

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICH NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ³ : G01N 21/31	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 81/00622 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 5. März 1981 (05.03.81)
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE80/00119</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 12. August 1980 (12.08.80)</p> <p>(31) Prioritätsaktenzeichen: P 29 34 190.0</p> <p>(32) Prioritätsdatum: 23. August 1979 (23.08.79)</p> <p>(33) Prioritätsland: DE</p> <p>(71) Anmelder (nur für DE, FR und SE): FA. CARL ZEISS [DE/DE]; Carl-Zeiss-Straße 4-54, D-7082 Oberkochen (DE).</p> <p>(71) Anmelder (nur für GB und JP): CARL ZEISS-STIFTUNG, HANDELND ALS CARL ZEISS [DE/DE]; Carl-Zeiss-Straße 4-54, D-7082 Oberkochen (DE).</p>		<p>(72) Erfinder; und</p> <p>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MÜLLER, Gerhard [DE/DE]; Bischof-Fischer-Straße 106-108, D-7080 Aalen (DE).</p> <p>(74) Anwalt: SCHILL, Walter; Fa. Carl Zeiss, D-7082 Oberkochen (DE).</p> <p>(81) Bestimmungsstaaten: DE (europäisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), JP, SE (europäisches Patent), US.</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit dem internationalen Recherchenbericht</i></p>
<p>(54) Title: PROCESS AND DEVICE OF MOLECULAR SPECTROSCOPY PARTICULARLY FOR DETERMINING METABOLITES</p> <p>(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR MOLEKÜLSPEKTROSKOPIE, INSbesondere ZUR BESTIMMUNG VON STOFFWECHSELPRODUKTEN</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The infrared absorption is measured in a sample (2) containing the substance tested for. At the same time is determined the absorption of two different wave lengths (λ_1, λ_2) by selecting the first wave length (λ_1) in such a way that if the concentration of the substance tested for varies in the sample (2), there is a negligible or no absorption variation whereas the second wave length (λ_2) is located in an absorption band of the substance after the variation intensity measurements (I_1 and I_2) at the two wave lengths, the signal is normed by the quotient (I_2/I_1). The process allows a reproducible quantitative measurement in a natural biological medium or in dialysates without pre-treatment of the sample and with small quantities of substances. By selecting the second wave length, a plurality of substances may be tested for.</p>		

(57) Zusammenfassung

Gemessen wird die Absorption von Infrarotstrahlung durch eine Probe (2), welche die zu bestimmende Substanz enthält. Es wird gleichzeitig die Absorption bei zwei unterschiedlichen Wellenlängen (λ_1, λ_2) gemessen, wobei die erste Wellenlänge (λ_1) so ausgewählt ist, daß bei Konzentrationsänderungen der zu bestimmenden Substanz in der Probe (2) keine oder nur eine vernachlässigbar kleine Änderung der Strahlungsabsorption auftritt, während die zweite Wellenlänge (λ_2) im Bereich einer substanzspezifischen Absorptionsbande der zu bestimmenden Substanz liegt. Nach Messung der Strahlungsintensitäten (I_1 und I_2) bei den beiden Wellenlängen (λ_1, λ_2) wird das Signal durch Quotientenbildung (I_2/I_1) normiert. Das Verfahren ermöglicht eine quantitative, reproduzierbare Messung im natürlichen biologischen Milieu oder in Dialysaten ohne Probenvorbereitung und mit nur geringen Substanzmengen. Durch entsprechende Wahl der zweiten Wellenlänge (λ_2) lassen sich mehrere Substanzen bestimmen.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	KP	Demokratische Volksrepublik Korea
AU	Australien	LI	Liechtenstein
BR	Brasilien	LU	Luxemburg
CF	Zentrale Afrikanische Republik	MC	Monaco
CG	Kongo	MG	Madagaskar
CH	Schweiz	MW	Malawi
CM	Kamerun	NL	Niederlande
DE	Deutschland, Bundesrepublik	NO	Norwegen
DK	Dänemark	RO	Rumania
FI	Finnland	SE	Schweden
FR	Frankreich	SN	Senegal
GA	Gabun	SU	Soviet Union
GB	Vereinigtes Königreich	TD	Tschad
HU	Ungarn	TG	Togo
JP	Japan	US	Vereinigte Staaten von Amerika

- 1 -

Verfahren und Vorrichtung zur Molekülspektroskopie, insbesondere zur Bestimmung von Stoffwechselprodukten

- Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Molekülspektroskopie, insbesondere zur Bestimmung von Stoffwechselprodukten, bei dem die Absorption von Infrarotstrahlung durch eine Probe, welche eine zu bestimmende Substanz enthält, gemessen wird, sowie eine Vorrichtung zur Durchführung dieses Verfahrens.
- 5 Das Verfahren und die Vorrichtung nach der Erfindung können insbesondere Glucosebestimmung zur , im Serum oder auch im Harn dienen. Eine solche Bestimmung ist von außerordentlicher Bedeutung für die Erkennung und die Therapiekontrolle der Diabetes mellitus. Die bekannte Ermittlung über Teststreifen im Harn dient hauptsächlich zur Feststellung der Erkrankung. Obgleich 15 ein gut eingestellter Diabetiker bei regelmäßiger Urinuntersuchung mit wenigen Stichproben der Blutglucose auskommen kann, spielt für die Therapie, die Therapiekontrolle, die Einstellung des Tagesprofils usw. im wesentlichen die Bestimmung der Glucosekonzentration im Blut eine Rolle.
- 20 Die bekannten Verfahren zur Glucosebestimmung lassen sich in drei Gruppen einteilen, nämlich in biochemische, elektrochemische und spektroskopische Verfahren. Von diesen Verfahren sind die biochemischen Verfahren nur als Laborverfahren geeignet; die elektrochemischen Verfahren bieten zwar derzeit die aussichtsreichsten Ansatzpunkte für die Entwicklung von implantierbaren Glucosesensoren, sind aber in ihrer Genauigkeit und Spezifität 25 ebenso wie die biochemischen Verfahren den spektroskopischen Verfahren unterlegen.
- Die biochemischen und elektrochemischen Verfahren haben zudem den Nachteil gemeinsam, daß die zu messende Probe vor dem eigentlichen Meßvorgang durch Zusatz von Chemikalien so aufbereitet werden muß, daß meßtechnisch erfassbare Reaktionsprodukte gebildet werden. Damit sind kontinuierliche Messungen nicht möglich.
- 30 Im Gegensatz zu den biochemischen und elektrochemischen Verfahren wird beim spektroskopischen Verfahren das Glucosemolekül nicht verändert.



- 2 -

Daneben gibt es noch einige unspezifische Verfahren, die praktisch nicht mehr in Gebrauch sind. So ist beispielsweise aus der DE-OS 2 724 543 ein Verfahren zur Bestimmung von Glucose auf der Grundlage der seit langem bekannten, aber wegen nicht hinreichender Spezifität nur noch selten angewandten Polarimetrie bekannt, welches allenfalls unter günstigen Umständen zur Zuckerbestimmung im Harn geeignet ist.

Eine erste Möglichkeit zur Bestimmung von Stoffwechselprodukten durch spektroskopische Messung stellt die Laser-Raman-Spektroskopie dar. Die Frequenz der Erregerstrahlung liegt dabei im sichtbaren Spektralbereich. Zur Messung wird der nach Rot verschobene Teil im Spektrum des Streulichts verwendet.

Bei Messungen im Vollblut tritt bei diesem Meßverfahren die Schwierigkeit auf, daß im gesamten sichtbaren Spektralbereich Blut, bedingt durch Hämoglobin und die anderen chromophoren Substanzen, eine starke Absorption zeigt, was zwar für diese Moleküle zu einer Resonanzverstärkung der Raman-Streuung führt, jedoch mit einem hohen Fluoreszenzuntergrund verbunden ist und somit die Detektion nicht resonanzverstärkter Banden erschwert, wenn nicht ganz unmöglich macht. Dieses Problem läßt sich zwar mit den heute zur Verfügung stehenden Möglichkeiten zur Anregung der Raman-Streuung mit kurzen Laserimpulsen im Subnanosekunden-Bereich lösen; jedoch ist der technische Aufwand so erheblich, daß sich damit in absehbarer Zeit für Vollblutproben kein praktisch einsetzbares Verfahren realisieren lassen wird.

Eine andere Möglichkeit, die Störung durch Fluoreszenz der Chromophore zu vermeiden, besteht darin, im infraroten Spektralbereich zu arbeiten, d.h. das Infrarot-Spektrum der Probe direkt aufzunehmen. Da aber die Probenaufbereitung, sowie die Registrierung und Auswertung des Spektrums zeitaufwendig und kompliziert ist, stellt die Infrarot-Spektroskopie in der bisher üblichen Art keine Konkurrenz zu den bestehenden anderen Verfahren dar.

Ein weiteres spektroskopisches Verfahren ist die sogenannte ATR-Spektroskopie, d.h. die Totalreflexionsspektroskopie mit quergedämpfter Welle.

- 3 -

So ist es beispielsweise aus der DE-OS 2 606 991 bekannt, einen CO₂-Laser in Verbindung mit der seit langem bekannten ATR-Spektristik zur Bestimmung von Glucose bzw. auch von anderen Stoffwechselprodukten zu verwenden. Dies läßt sich jedoch nur in reinen Lösungen durchführen; in
5 Mehrkomponentensystemen oder gar im Vollblut muß diese Verfahren aufgrund prinzipieller Schwierigkeiten scheitern.

So gilt zum Beispiel das Lambert-Beer'sche Gesetze für die ATR-Spektristik nur für einen Absorptionskoeffizienten im Bereich von 0,1 und
10 kleiner sowie für einen Einfallswinkel von ungefähr 60° oder größer, bezogen auf die im IR üblichen Materialien, und außerdem nur bei hinreichend großen Wellenlängen, und auch hier nur annäherungsweise für isotrope Proben. Selbst bei in vitro Messungen im Vollblut würden hier also bereits Schwierigkeiten auftreten, bedingt zum Beispiel auch durch die Proteinadsorption an den Reflexionsflächen, die das System in eine Anisotropie überführen.
15

Bei spektroskopischen Messungen im Infrarotspektralbereich wird üblicherweise der Absorptionsbeitrag des Lösungs- bzw. Einbettungsmittels für die
20 zu bestimmende Substanz durch die Anwendung eines Referenzstrahlengangs zusätzlich zum eigentlichen Meßstrahlengang kompensiert, wobei in beiden Strahlengängen Infrarotstrahlung der gleichen Wellenlänge verwendet wird. Die notwendige Reproduzierbarkeit der Messung im Referenzstrahlengang erfordert jedoch eine Probenvorbehandlung und ist auf zu untersuchende
25 Substanzen, die im natürlichen biologischen Milieu vorliegen, nicht direkt anwendbar.

