählen einer geeigneten Kombination von optischen Komponenten und Filtern und eines geeigneten Gefäßes, um eine Arraytrennung zu detektieren, um räumlich getrennte Strahlen auf unabhängige Orte auf dem Detektorarray zu koppeln.

19. Verfahren nach einem der Ansprüche 16 bis 18, in dem die Probe in das mindestens eine Probengefäß durch Injektion, Schleifeninjektion, Pipette, hydrostatische oder elektrokinetische Injektion eingebracht wird und aus dem Gefäß durch Injektion, Elektrospray oder Anschluss zum Verwerfen oder an ein weiteres Gefäß zum Aufbewahren oder an ein flussabwärts angeordnetes Identifizierungsmittel entfernt wird.

20. Verfahren nach einem der Ansprüche 16 bis 19, das aufweist Referenzieren des detektierten Lichtes durch das Detektionsmittel mittels Belichtungsreferenzierung, wobei das Verhältnis der Kernstrahlintensität zur Wandstrahlintensität einen Wert für die Probenintensität an jedem Ort ergibt unter Elimination von Überschuss- oder Funkelrauschen aufgrund von Fluktuationen der Lichtquelle.

Es folgen 17 Blatt Zeichnungen

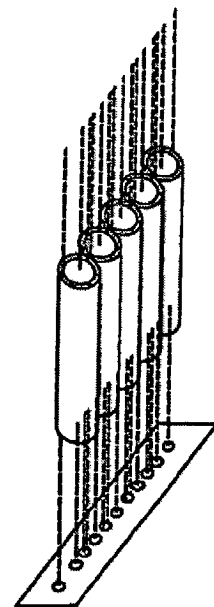
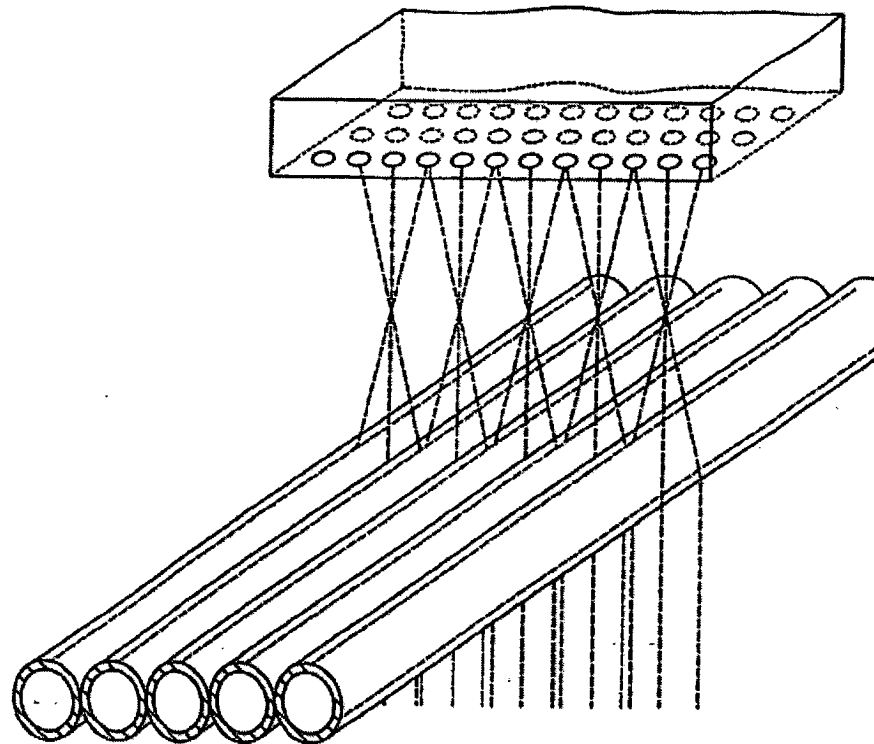