Es ist nun die Aufgabe der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Bestimmung von Stoffwechselprodukten zu schaffen, das ohne Probenvorbehandlung, d.h. also ohne Chemikalienverbrauch eine quantitative, reproduzierbare Messung im natürlichen biologischen Milieu ermöglicht und dazu nur geringe Substanzmengen braucht.
30

Diese Aufgabe wird, ausgehend von dem Oberbegriff des Anspruchs 1 beschriebenen Verfahren dadurch gelöst, daß gleichzeitig bei zwei unterschiedlichen Wellenlängen der Infrarotstrahlung gemessen wird, wobei die erste Wellenlänge so ausgewählt ist, daß bei Konzentrationsänderungen der
35



zu bestimmenden Substanz in der Probe keine oder nur eine vernachlässigbar kleine Änderung der Infrarotstrahlungsabsorption auftritt, während die zweite Wellenlänge so ausgewählt ist, daß sie im Bereich einer substanzspezifischen Absorptionsbande der zu bestimmenden Substanz liegt,
5 und daß der Quotient aus den bei diesen beiden Wellenlängen gemessenen Absorptionswerten gebildet wird.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann daher als Zweiwellenlängenverfahren charakterisiert werden, bei dem die erste Wellenlänge in einem "quasi-isosbestischen" Bereich liegt, während die andere Wellenlänge im Bereich einer substanzspezifischen Absorptionsbande liegt, und zwar so, daß bei dieser letzteren Wellenlänge eine Absorptionsänderung nur durch eine Konzentrationsänderung der untersuchten Substanz verursacht wird. Im allgemeinen lassen sich Wellenlängen dieser Eigenschaften aufgrund von vorliegenden Infrarotabsorptionsspektren der infragestehenden Proben ohne weiteres auswählen, da es neben den substanzspezifischen Absorptionsbanden auch in Mehrkomponenten-Gemischen quasi-isosbestische Bereiche gibt.

Mittels des Verfahren nach der Erfindung läßt sich beispielsweise Glucose
20 im menschlichen Vollblut schnell und sicher bestimmen. Es ist auch möglich andere Stoffwechselprodukte wie zum Beispiel Äthylalkohol, Harnstoff, Harnsäure, Kreatinin, Peptidspaltprodukte, Cholesterin, Lipide im Blut oder in anderen Körperflüssigkeiten zu messen. Die Messung kann auch in Dialysaten vorgenommen werden, d.h. in Flüssigkeiten, die keine Körperflüssigkeiten sind, die jedoch Stoffwechselprodukte enthalten. Ein solches Dialysat ist beispielsweise die zur Dialyse bei Nierenkranken verwendete Flüssigkeit.

Das Verfahren nach der Erfindung kann in der Weise durchgeführt werden,
30 daß man die Absorption bei den beiden unterschiedlichen Wellenlängen mittels Transmissions-Spektroskopie oder mittels Reflexions-Spektroskopie, insbesondere ATR-Spektroskopie, bestimmt. Transmissionsmessungen haben, beispielsweise im Falle der Glucosebestimmung im Vollblut, gegenüber Messungen mittels ATR-Spektroskopie den Vorteil, daß das Lambert-
35 Beer'sche Gesetz hier gültig ist und daß sie für die Erzielung quantitativer Meßwerte durch biochemische Absolutbestimmung kalibriert werden

- 5 -

können.

- Die zu messende Probe liegt zweckmäßig als Ausstrich bzw. Film auf einem Wegwerf- oder Einwegprobenträger aus Kunststoff vor. Das Trägermaterial
5 ist so ausgewählt, daß es im Bereich der ersten und zweiten Wellenlänge nur eine geringe Eigenabsorption hat. Der Probenträger kann als ebener Objektträger, gegebenenfalls aber auch als Durchfluß- oder Trogküvette ausgebildet sein.
- 10 Wie schon erwähnt, gibt es auch in Mehrkomponenten-Gemischen quasi-isobestische Bereiche, so daß sich eine Wellenlänge finden läßt für die auch bei Konzentrationsänderungen mehrerer Substanzen in der Probe keine oder nur eine vernachlässigbar kleine Änderung der Infrarotstrahlungsabsorption auftritt. Damit lassen sich mit ein- und derselben Vorrichtung nach-
15 einander mehrere Substanzen in der Probe bestimmen, indem man die erste Wellenlänge so ändert, daß sie jeweils im Bereich einer substanzspezifischen Absorptionsbande liegt. In jedem Falle ist das Meßsignal normiert, wobei die Probe selbst als Referenz dient.
- 20 Eine Vorrichtung zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens zeichnet sich aus durch eine Infrarotstrahlungsquelle zur Erzeugung eines Infrarotstrahlungsbündels, das aus Infrarotstrahlung von wenigstens einer ersten und zweiten Wellenlänge besteht, wobei die erste Wellenlänge so ausgewählt ist, daß bei Konzentrationsänderungen der zu bestimmenden
25 Substanz in der Probe keine oder nur eine vernachlässigbar kleine Änderung der Infrarotstrahlungsabsorption auftritt, während die andere Wellenlänge so ausgewählt ist, daß sie im Bereich einer substanzspezifischen Absorptionsbande der zu bestimmenden Substanz liegt, durch eine Detektor-
einrichtung zur gesonderten Messung der Absorptionswerte der Infrarot-
30 strahlung der unterschiedlichen Wellenlängen und durch eine der Detektor-
einrichtung nachgeschaltete Divisionsschaltung zur Bildung des Quotienten aus den ermittelten Absorptionswerten.

Die Infrarotstrahlungsquelle kann einen starken Kontinuumstrahler oder
35 einen, bzw. mehrere Laser enthalten, wobei Gas- oder Festkörperlaser Verwendung finden können. Zur Aussortierung der beiden zur Messung verwende-



ten Wellenlängen können Interferenzfilter oder entsprechend ausgebildete Strahlteiler vorgesehen sein.

Vorteilhaft ist es empfangsseitig nur einen Detektor zu verwenden und
5 die Strahlenbündel unterschiedlicher Wellenlänge durch unterschiedliche Modulation unterscheidbar zu machen.

Durch die Quotientenbildung der Absorptionswerte, die man für die beiden Wellenlängen mißt, erhält man ein normiertes Meßsignal, wobei die Probe
10 selbst als Referenz dient.

Weitere Merkmale der Erfindung sind in den Unteransprüchen wiedergegeben.

Die Erfindung wird im folgenden anhand der Figuren 1 bis 12 der beigefügten Zeichnungen näher erläutert. Es zeigen:
15

Fig. 1 ein Infrarotabsorptionsspektrum von Wasser;

20 Fig. 2 ein Infrarotabsorptionsspektrum von Heparin;

Fig. 3 ein Infrarotabsorptionsspektrum von D-Glucose;

25 Fig. 4 ein Infrarotabsorptionsspektrum von getrocknetem menschlichem Vollblut, bei dem der Glucosegehalt im normal-physiologischen Bereich liegt;

Fig. 5 ein Infrarotabsorptionsspektrum von getrocknetem menschlichem Vollblut, das mit D-Glucose soweit angereichert ist, daß der Glucose-Gehalt im pathologischen Bereich liegt;
30

Fig. 6 ein erstes Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Vorrichtung;

Fig. 7 ein zweites Ausführungsbeispiel einer Vorrichtung;

35 Fig. 8 ein drittes Ausführungsbeispiel der Erfindung mit einer abge-

- 7 -

wandelten Infrarotstrahlungsquelle;

Fig. 9 ein vierter Ausführungsbeispiel der Erfindung;

5 Fig. 10 ein fünftes Ausführungsbeispiel der Erfindung;

Fig. 11 Durchlaßkurven zweier Einband-Interferenzfilter, wie sie in den Ausführungsbeispielen nach den Fig. 6, 7 und 9 Verwendung finden; und eine Durchlaßkurve eines Doppelband-Interferenzfilters, wie 10 es im Ausführungsbeispiel nach der Fig. 8 vorgesehen ist; und

Fig. 12 die Durchlaßkurven eines wellenlängenselektiven Strahlenteilers, wie er in den Ausführungsformen nach den Fig. 7 und 9 vorgesehen ist.

15

Die Auswahl der beiden zur Messung verwendeten Wellenlängen wird im Zusammenhang mit den Fig. 1-5 am Beispiel der Glucosebestimmung beschrieben. Eine wesentliche Schwierigkeit bei dieser Bestimmung im Vollblut oder Harn besteht darin, daß die Körperflüssigkeiten zu einem hohen Prozentsatz aus 20 Wasser bestehen. Wasser hat aber im Bereich der Glucoseabsorption im Infraroten einen Absorptionskoeffizienten von 700 cm^{-1} . Glucose hat dagegen in diesem Bereich lediglich einen Absorptionskoeffizienten von ca. $0,1 \cdot \text{cm}^{-1}$. Üblicherweise wird diese Schwierigkeit, die generell bei IR-Messungen in wässrigen Lösungen besteht, durch ein sogenanntes Zweistrahlverfahren vermieden; dabei wird die Lösungs- bzw. Einbettungsmittelabsorption durch einen Referenzstrahlengang, in dem sich eine Probe befindet, die nur aus Wasser besteht, kompensiert. Durch den Einsatz von Lasern anstelle der konventionellen Lichtquellen läßt sich dieses Problem weiter reduzieren.

30 Dem Zweistrahlverfahren haftet der grundsätzliche Nachteil an, daß eine komplizierte Probenvorbehandlung erforderlich ist um eine sinnvolle Verwendung des Referenzstrahlenganges zu ermöglichen.

Beim Verfahren nach der Erfindung wird statt des Zweistrahlverfahrens ein 35 Zweiwellenlängenverfahren angewendet. Dabei wird die Absorption der Probe bei zwei verschiedenen Wellenlängen simultan bestimmt. Die beiden Wellen-



- 8 -

längen liegen dabei so dicht beieinander, daß disperse Effekte klein zu halten sind. Dies ermöglicht eine Messung im biologischen Milieu ohne komplizierte und langwierige Probenvorbehandlung.

- 5 Die erste Wellenlänge λ_1 wird so gewählt, daß bei Konzentrationsänderungen der zu untersuchenden Substanz in der Probe keine oder nur eine vernachlässigbar kleine Änderung der Absorption auftritt, d.h. λ_1 sollte im "isosbestischen Punkt" oder in einem "quasi-isosbestischen" Bereich liegen.

10

- Ein solcher quasi-isosbestischer Bereich ist in den Figuren 4 und 5 durch die Linien 41 und 42 verdeutlicht. Man erkennt, daß in diesem Bereich bei einer Änderung der Glucose-Konzentration nur eine vernachlässigbar kleine Änderung der Absorption auftritt. Diese Absorption entspricht also der Grundabsorption der Probe und ist zur Normierung des Meßsignals geeignet.

Die Linie 41 entspricht dem Wert 940 cm^{-1} , die Linie 42 entspricht dem Wert 950 cm^{-1} .

20

- Die zweite Wellenlänge λ_2 wird so gewählt, daß sie auf einer Substanzspezifischen Absorptionsbande liegt. Diese Bedingung erfüllen Wellenlängen im Bereich zwischen den beiden Wellenlängen, die in den Figuren 1-5 mit 51 und 52 bezeichnet sind. Linie 51 entspricht einem Wert λ_2 von 1090 cm^{-1} , Linie 52 entspricht dem Wert 1095 cm^{-1} . Man erkennt aus den Figuren 3 und 2, daß der angegebene Bereich auf einer Absorptionsbande der Glucose, zugleich aber im Bereich minimaler Absorption bei Heparin liegt. Das Mucopolysaccharid Heparin ist im Vollblut zu einem relativ hohen Prozentsatz in den basophilen Leukozyten vorhanden. Im Normalfall ist der Einfluß nicht allzu hoch, etwa 0,5 %, jedoch kann in pathologischen Grenzsituationen mit einem erhöhten Leukozytenanteil oder auch nach Verabreichung von Heparin als Antikoagulant eine empfindliche Störung der Glucosemessung entstehen. Durch die dargestellte Wahl der Wellenlänge λ_2 ist eine Störung der Messung durch Heparin in der Probe vermieden.

- 9 -

Verwendet man als Strahlungsquelle einen CO₂-Laser, so entsprechen die λ₂-Linien den Laserlinien R (40) bis R (52) und der λ₁-Wellenlängenbereich liegt zwischen den CO₂-Laserlinien P (14) bis P (26). Die Wellenlängenselektion wird zweckmäßig durch geeignete Interferenzfilter vorgenommen, die in diesen Bereichen nach dem Stand der Technik mit einer Halbwertsbreite von etwa 5 cm⁻¹ hergestellt werden können. Statt eines CO₂-Lasers kann auch ein Halbleiterlaser, beispielsweise ein Pb_{1-x}-Sn_x-Te- oder ein Raman-Laser, oder auch ein Kontinuumstrahler mit Frequenzselektion verwendet werden. Die Detektion des Meßsignals erfolgt mit den nach dem Stand der Technik üblichen Verfahren und Vorrichtungen.

Die in den Fig. 6 bis 10 dargestellten Ausführungsbeispiele von Vorrichtungen zur Bestimmung von Stoffwechselprodukten können sowohl zur Transmissionspektroskopie als auch zur ATR-Totalreflexion-Spektroskopie mit quergedämpften Infrarotlichtwellen verwendet werden. Dabei ist der nur schematisch angedeutete Probenträger 1, in oder auf dem die Probe 2 vor gesehen ist, vorzugsweise entweder als Objektträgerplättchen oder als Küvette aus zum Beispiel einem Copolymer aus Polyäthylen und Polypropylen gefertigt, je nachdem ob die Probe 1 senkrecht oder horizontal durchstrahlt wird.

Jedes der gezeigten Ausführungsbeispiele weist eine Infrarotstrahlungs quelle 3 und eine Detektoreinrichtung 4 auf. Im Infrarotstrahlungsbündel 5, das den Strahlengang zwischen der Quelle 3 und dem Detektor 4 bildet, befindet sich der Probenträger 1 mit der zu messenden Probe 2.

Die Infrarotstrahlungsquelle 3 ist so ausgebildet, daß sie das Infrarotstrahlungsbündel 5 erzeugt, welches aus Infrarotstrahlung einer ersten und einer zweiten Wellenlänge λ₁ bzw. λ₂ besteht. Die Detektoreinrichtung 4 ist so ausgebildet, daß sie die Absorptions- bzw. Intensitätswerte der Infrarotstrahlung der unterschiedlichen Wellenlängen λ₁ und λ₂ gesondert mißt. Der Detektoreinrichtung 4 ist eine Divisionsschaltung 6 nachgeschaltet, der die beiden von der Detektoreinrichtung 4 ermittelten Signale I₁ und I₂ zugeführt werden und die den Quotienten Q = I₂/I₁ bildet, worin I₂ der der Wellenlänge λ₂ entsprechende Absorptions- bzw- Intensitätswert ist, während I₁ der der Wellenlänge λ₁ entsprechende Ab-



- 10 -

sorptions- bzw. Intensitätswert ist. Dieser Divisionsschaltung 6 ist eine Anzeige- und/oder Aufzeichnungseinrichtung 7 nachgeschaltet, die beispielsweise als Schreiber, Drucker, Digital- oder Analoganzeigegerät o. dgl. ausgebildet sein kann.

5

Im Ausführungsbeispiel der Fig. 6 weist die Infrarotstrahlungsquelle 3 einen starken Kontinuumsstrahler 8 auf, wie beispielsweise einen Globar- oder Nernst-Stift. Mittels einer Blende 9 wird ein erstes und zweites Infrarotstrahlungsbündel 10 bzw. 11 ausgeblendet. Zur Selektion der 10 beiden Wellenlängen λ_1 und λ_2 aus dem Kontinuumsspektrum der Strahlungsquelle 8 ist im Strahlengang des Teilstrahles 10 ein erstes Interferenzfilter 12 angeordnet, das im wesentlichen nur Strahlung der Wellenlänge λ_1 durchläßt, während im Strahlengang des zweiten Teilstrahles 11 ein zweites Interferenzfilter 13 angeordnet ist, das im wesentlichen nur 15 Strahlung der Wellenlänge λ_2 durchläßt.

Der prinzipielle Verlauf der Durchlaßfunktion der Interferenzfilter 12, 13 ist im oberen und mittleren Teil der Fig. 11 dargestellt, worin die Transparenz T in Prozent über der Wellenlänge λ in μm aufgetragen ist. Die 20 Halbwertsbreite $\Delta\lambda$ sollte kleiner oder gleich 1 % der jeweiligen durchzulassenden Wellenlänge λ_1 bzw. λ_2 sein.

Die beiden Teilstrahlen 10, 11 werden über Spiegel 14 und einen wellenlängenselektiven Strahlteiler 15 zu einem einzigen Infrarotstrahlungsbündel 5 vereinigt, nachdem sie vorher durch einen Chopper 16 mit unterschiedlichen Frequenzen f_1 (Modulationsfrequenz des Infrarotstrahlungsbündels 10) bzw. f_2 (Modulationsfrequenz des Infrarotstrahlungsbündels 11) moduliert worden sind. Daß sich unterschiedliche Frequenzen ergeben, ist dadurch angedeutet, daß die Unterbrecherscheibe 17 des Choppers 16 30 das Infrarotstrahlungsbündel 11 an einer der Rotationsachse 18 des Choppers 16 näher gelegenen Stelle schneidet als das Infrarotstrahlungsbündel 10 und das Chopperblatt für die beiden Bündel (10,11) eine unterschiedliche Zahl von Segmenten hat.

35 Die Durchlaßfunktion des wellenlängenselektiven Strahlenteilers 15 ist in Fig. 12 dargestellt, worin die Transparenz T bzw. die Reflexionsfähigkeit

R, jeweils in Prozent, über der Wellenlänge in μm aufgetragen und die Wellenlängen λ_1 und λ_2 eingezeichnet sind.

- Das Strahlungsbündel 5 tritt durch die Probe 2, die zum Beispiels ein
- 5 Ausstrich eines Bluttropfens auf einem als Objektträger ausgebildeten Probenträger 1 sein kann. Dieser kann beispielsweise aus einem Copolymer aus Polyäthylen und Polypropylen bestehen. Nach Durchtritt durch die Probe 2 gelangt das Infrarotstrahlungsbündel 5 in die Detektoreinrich-
tung 4, und trifft hier auf einen einzigen Detektor 19 auf, der in dem
10 jeweiligen Spektralbereich, in dem sich die Wellenlängen λ_1 und λ_2 be-
finden, nahezu gleiche Empfindlichkeit besitzt. Beispielsweise kann der Detektor 19 ein pyroelektrischer Empfänger, wie etwa ein Triglycinsulfat-
Kristall sein, der abgekürzt auch als TGS-Kristall bezeichnet wird. Diese
nahezu gleiche Empfindlichkeit ist notwendig, damit die nachgeschaltete
15 Elektronik mit gleichen Zeitkonstanten betrieben werden kann. Das Aus-
gangssignal des Detektors 19 wird zwei parallelen Lock-in-Verstärkern 20,
21 (phasenempfindliche Gleichrichter mit gegebenenfalls nachgeschaltetem
Verstärker) zugeführt, von denen einer auf die Modulationsfrequenz f_1 des
Infrarotstrahlungsanteils der Wellenlänge λ_1 und der andere auf die Mo-
20 dulationsfrequenz f_2 des Infrarotstrahlungsanteils der Wellenlänge λ_2
abgestimmt ist. Am Ausgang des Lock-in-Verstärkers 20 erhält man den
oben erwähnten Intensitätswert I_1 bzw. ein ihm proportionales Signal, und
am Ausgang des Lock-in-Verstärkers 21 steht der oben genannte Intensitäts-
wert I_2 bzw. ein ihm proportionales Signal zur Verfügung. Diese beiden
25 Signale werden in die nachgeschaltete Divisionsschaltung 6 eingegeben,
die hieraus das normierte konzentrationsproportionale Signale $Q = I_2/I_1$
erzeugt.

- Im Ausführungsbeispiel der Fig. 7 ist der Chopper 16 so angeordnet und
30 ausgebildet, daß er beide Teilstrahlen 10 und 11 mit der gleichen Chop-
frequenz f moduliert. Infolgedessen ist in der zugehörigen Detektorein-
richtung 4 ein zweiter wellenlängenselektiver Strahlenteiler 22 vorge-
sehen, der das darauf auftreffende einzige Infrarotstrahlungsbündel 5 in
ein erstes Teilbündel 23 der Wellenlänge λ_1 und ein zweites Teilbündel
35 24 der Wellenlänge λ_2 aufteilt. Das erste Teilbündel 23 gelangt auf
einen Detektor 25, und das zweite Teilbündel 24 trifft auf einen zweiten



- 12 -

Detektor 26 auf. Diese Detektoren 25, 26 können von der gleichen Art wie der Detektor 19 der Fig. 6 sein.