Fig. A

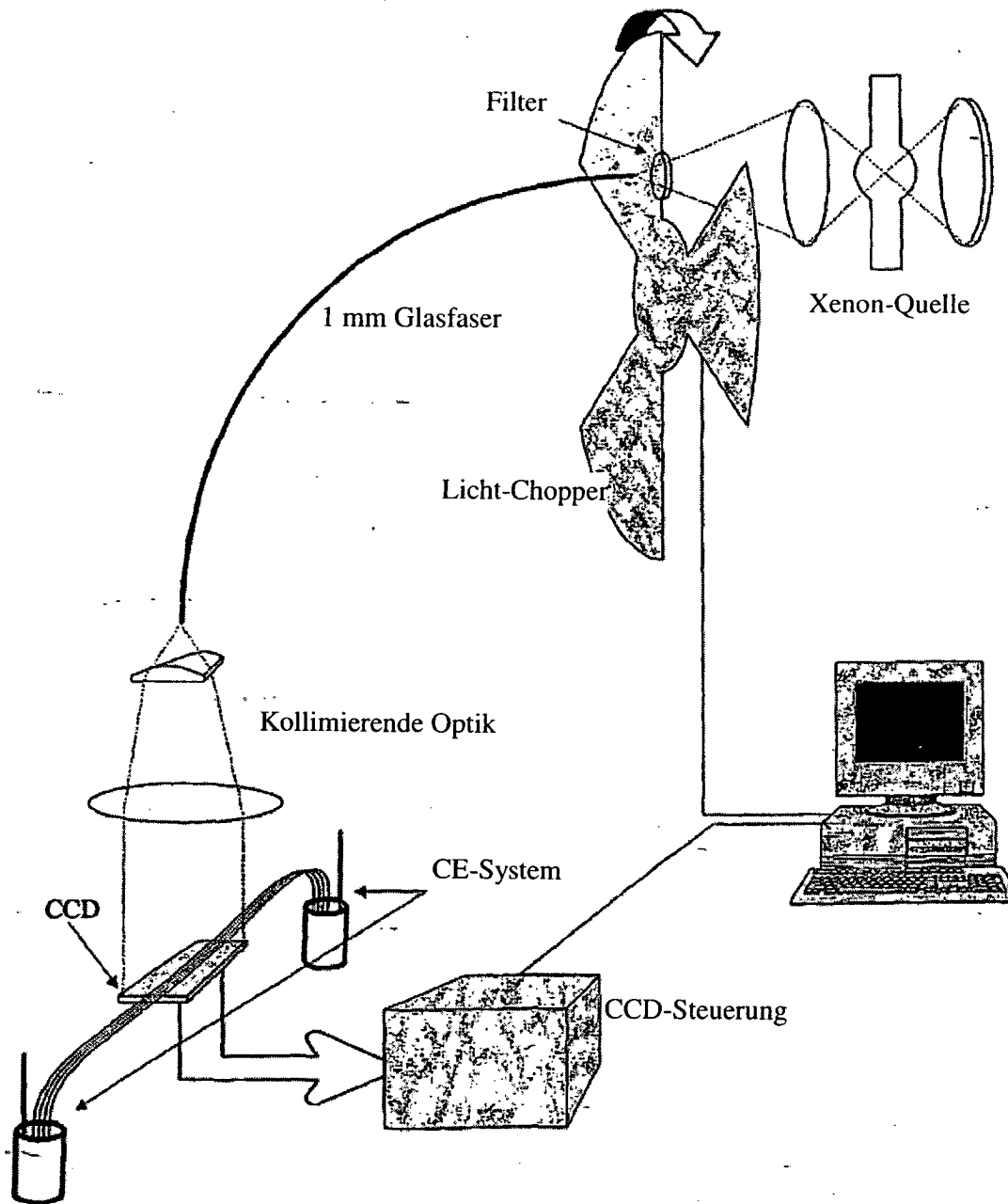


Fig. 1. Schematisches Diagramm der experimentellen Vorrichtung für Parallelkapillar-extinktionsdetektion

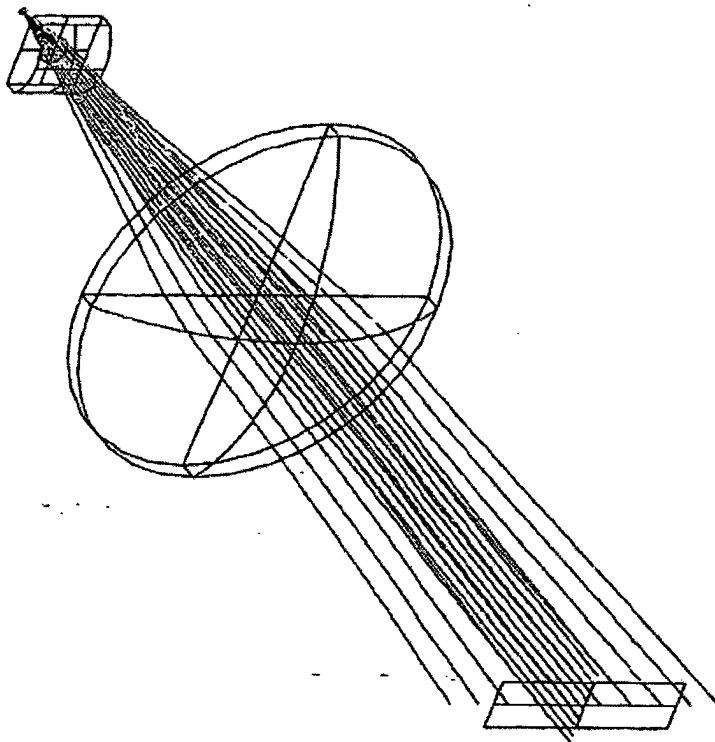


Fig. 2. Kollimierte Beleuchtung eines rechteckigen CCD-Bereichs (26,6 x 6,7 mm) mittels einer Lichtausgabe von einer Quarzglas-Glasfaser von 1 mm Durchmesser (N. A. = 0,22) mittels eines zylindrischen und sphärischen Quarzglaslinsenelements