Die den beiden Detektoren 25, 26 nachgeschalteten Lock-in-Verstärker 27 5 bzw. 28, die beide auf die Modulationsfrequenz f abgestimmt sind, erzeugen wiederum an ihren Ausgängen Intensitätswerte I_1 bzw. I_2 , aus denen der oben erwähnte Quotient Q in der Divisionsschaltung 6 gebildet wird.

Fig. 8 zeigt ein Ausführungsbeispiel, bei dem aus der Strahlung der eben- 10 falls als Kontinuumsstrahler ausgebildeten Strahlungsquelle 8 mittels der Blende 9 nur ein einziges Strahlungsbündel, nämlich das Infrarot- strahlungsbündel 5 ausgeblendet wird. Dieses Bündel tritt durch einen Doppelband-Interferenzfilter 29 und die Unterbrecherscheibe 17 eines Choppers 16 und durchsetzt dann die Probe 2. Die Durchlaßkurve dieses Doppel- 15 band-Interferenzfilters 29 ist im unteren Teil der Fig. 11 gezeigt und stellt, wie ein Vergleich mit dem mittleren und oberen Teil der Fig. 11 ergibt, eine Kombination der Durchlaßkurven der beiden Interferenzfilter 12 und 13 dar, die in den Ausführungsbeispielen der Fig. 6 und 7 verwen- det werden.

20

Die Detektoreinrichtung 4 in Fig. 8 kann so ausgebildet sein, wie in Fig. 7 dargestellt.

Fig. 9 zeigt ein Ausführungsbeispiel, bei dem die Infrarotstrahlungsquel- 25 le 3 als Lichtquelle einen Laser 8, zum Beispiel eine CO_2 -Laser oder ei- nen Raman-Laser, mit Mehrlinienemission aufweist. Dieser ist mit einer Strahlaufweitungsvorrichtung 30 versehen. Mittels der Blende 9 wird ein einziges Strahlungsbündel, nämlich das Infrarotstrahlungsbündel 5, ausge- blendet, das, bevor es durch die Probe 2 tritt, mittels eines Choppers 16 30 mit einer Chop-Frequenz f moduliert wird.

Die Detektoreinrichtung 4 ist im wesentlichen so aufgebaut, wie in Fig. 7 dargestellt; jedoch ist zum Zwecke der Wellenlängenselektion ein erstes Interferenzfilter 12 im Strahlengang des ersten Teilbündels 23 zwischen 35 dem wellenlängenselektiven Strahlenteiler 22 und dem ersten Detektor 25 angeordnet, so daß letzterer nur Infrarotstrahlung der Wellenlänge λ_1

erhält, während im Strahlengang des zweiten Teilbündels 24 zwischen dem wellenlängenselektiven Strahlenteiler 23 und dem zweiten Infrarotstrahlungsdetektor 26 ein zweites Interferenzfilter 13 vorgesehen ist, das nur Strahlung der Wellenlänge λ_2 durchläßt.

5

- Das Ausführungsbeispiel nach Fig. 9 kann auch so abgewandelt sein, daß durch Aufteilung und Wiedervereinigung des aus der Strahlaufweitungsvorrichtung 30 austretenden Strahlungsbündels unter Selektion der Wellenlängen λ_1 und λ_2 und einer Zweifrequenzmodulation mittels eines Choppers 16 entsprechend der Ausführungsform nach Fig. 6 eine Detektoreinrichtung 4 der in Fig. 6 gezeigten Art verwendet werden kann, die nur einen einzigen Detektor 19 erfordert.

- In Fig. 10 ist ein Ausführungsbeispiel gezeigt, in dem zwei monochromatische Laser 8 vorgesehen sind, von denen der eine die Emissionswellenlänge λ_1 und der andere die Emissionswellenlänge λ_2 hat. Diese Laser 8 können beispielsweise $Pb_{1-x}Sn_xTe$ -Laser sein, so daß nach Durchgang der Laserstrahlungen durch die Strahlaufweitungsvorrichtung 30 mittels der Blende 9 ein erstes Teilbündel 10 erzeugt wird, das nur Infrarotstrahlung der Wellenlänge λ_1 enthält, sowie ein zweites Teilbündel 11, das nur Infrarotstrahlung der Wellenlänge λ_2 enthält. Diese beiden Teilbündel werden in ähnlicher Weise wie in Fig. 6 mit zwei unterschiedlichen Chop-Frequenzen f_1 bzw. f_2 moduliert und durch einen Spiegel 14 und einen wellenlängenselektiven Strahlenteiler 15 zu dem gemeinsamen Infrarotstrahlungsbündel 5 vereinigt. Die Detektoreinrichtung 4 kann bei diesem Ausführungsbeispiel von der in Fig. 6 gezeigten Art sein, sie kann jedoch auch so ausgebildet sein, wie in Fig. 7 gezeigt ist, sofern man die beiden Teilbündel 10, 11 in Fig. 10 mit der gleichen Chop-Frequenz f moduliert.
- Der Probenraum kann auch als Durchflußküvette geringer Schichtdicke ausgeführt sein. Dies ist insbesondere von Interesse, wenn das Verfahren zum kontinuierlichen Messen, zum Beispiel bei der Dialyse mit einer künstlichen Niere, eingesetzt werden soll. Bei diesem Anwendungsfall ist weniger die Glucosebestimmung als vielmehr die Bestimmung von Peptidspaltprodukten, Defekthormonen, Harnstoff, Harnsäure und Kreatinin im Dialysat von Interesse. Der isosbestische bzw. quasi-isosbestische Bereich für λ_1 ist



- 14 -

dabei im wesentlichen der gleiche wie bei der Glucosemessung, jedoch muß die zweite Wellenlänge λ_2 jeweils den Substanzen entsprechend ausgewählt werden. Der optische und elektrische Aufbau des Auswertegerätes selbst wird entsprechend einem der dargestellten Ausführungsbeispiele gewählt.

5

Es ist auch möglich mit dem Verfahren nach der Erfindung mehrere Substanzen simultan zu bestimmen. Es müssen dann mehr als zwei Wellenlängen simultan durch die Probe gestrahlt werden, wobei eine dieser Wellenlängen in einem mindestens quasi-isosbestischen Bereich liegt und die anderen 10 jeweils den zu untersuchenden Substanzen angepaßt ausgesucht werden. So ist es zum Beispiel ohne weiteres möglich, daß unter Verwendung von fünf verschiedenen Wellenlängen Glucose, Äthylalkohol, Harnsäure und Kreatinin simultan zu bestimmen. Die Normierung erfolgt dabei jeweils durch die fünfte Wellenlänge, die in einem quasi-isosbestischen Bereich liegt, zum 15 Beispiel in dem aus den Fig. 1-5 ersichtlichen Bereich.



- 15 -

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Molekülspektroskopie, insbesondere zur Bestimmung von Stoffwechselprodukten, bei dem die Absorption von Infrarotstrahlung durch eine Probe, welche eine zu bestimmende Substanz enthält, gemessen wird, dadurch gekennzeichnet, daß gleichzeitig bei zwei unterschiedlichen Wellenlängen (λ_1, λ_2) der Infrarotstrahlung gemessen wird, wobei die erste Wellenlänge (λ_1) so ausgewählt ist, daß bei Konzentrationsänderungen der zu bestimmenden Substanz in der Probe (2) keine oder nur eine vernachlässigbar kleine Änderung der Infrarotstrahlungsabsorption auftritt, während die zweite Wellenlänge (λ_2) so ausgewählt ist, daß sie im Bereich einer substanzspezifischen Absorptionsbande der zu bestimmenden Substanz liegt, und daß der Quotient aus den bei diesen beiden Wellenlängen (λ_1, λ_2) gemessenen Absorptionswerten gebildet wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß für die Messung bei der ersten Wellenlänge (λ_1) zur Bestimmung der Grundabsorption der Probe (2), insbesondere von Blut und/oder Körpergewebe, der Infrarotspektralbereich von 940 bis 950 cm^{-1} verwendet wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Absorption bei den beiden unterschiedlichen Wellenlängen (λ_1, λ_2) mittels Transmissions-Spektroskopie bestimmt wird.
4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Absorption bei den beiden unterschiedlichen Wellenlängen (λ_1, λ_2) mittels Reflexions-Spektroskopie bestimmt.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Probe (2) als Ausstrich bzw. Film vorgesehen ist. :
6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß als Probenträger (1) ein Wegwerf- bzw. Einwegprobenträger aus einem Kunststoff verwendet wird, der im Bereich der ersten und zweiten Wellenlänge (λ_1, λ_2) nur eine geringe Eigenabsorption besitzt.



- 16 -

7. Verfahren nach Anspruch 5 und 6, dadurch gekennzeichnet, daß als Probenträger (1) ein ebener Objektträger verwendet wird.
8. Verfahren nach Anspruch 5 und 6, dadurch gekennzeichnet, daß als Probenträger (1) eine Küvette verwendet wird.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß zwei Infrarot-Teilstrahlungsbündel (10, 11) erzeugt werden, die unterschiedliche Wellenlängen (λ_1, λ_2) haben, und daß diese Teilbündel verschieden moduliert werden.
10. Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 9, mit einer Infrarotstrahlungsquelle und einem Infrarotstrahlungsdetektor sowie mit einem im Infrarotstrahlengang zwischen der Quelle und dem Detektor positionierbaren Probenträger, gekennzeichnet durch eine Infrarotstrahlungsquelle (3) zur Erzeugung eines Infrarotstrahlungsbündels (5), das aus Infrarotstrahlung von wenigstens einer ersten und zweiten Wellenlänge (λ_1, λ_2) besteht, wobei die erste Wellenlänge (λ_1) so ausgewählt ist, daß bei Konzentrationsänderungen der zu bestimmenden Substanz in der Probe (2) keine oder nur eine vernachlässigbar kleine Änderung der Infrarotstrahlungsabsorption auftritt, während die andere Wellenlänge (λ_2) so ausgewählt ist, daß sie im Bereich einer substanzspezifischen Absorptionsbande der zu bestimmenden Substanz liegt; durch eine Detektoreinrichtung (4) zur gesonderten Messung der Absorptionswerte der Infrarotstrahlung der unterschiedlichen Wellenlängen (λ_1, λ_2), und durch eine der Detektoreinrichtung (4) nachgeschaltete Divisionsschaltung (6) zur Bildung des Quotienten aus den ermittelten Absorptionswerten.
11. Vorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß als Infrarotstrahlungsquelle einen starken Kontinuumsstrahler (8) vorgesehen ist.
12. Vorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß als Infrarotstrahlungsquelle ein oder mehrere Laser vorgesehen sind.

- 17 -

13. Vorrichtung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß jeder Laser mit einer Strahlaufweitungsvorrichtung (30) versehen ist.
14. Vorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Infrarotstrahlungsquelle (3) mit einer Blende (9) zum Ausblenden eines ersten und zweiten Teilstrahlungsbündels (10, 11) versehen ist, daß im Strahlengang des ersten Teilstrahlungsbündels (10) ein erstes Interferenzfilter (12), das nur Infrarotstrahlung der ersten Wellenlänge (λ_1) durchläßt, und im Strahlengang des zweiten Teilstrahlungsbündels (11) ein zweites Interferenzfilter (13), das nur Infrarotstrahlung der zweiten Wellenlänge (λ_2) durchläßt, vorgesehen ist, und daß eine Strahlumlenk- und -zusammenführungsvorrichtung (14, 15) zum Vereinigen der beiden Teilstrahlungsbündel (10, 11) zu einem einzigen, die Probe (2) durchsetzenden Infrarotstrahlungsbündel (5) vorgesehen ist.
15. Vorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Infrarotstrahlungsquelle (3) mit einer Blende (9) zum Ausblenden eines einzigen Infrarotstrahlungsbündels (5) versehen ist, in dessen Strahlengang ein Doppelband-Interferenzfilter (29) vorgesehen ist, das nur Infrarotstrahlung der ersten und zweiten Wellenlänge (λ_1, λ_2) durchläßt.
16. Vorrichtung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß im Strahlengang des ersten und zweiten Teilstrahlungsbündels (10, 11) ein Chopper (16) zum Modulieren des ersten Teilstrahlungsbündels (10) mit einer ersten Chop-Frequenz (f_1) und zum Modulieren des zweiten Teilstrahlungsbündels (11) mit einer zweiten Chop-Frequenz (f_2) vorgesehen ist.
17. Vorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß die Detektoreinrichtung (4) ein wellenlängenselektiver Strahlenteiler (22) zum Aufteilen des einzigen Infrarotstrahlungsbündels (5) in ein erstes und zweites Teilstrahlungsbündel (23, 24) enthält, wobei das erste Teilstrahlungsbündel (23) auf einen ersten Infrarotstrahlungsdetektor (25) und das zweite Teilstrahlungsbündel (24) auf einen zweiten Infrarotstrahlungsdetektor (26) aufgeteilt wird.



- 18 -

rotstrahlungsdetektor (26) gerichtet ist, daß diesen Detektoren (25, 26) je ein Lock-in-Verstärker (27, 28) nachgeschaltet ist, deren Ausgänge mit der Divisionsschaltung (6) verbunden sind.

- 5 18. Vorrichtung nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß die Detektoreinrichtung (4) einen einzigen Infrarotstrahlungsdetektor (19) enthält, dem zwei parallele Lock-in-Verstärker (20, 21) nachgeschaltet sind, von denen der eine auf die erste Chop-Frequenz (f_1) und der andere auf die zweite Chop-Frequenz (f_2) abgestimmt ist, und daß die Ausgänge der Lock-in-Verstärker (20, 21) mit der Divisionsschaltung (6) verbunden sind.
- 10

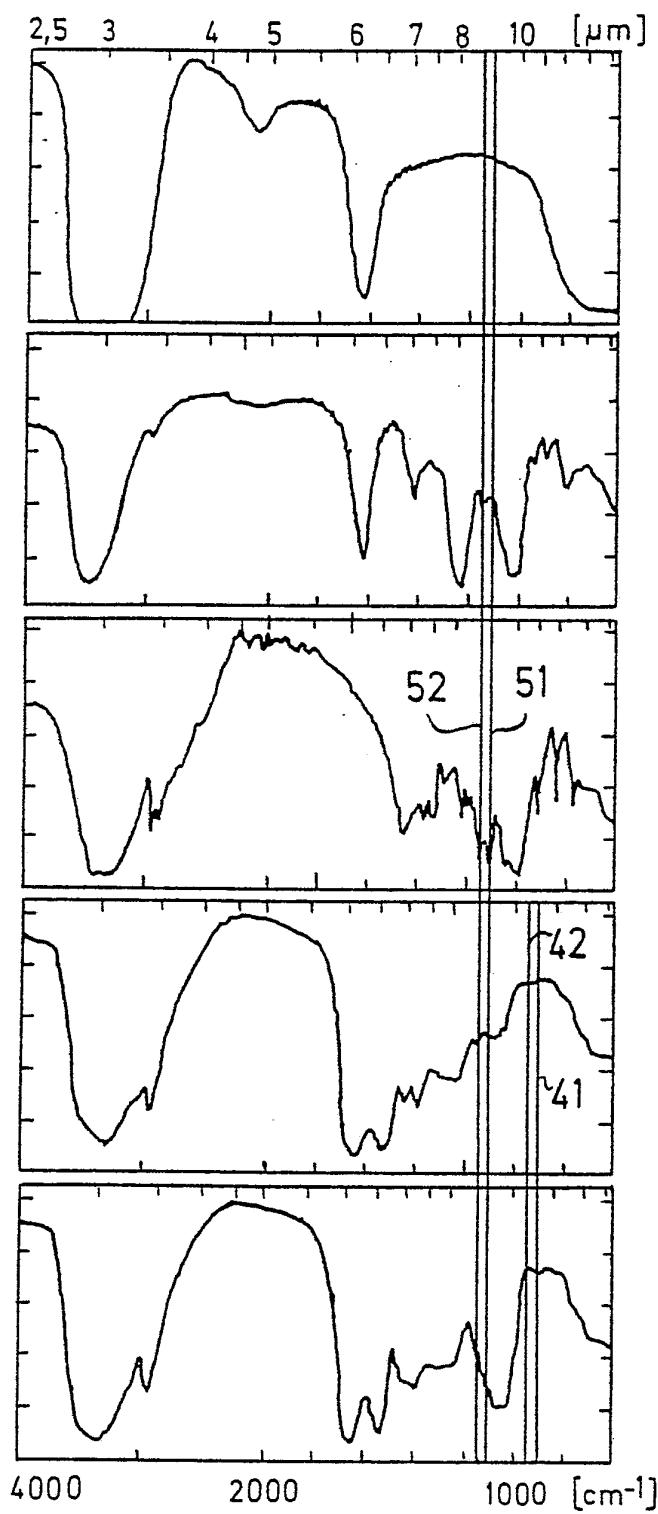


Fig. 1

Fig. 2

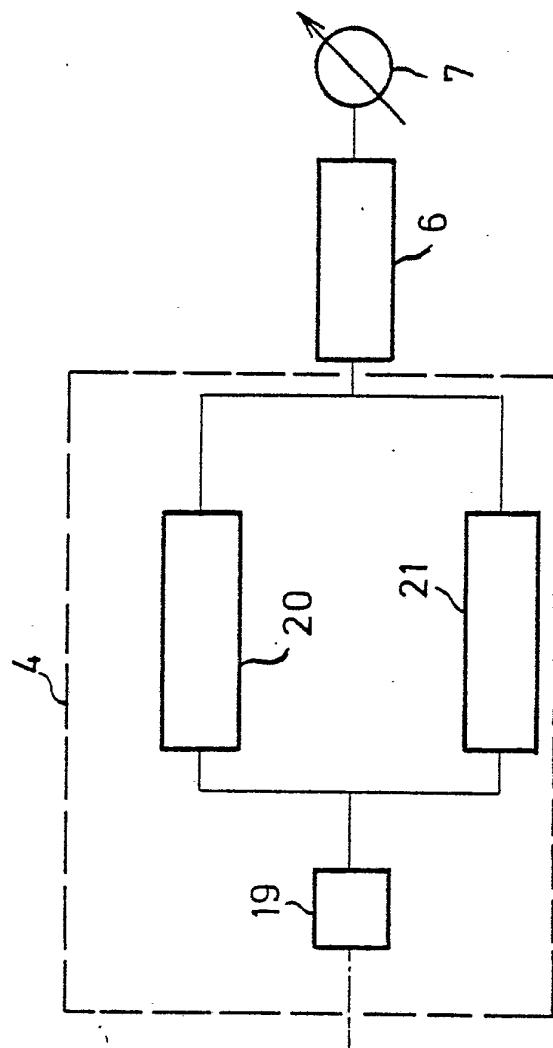
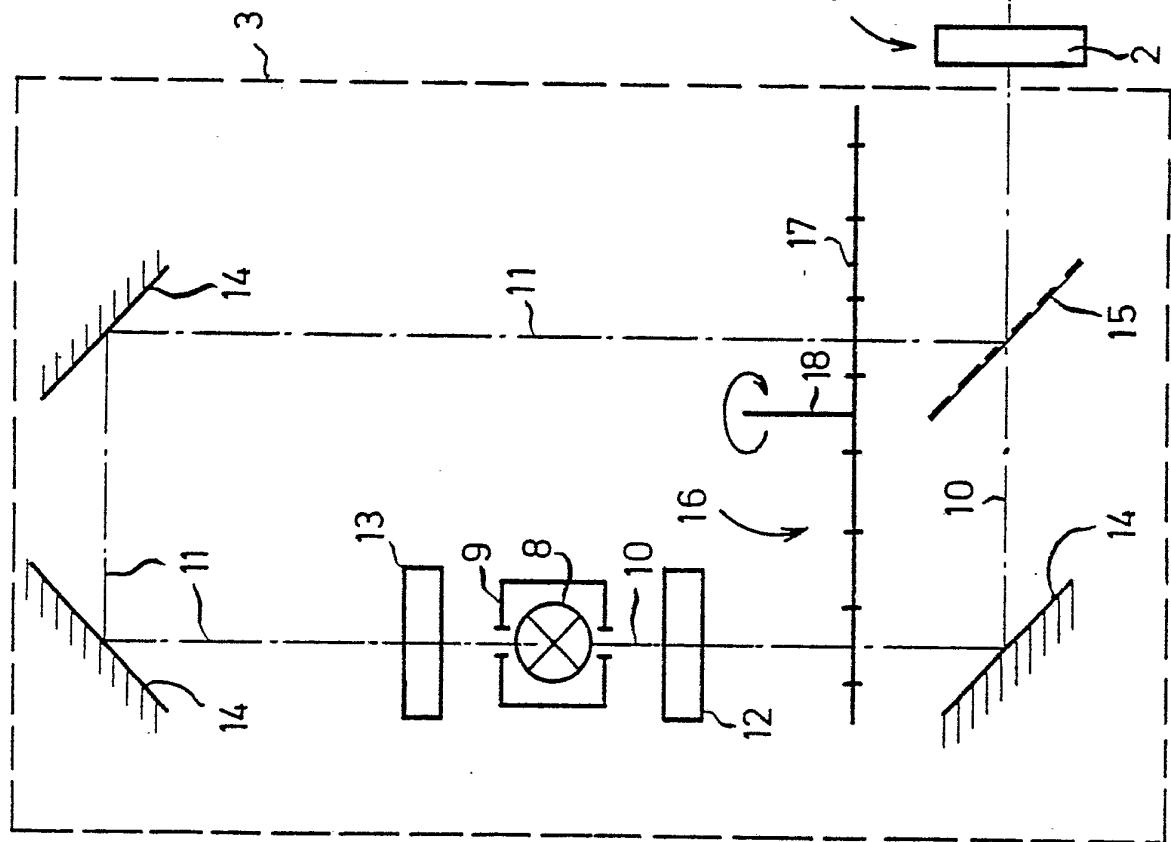
Fig. 3