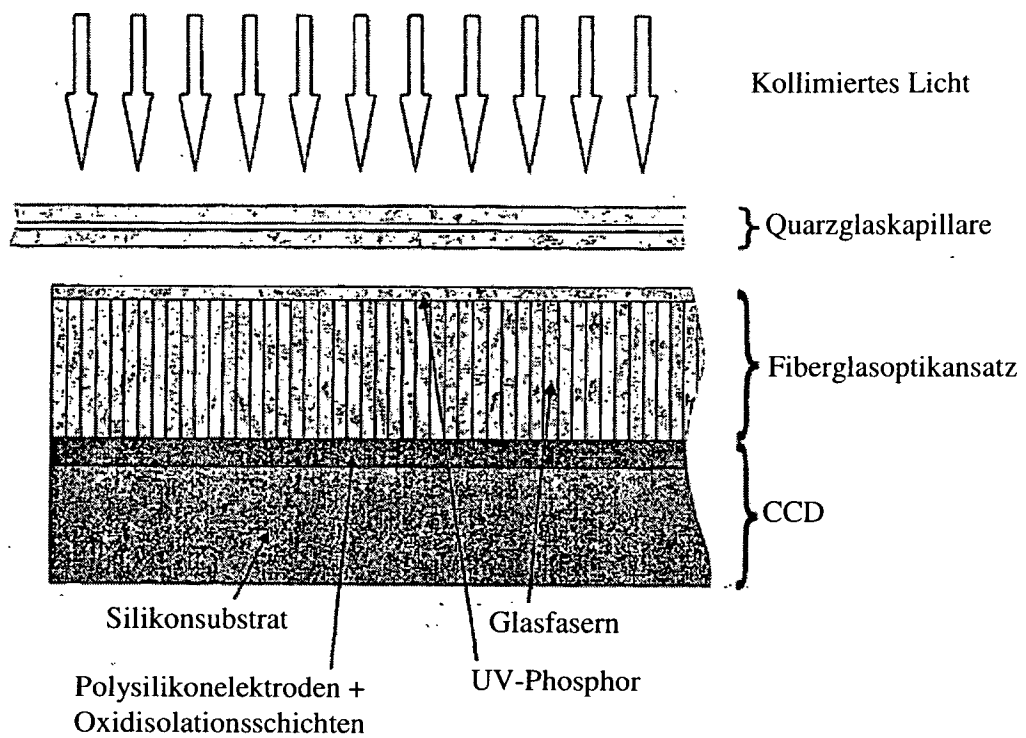


Fig. 3. Detail eines CCD mit Fiberoptikansatz und Abbildung der Kapillaren



Fig. 4. Teil eines CCD-Schnappschusses, zeigend ~3 mm von 4 Kapillaren (100 μm i.d., 194 μm o.d.); der gesamte abgebildete Bereich ist 6,7 x 26,6 mm. Die Inhalte der Kapillaren sind 1. Luft, 2. Wasser, 3. und 4. Tintenlösung

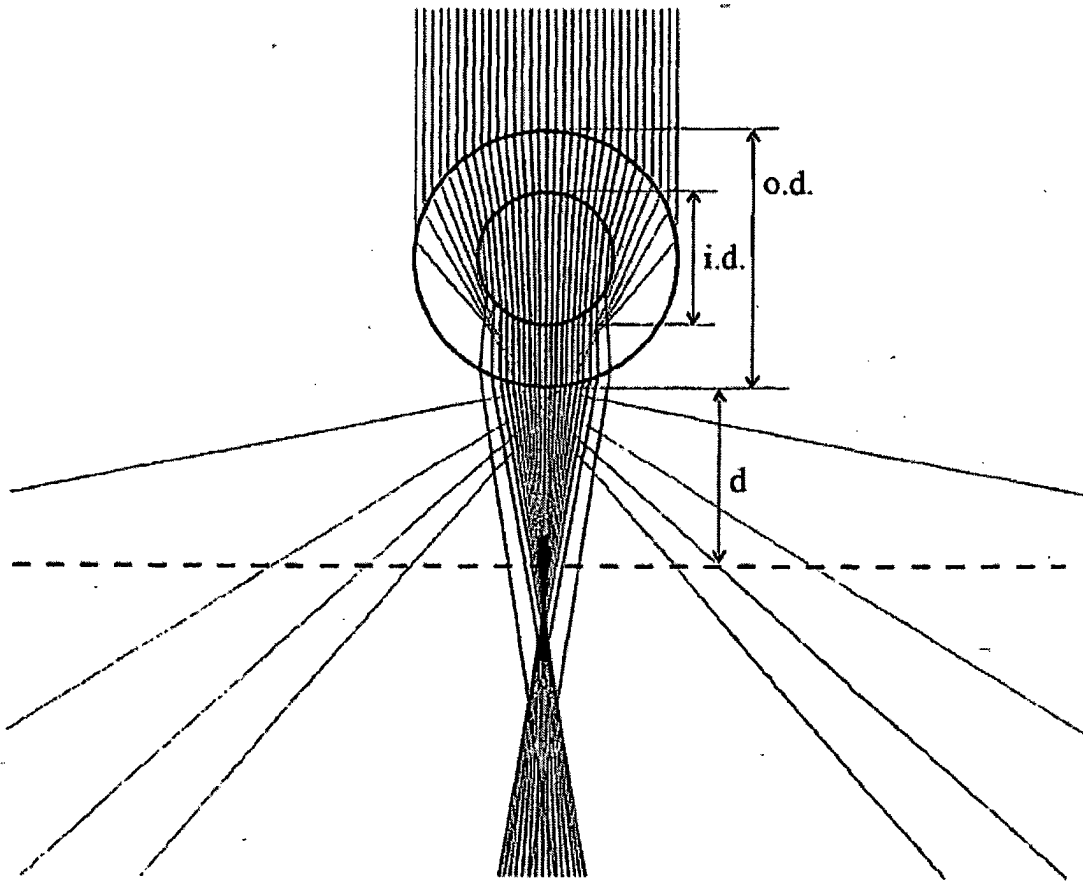


Fig. 5. Wassergefüllte Kapillare 100 μm i.d., 194 μm o.d..

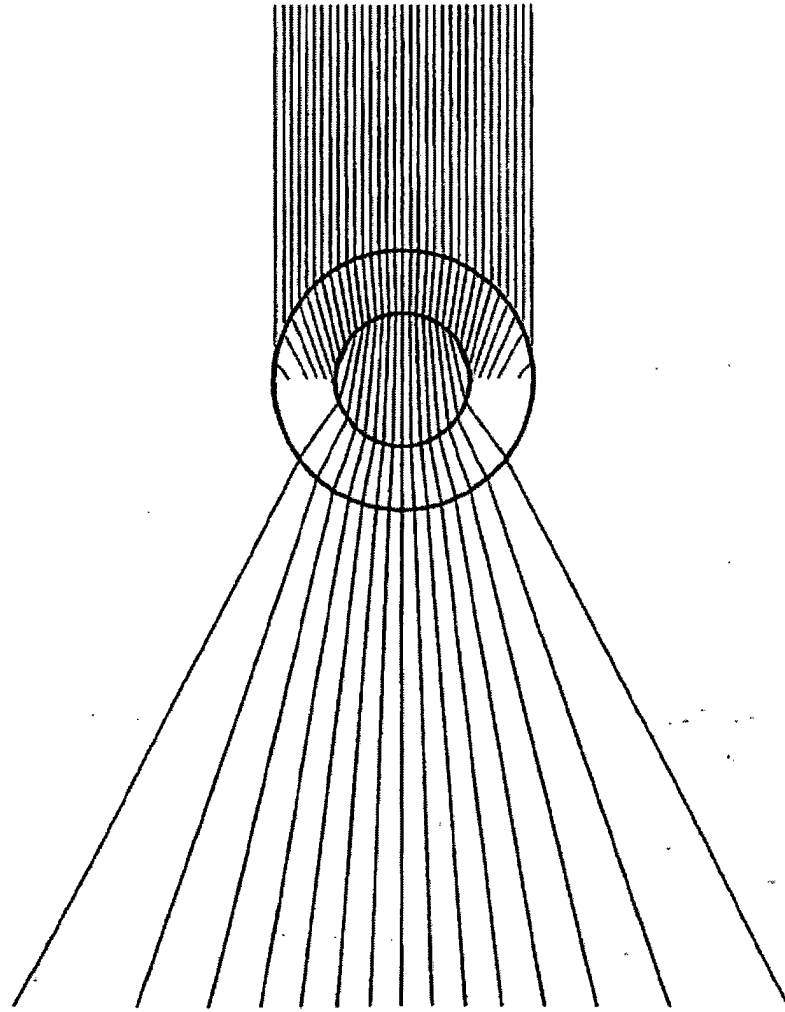


Fig. 6. Luftgefüllte Kapillare 100 μm i.d., 194 μm o.d..

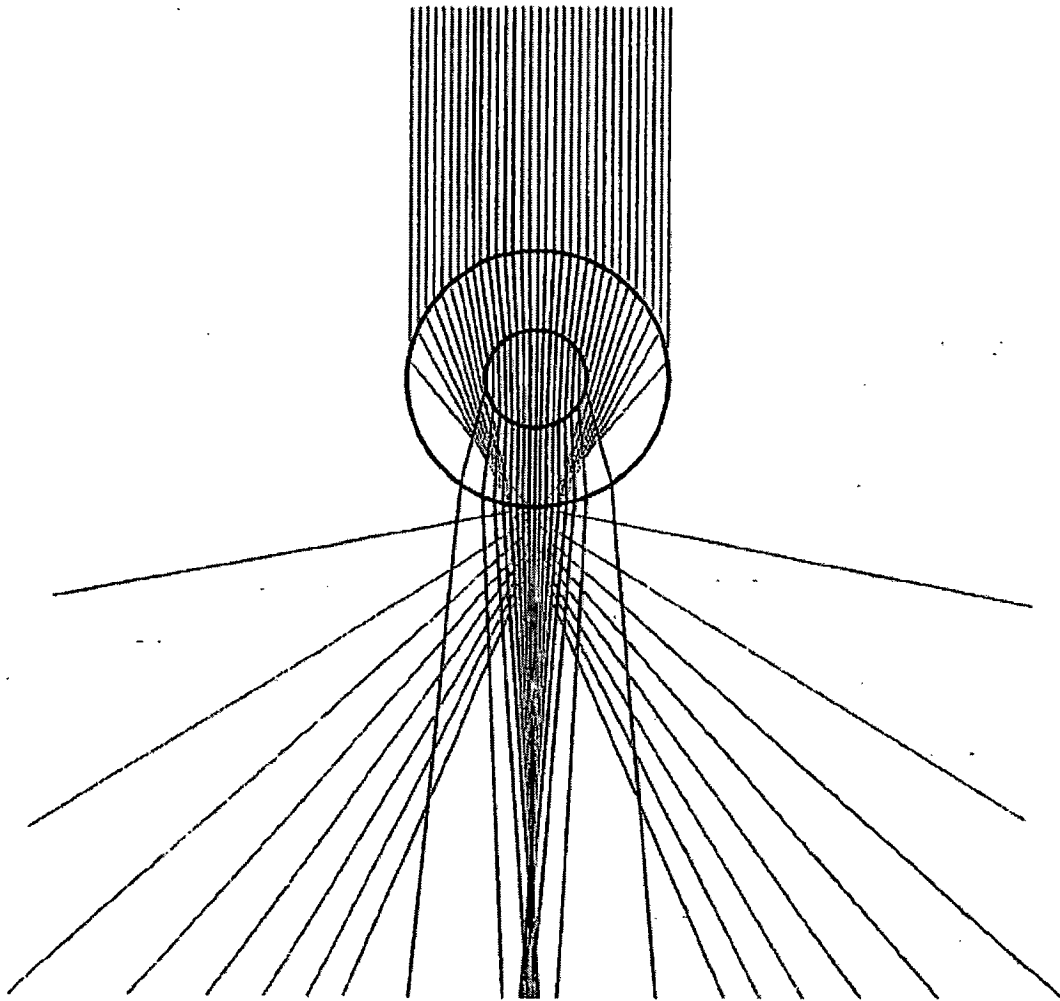


Fig. 7. Wassergefüllte Kapillare 75 μm i.d., 194 μm o.d..