Fig. 4

Fig. 5

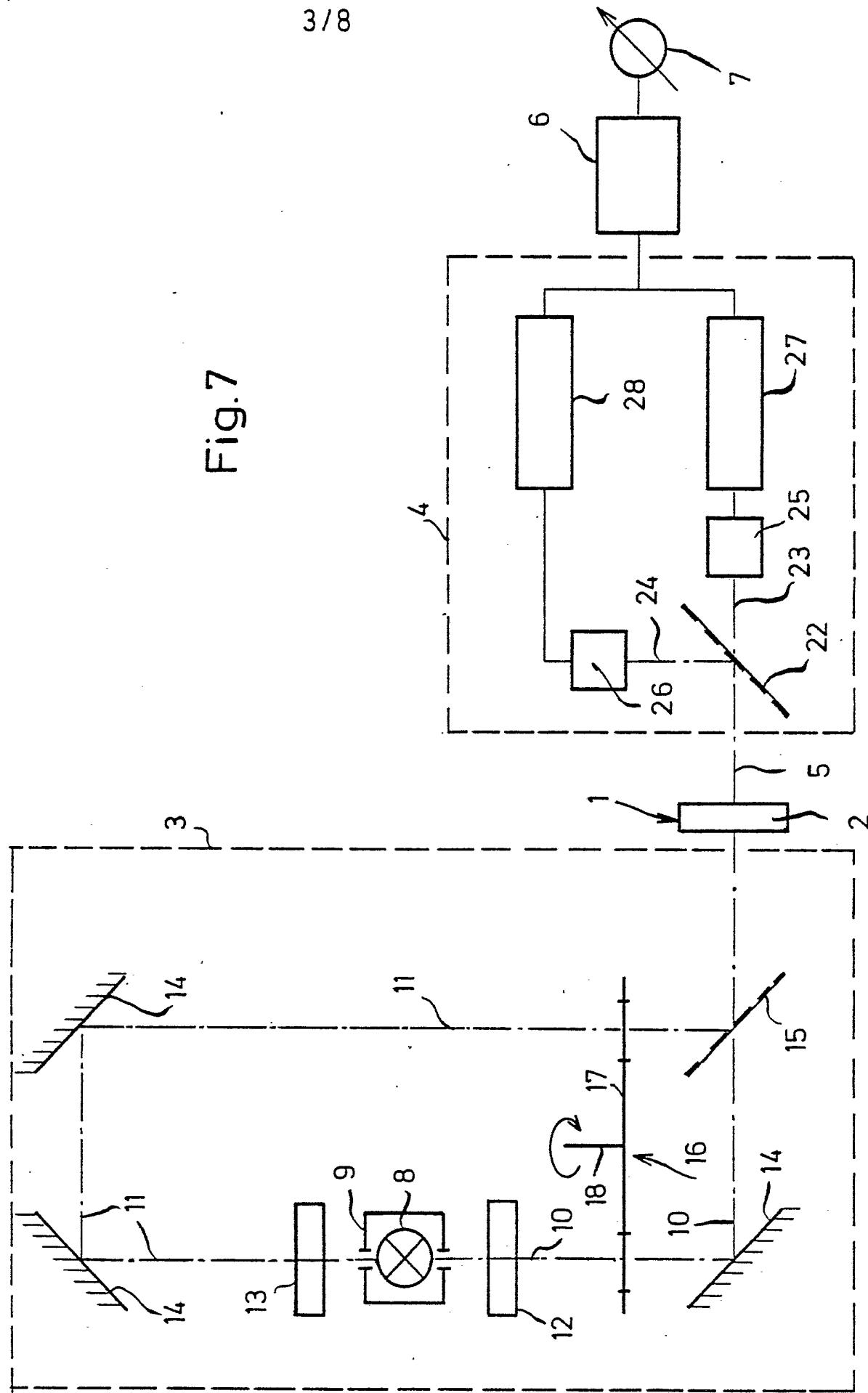
2 / 8

Fig. 6



3/8

Fig. 7



4/8

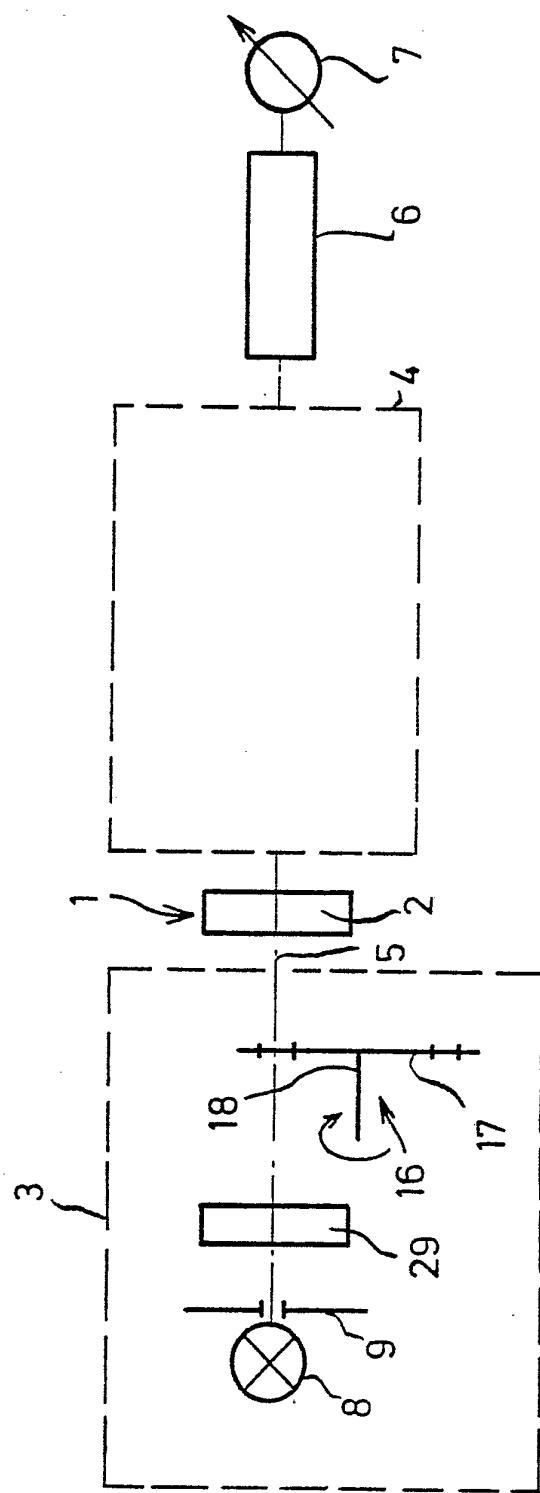


Fig. 8

5/8

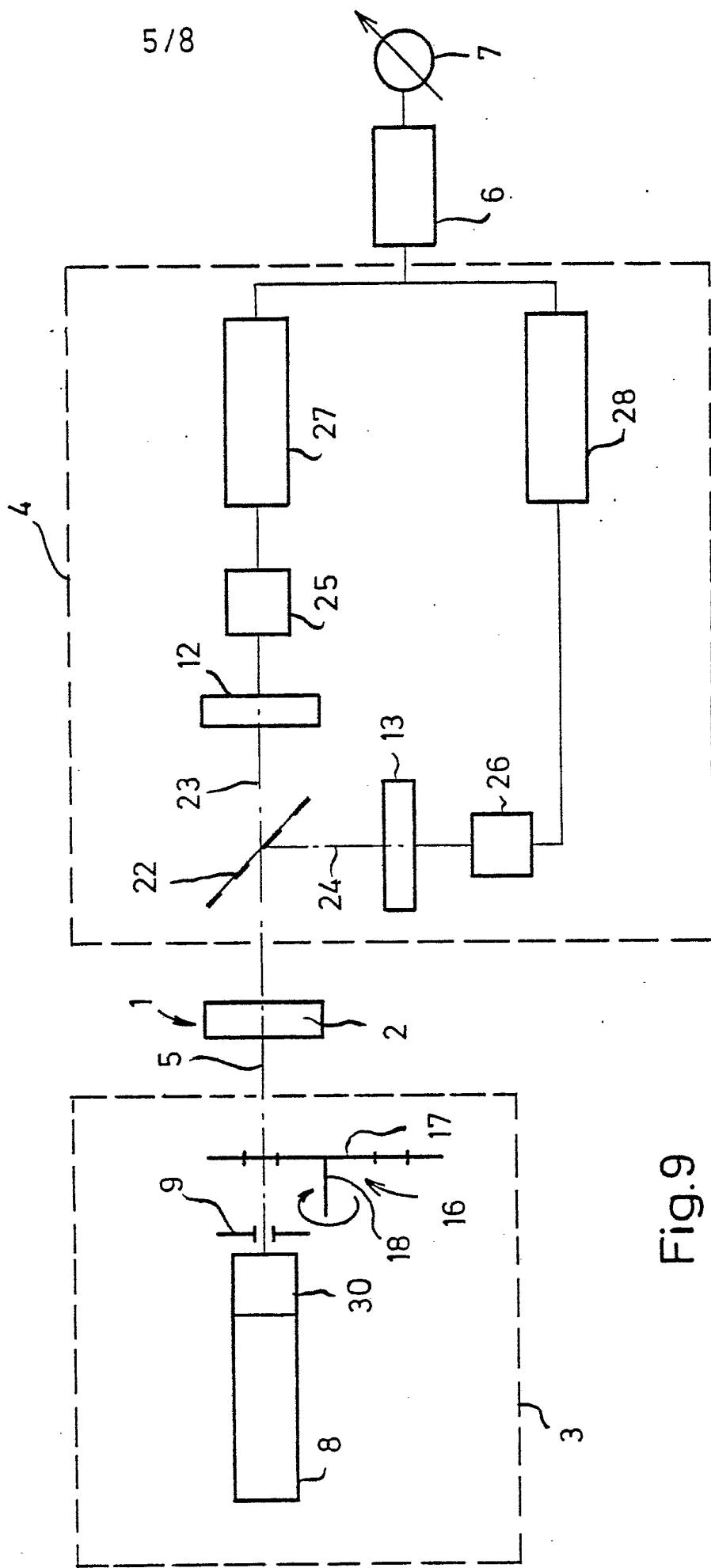
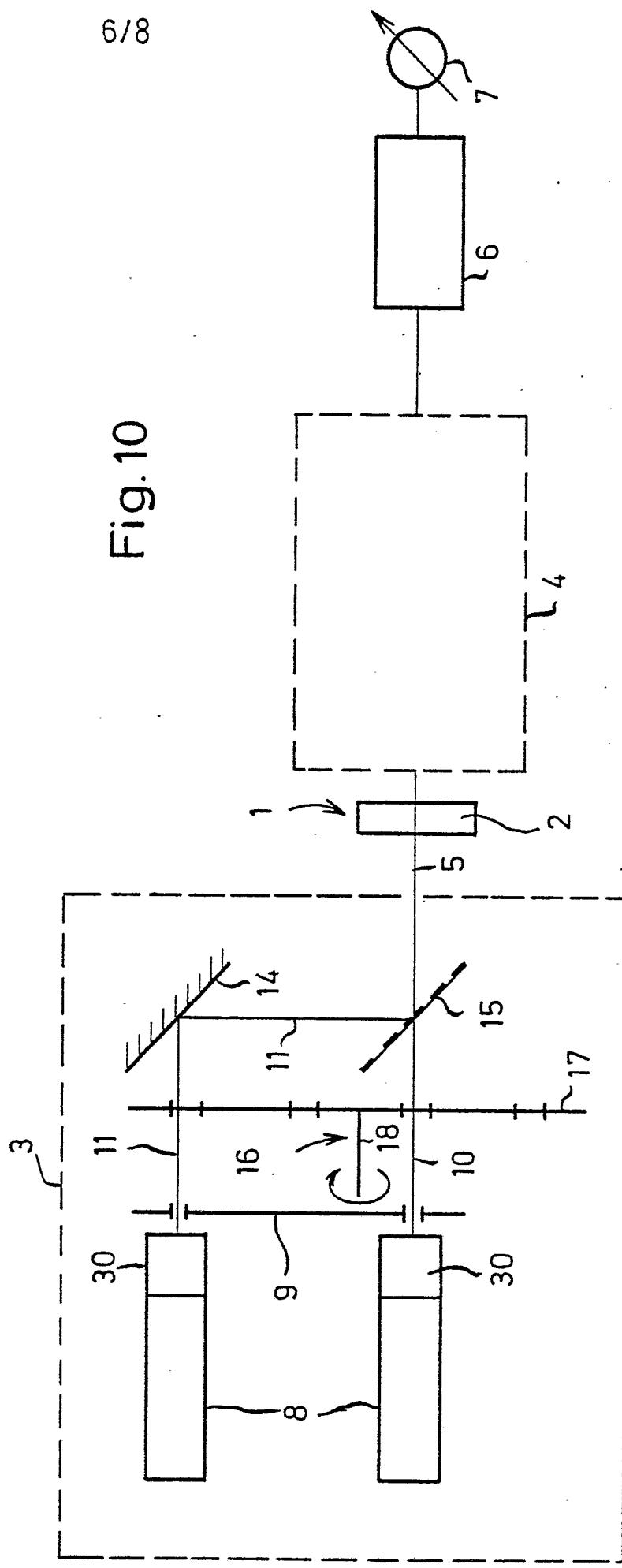