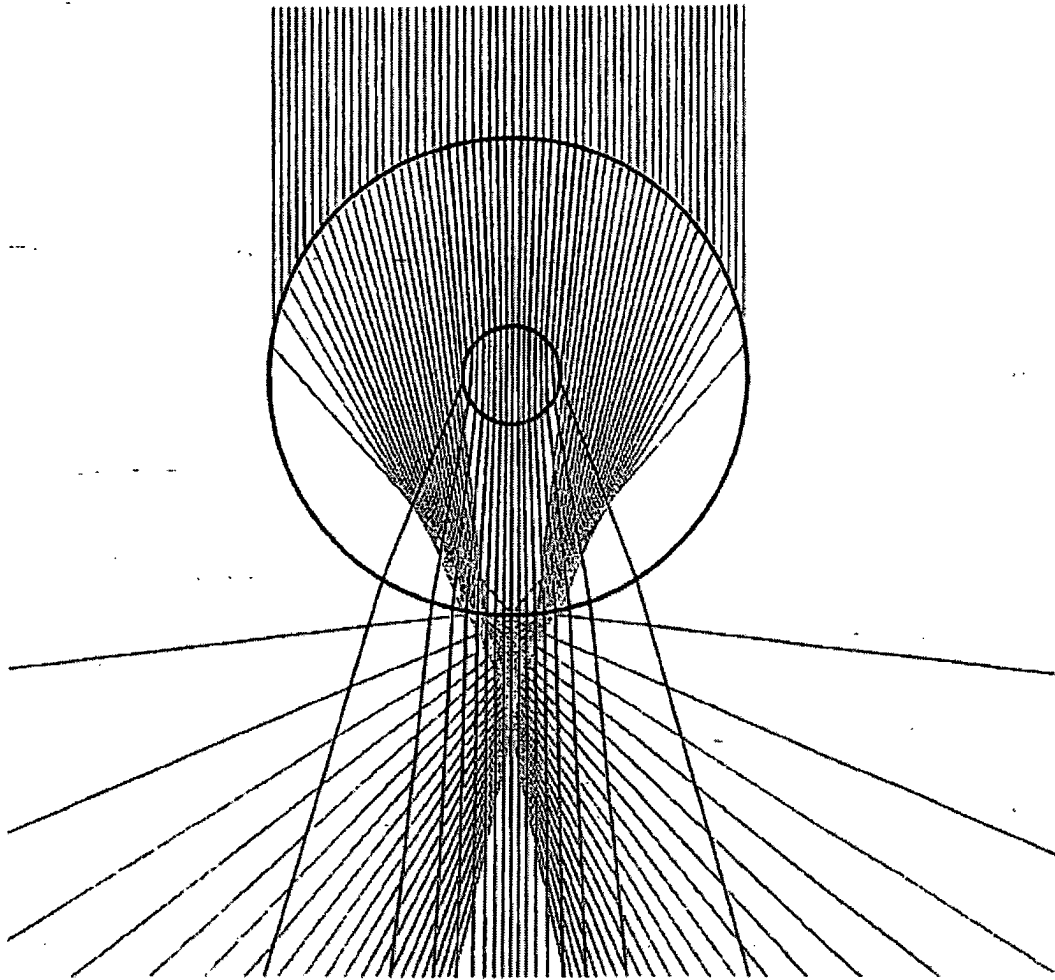


Fig. 8. Wassergefüllte Kapillare 75 μm i.d., 364 μm o.d..

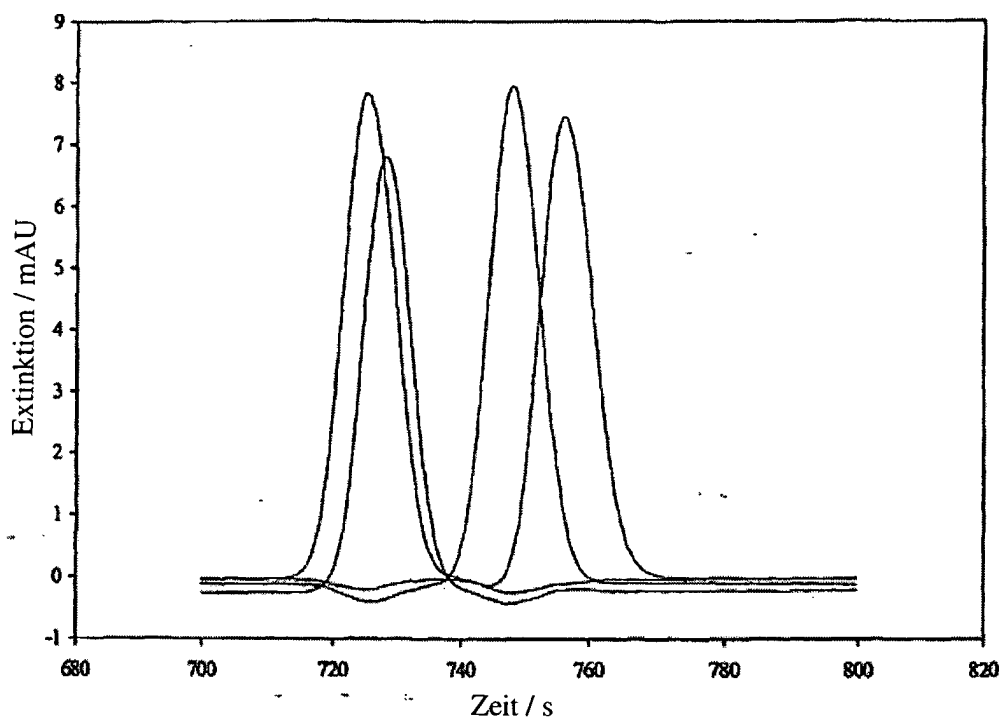


Fig. 9. Elektropherogramme von ~16 nL 100 μ M p-Nitrophenol, eingebracht in jede von vier parallelen 100 μ m i.d. Kapillaren. Kapillarlänge: 500 mm insgesamt, 300 zum Detektor. Trennungsspannung: 5000 V. Puffer: Natriumphosphat pH 7,5 (15 mM Natrium)

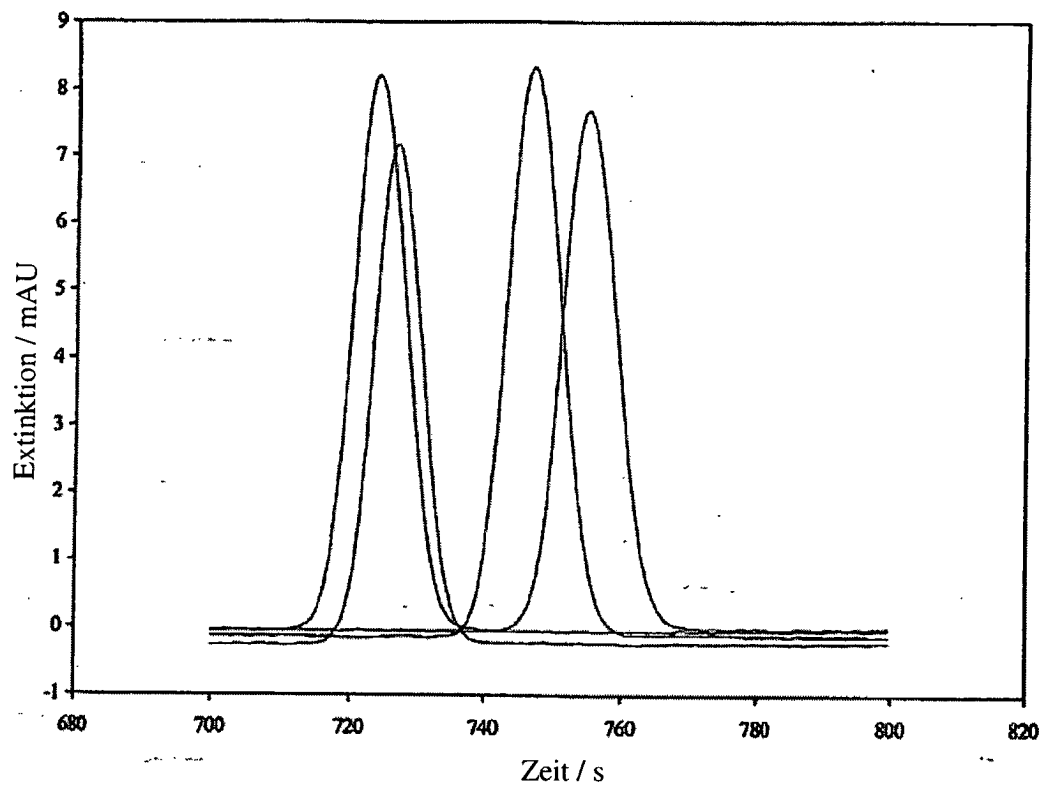


Fig. 10. Elektropherogramme von 100 µM p-Nitrophenol nach einer Korrektur bezüglich Kreuzkopplung zwischen den Kapillaren

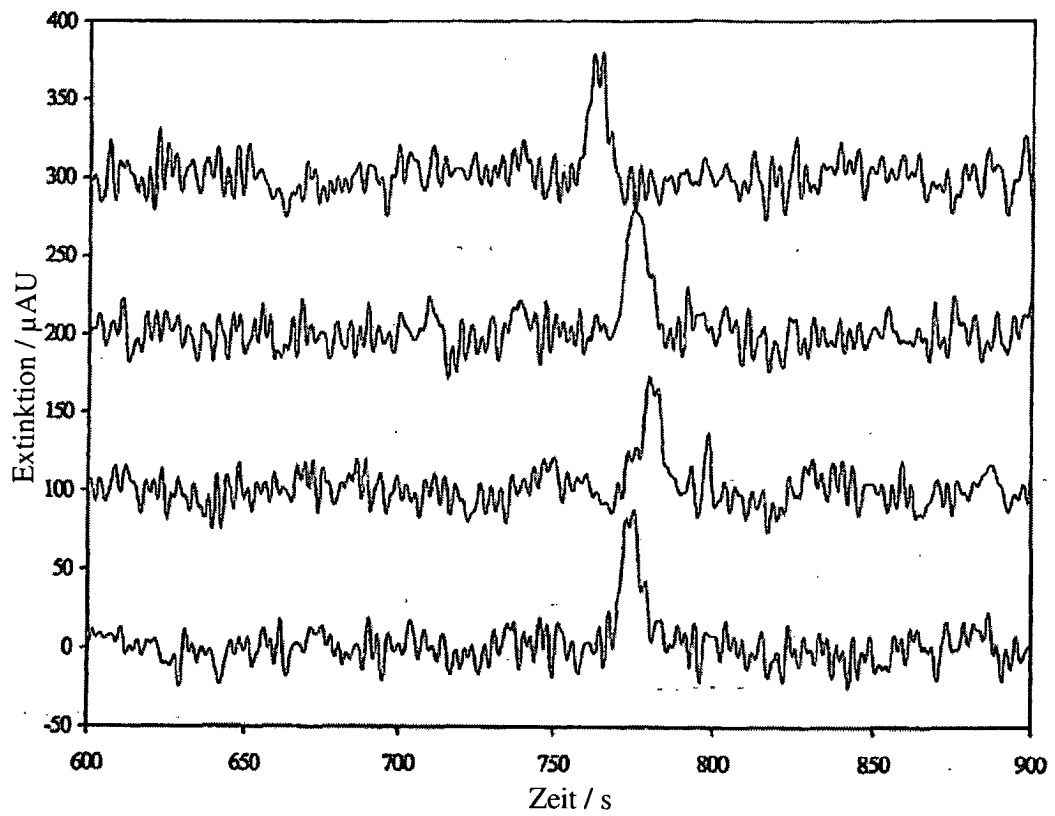


Fig. 11. Elektropherogramme von ~16 nL 1 μM p-Nitrophenol, eingebracht in jede Kapillare