Fig.9

6/8

Fig. 10



7/8

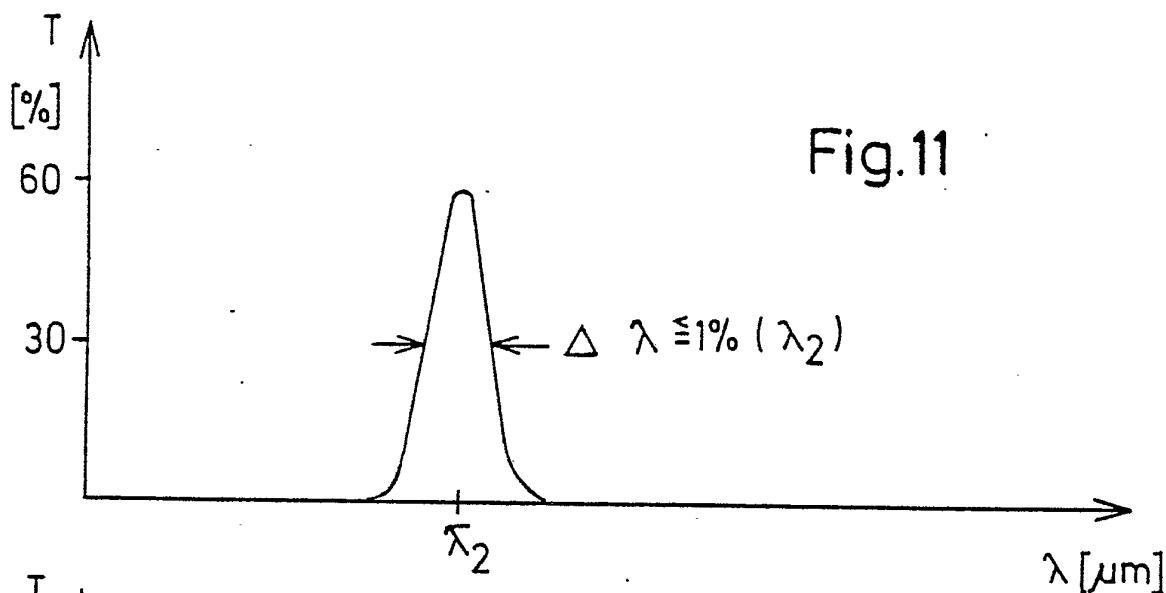


Fig.11

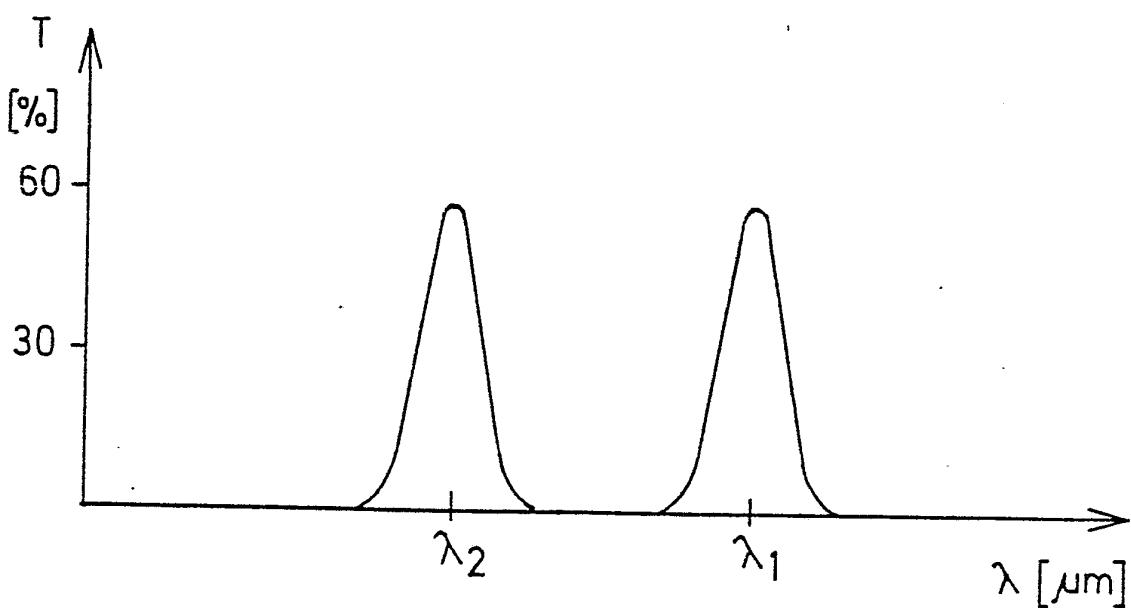
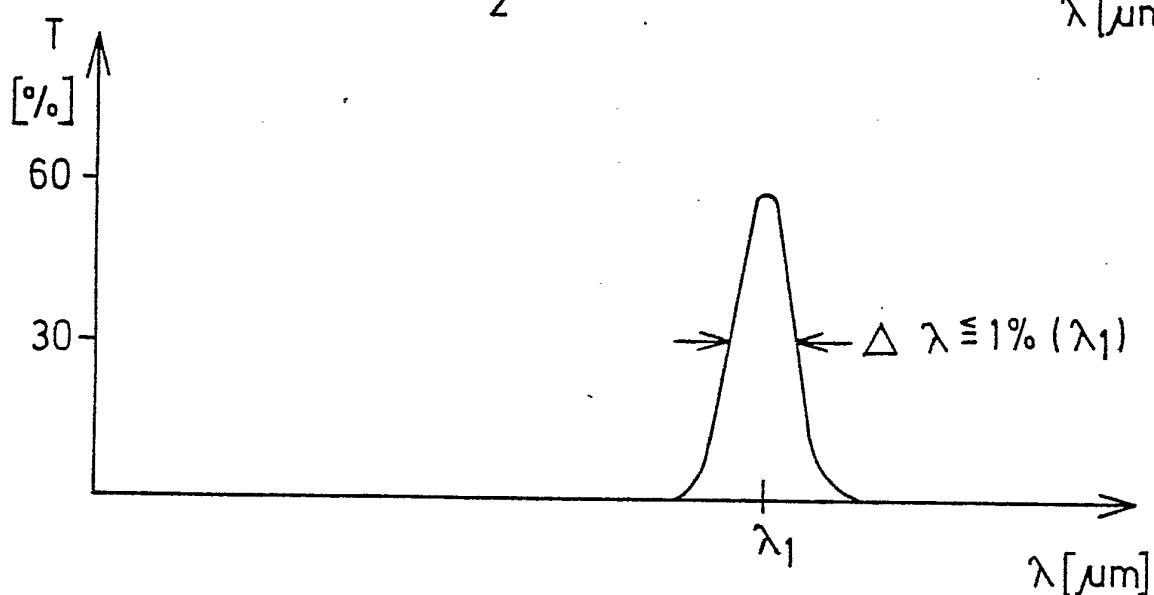
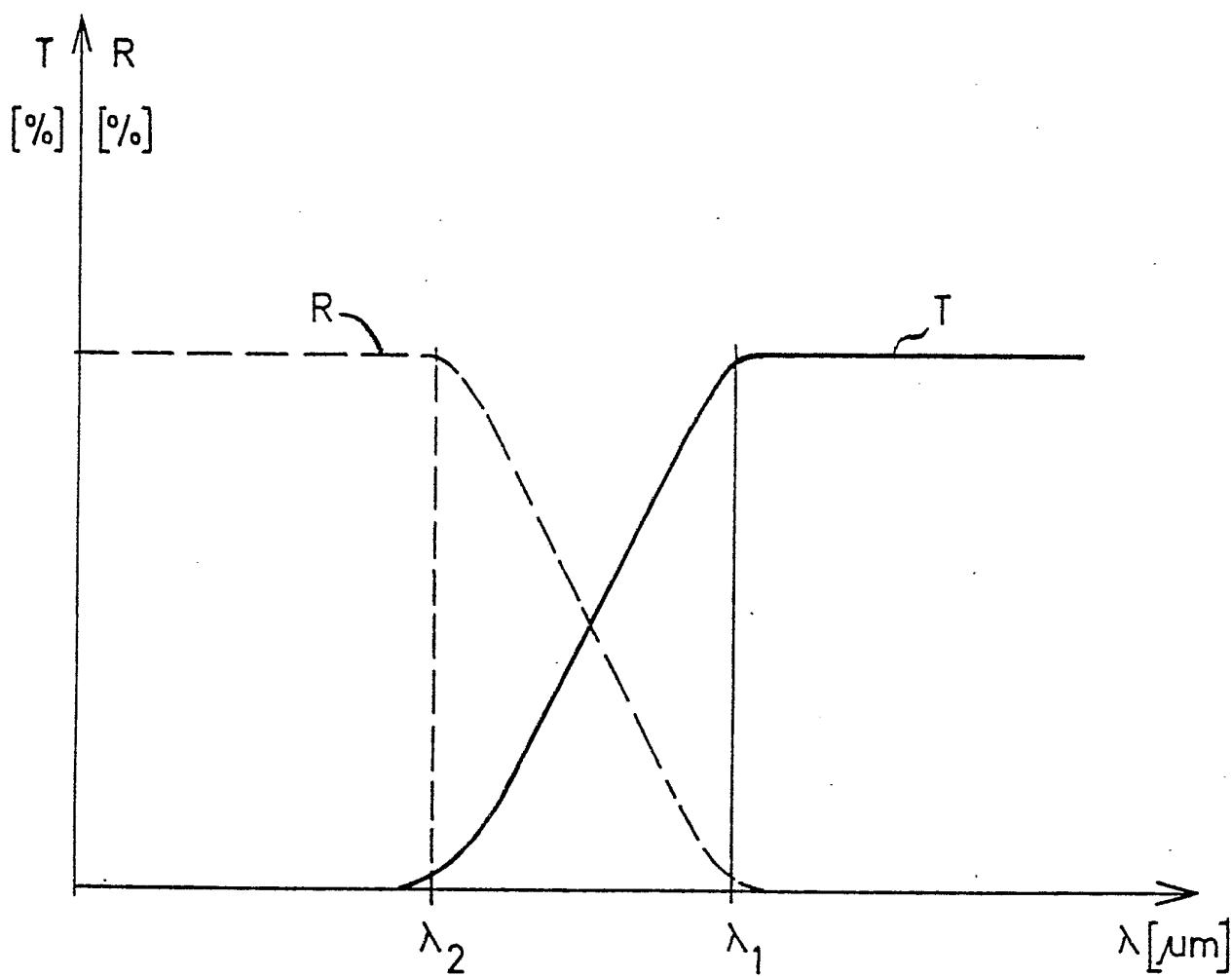


Fig.12



INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE 80/00119

I. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationsymbolen sind alle anzugeben) ³		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder sowohl nach der nationalen Klassifikation als auch nach der IPC		
Int.Cl. ³ : G 01 N 21/31		
II. RECHERCHIERTE SACHGEBiete		
Recherchierter Mindestprüfstoff ⁴		
Klassifikationssystem	Klassifikationsymbole	
Int.Cl. ³	G 01 N 21/31, G 01 N 21/35, G 01 N 33/66, G 01 N 33/48, G 01 N 21/25	
Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen ⁵		
III. ALS BEDEUTSAM ANZUSEHENDE VERÖFFENTLICHUNGEN¹⁴		
Art +	Kennzeichnung der Veröffentlichung, ¹⁶ mit Angabe, soweit erforderlich, der in Betracht kommenden Teile ¹⁷	Betr. Anspruch Nr. 18
A	Chemical Abstracts, Band 87, 1977, (Columbus, Ohio, US), H. Frye u.a., "A rapid, inexpensive, infrared screening method for elevated serum triglycerides", siehe Seite 247, ins- gesamt, Zusammenfassung Nr. 80.696R, siehe das ganze Dokument --- US, A, 4044257, veröffentlicht am 23. August 1977, siehe i.B. Spalten 2-5, L. Kreuzer --- US, A, 3459951, veröffentlicht am 05. August 1969, siehe i.B. Spalten 3-5, Figuren 1,3,8, J. Howarth et al. --- Applied Physics, Band 7, 1975, (Berlin, DE) G. Kraus, "Infrared absorption spec- troscopy of aqueous solutions with a CO ₂ laser", siehe Seiten 287-293, siehe i.B. Seiten 288, 290-291 ---	1, 3 1, 3, 9, 12, 15, 18 1, 3, 9, 11 1 . / .
	+ Besondere Arten von angegebenen Veröffentlichungen: ¹⁵	
	"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert "E" frühere Veröffentlichung, die erst am oder nach dem Anmeldedatum erschienen ist "L" Veröffentlichung, die aus anderen als den bei den übrigen Arten genannten Gründen angegeben ist "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht	"P" Veröffentlichung, die vor dem Anmeldedatum, aber am oder nach dem beanspruchten Prioritätsdatum erschienen ist "T" Spätere Veröffentlichung die am oder nach dem Anmeldedatum erschienen ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben wurde "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung
	IV. BESCHEINIGUNG	
Datum des tatsächlichen Abschlusses der Internationalen Recherche ² 21. November 1980	Absendeadatum des internationalen Recherchenberichts ² 02. Dezember 1980	
Internationale Recherchenbehörde ¹ EUROPÄISCHES PATENTAMT	Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten ²⁰ G.L.M. KRUYDENBERG	

III. ALS BEDEUTSAM ANZUSEHENDE VEROFFENTLICHUNGEN (FORTSETZUNG DER ANGABEN VON BLATT 2)		
Art*	Kennzeichnung der Veröffentlichung, ¹⁵ mit Angabe, soweit erforderlich, der in Betracht kommenden Teile ¹⁷	Betr. Anspruch Nr. ¹⁸