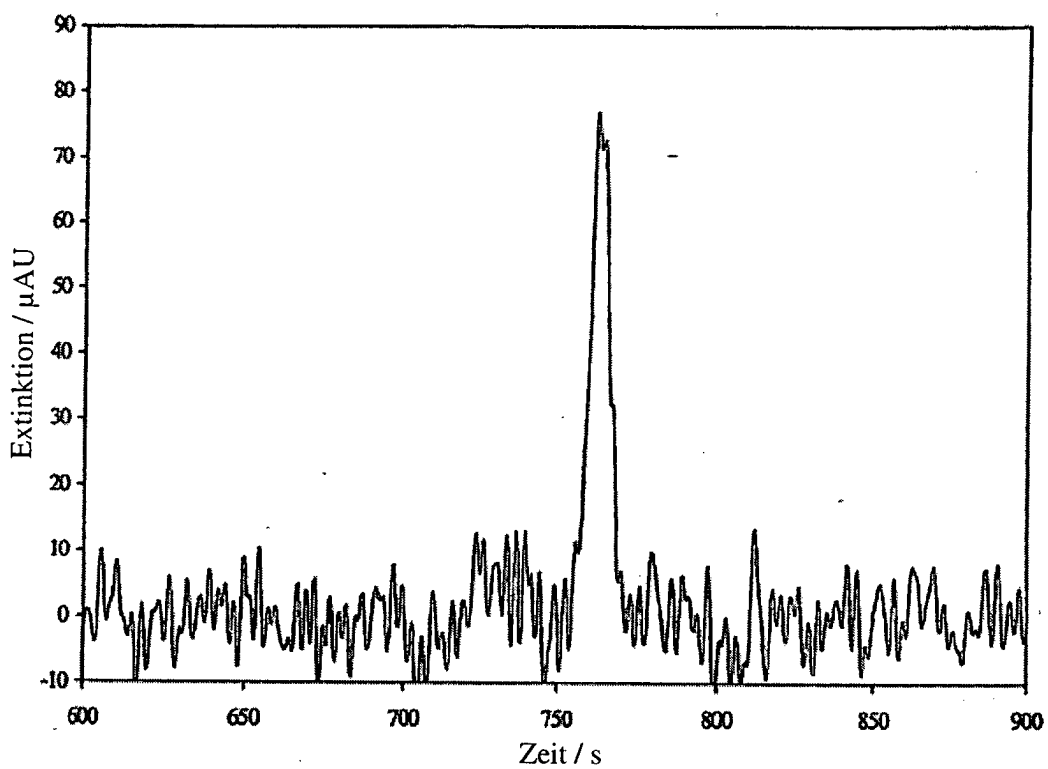


Fig. 12. Elektropherogramm, erzeugt durch Nehmen des Durchschnitts der vier in Fig. 11 gezeigten Verfolgungen

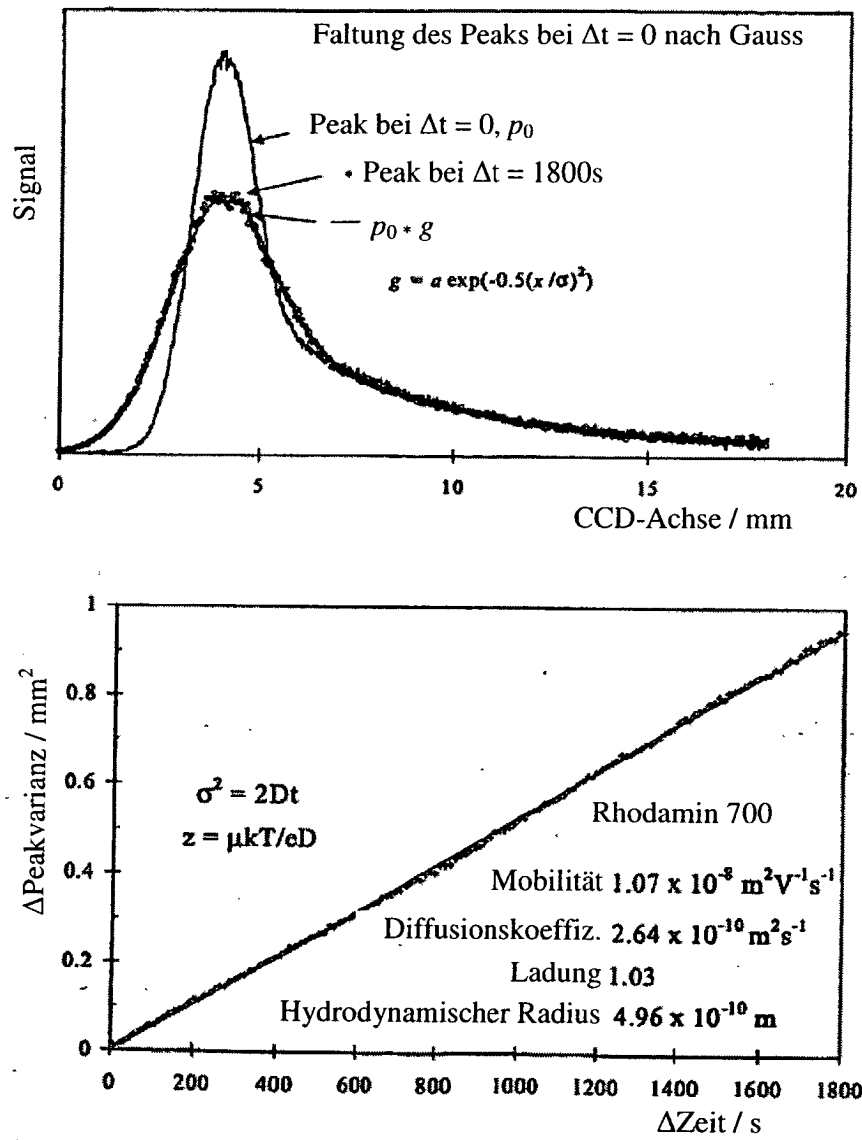


Fig. 13.