A	FR, A, 2341866, veröffentlicht am 16. September 1977, siehe i.B. Seiten 4,6-9, Figur 3, N. Kaiser ---	1,5,14,16, 18
A	US, A, 3675019, veröffentlicht am 04. Juli 1972, siehe i.B. Spalten 3-4, Figur 5, R. Hill u.a. ---	1,4,17
A	US, A, 3405268, veröffentlicht am 08. Oktober 1968, siehe i.B. Spalten 3-4, Figuren 1-2, D. Brunton -----	1,17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE80/00119

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (if several classification symbols apply, indicate all) ³

According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC

Int.Cl.3: G 01 N 21/31

II. FIELDS SEARCHED

Minimum Documentation Searched ⁴

Classification System	Classification Symbols
Int.Cl.3	G 01 N 21/31; G 01 N 21/35, G 01 N 33/66, G 01 N 33/48, G 01 N 21/25

Documentation Searched other than Minimum Documentation
to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched ⁵

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ¹⁴

Category ⁶	Citation of Document, ¹⁶ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹⁷	Relevant to Claim No. ¹⁸
	Chemical Abstracts, Bol. 87, 1977, (Columbus , Ohio, US), H. Frye u.a., "A rapid, inexpensive, infrared screening method for elevated serum triglycerides", see page 247 , abstract no. 80.696R, see the whole document	1,3
	US, A, 4044257, published on 23 August 1977 , see i.B. columns 2-5, L.Kreuzer	1,3,9,12,15 18
	US, A, 3459951, published on 5 August 1969 , see i.B. columns 3-5, figures 1,3,8, J.Howarth et al.	1,3,9,11
A	Applied Physics, vol. 7, 1975, (Berlin , DE,) G.Kraus, "Infrared absorption spectroscopy of aqueous solutions with a CO ₂ laser", see pages 287-293, see i.B. pages 288, 290-291	1
A	FR, A, 2341866, published on 16 September 1977, see i. B. pages 4,6-9, figure 3, N.Kaiser	1,5,14,16, 18
A	US, A, 3675019, published on 4 July 1972, see i.B. columns 3-4, figure 5, R. Hill u.a.	1,4,17
A	US, A, 3405268, published on 8 October 1968, see i.B. columns 3-4, figures 1-2, D.Brunton	1,17

* Special categories of cited documents: ¹⁵

"A" document defining the general state of the art

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document cited for special reason other than those referred to in the other categories

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but on or after the priority date claimed

"T" later document published on or after the international filing date or priority date and not in conflict with the application, but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance

IV. CERTIFICATION

Date of the Actual Completion of the International Search ³

21 November 1980 (21.11.80)

Date of Mailing of this International Search Report ²

2 December 1980 (02.12.80)

International Searching Authority ¹

European Patent Office

Signature of Authorized Officer ²⁰