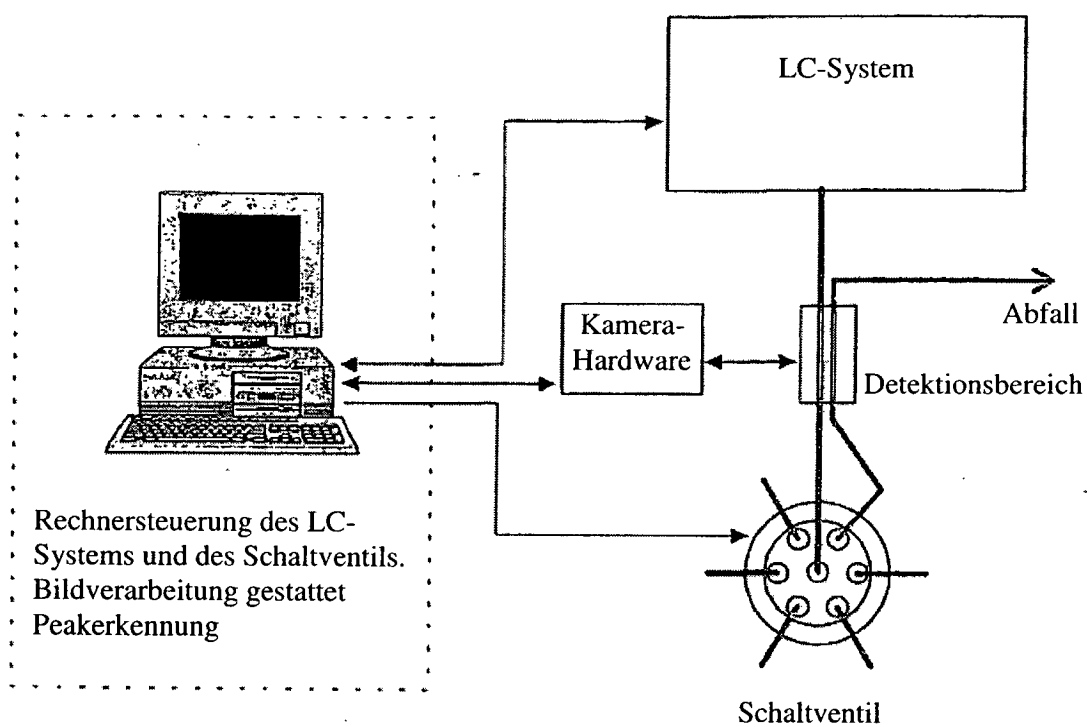


Fig. 14.

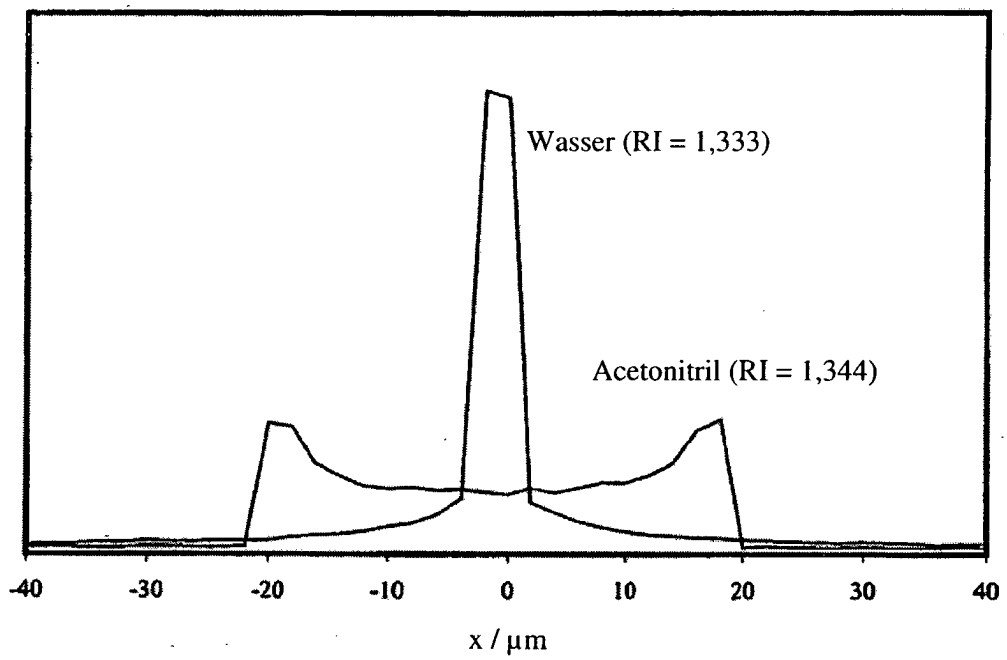


Fig. 15.

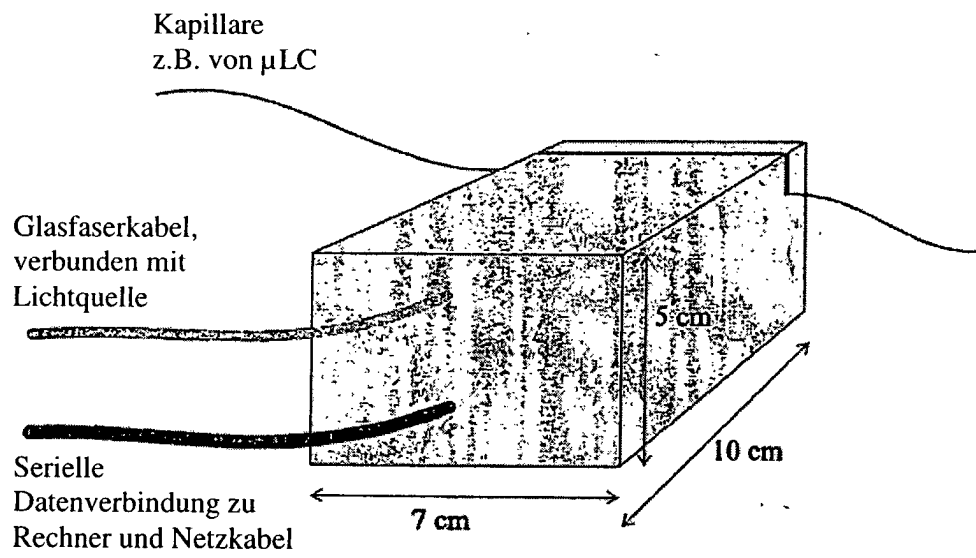


Fig. 16.