



**Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein**  
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

**⑫ PATENTSCHRIFT A5**

⑯ Gesuchsnummer: 4084/80

⑬ Inhaber:  
Zdenek Maly, Kreuzlingen  
Vladislav Blazek, München (DE)

⑭ Anmeldungsdatum: 23.05.1980

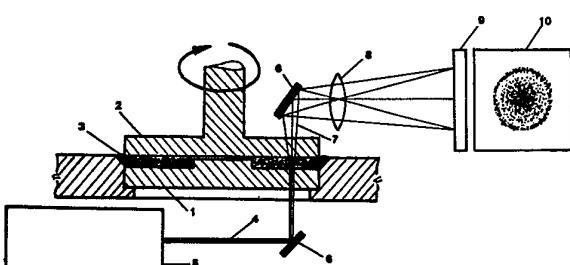
⑭ Erfinder:  
Maly, Zdenek, Kreuzlingen  
Blazek, Vladislav, München (DE)

⑮ Patent erteilt: 30.04.1985

⑯ Vertreter:  
Zdenek Maly, Kreuzlingen

**④ Vorrichtung zur Messung von dynamischen Eigenschaften von Mikropartikeln.**

⑦ Die einwirkenden Scherkräfte werden in einem definierten, mit der Suspension gefüllten Spalt zwischen zwei planen Körpern (1, 2), von denen wenigstens einer (2) beweglich ist, hervorgerufen. Bei der Bewegung des einen Körpers werden die Partikel (3), abhängig von der Geschwindigkeit der Bewegung und der Viskosität der Flüssigkeit, Scherkräften ausgesetzt, welche gewisse Form- und/oder Größen-Veränderungen hervorrufen. Die Messkörper mit der Partikelsuspension werden mit einem kohärenten Lichtstrahl (4) eines Lasers (5) durchstrahlt, wobei bei deren Durchgang an den Partikeln die Strahlung gestreut wird. Es entsteht ein Streubild der Strahlung (10), das optisch oder optoelektronisch erfasst wird. Aus den Differenzen der Streubilder zwischen unbelasteten und belasteten Partikeln werden deren dynamischen Eigenschaften bestimmt.



## PATENTANSPRÜCHE

1. Vorrichtung zur Messung von dynamischen Eigenschaften von in einer Flüssigkeit suspendierten Mikropartikeln durch Einwirkung von Scherkräften, dadurch gekennzeichnet, dass sie mindestens zwei plane, strahlungsdurchlässige Messkörper (1, 2) aufweist, von denen mindestens einer beweglich angeordnet ist, deren Flächen in einstellbarem Abstand gehalten sind und somit einen Spalt zur Aufnahme der Suspension (3) bilden und dass sie eine Quelle kohärenter Strahlung (5), sowie eine optische oder optoelektronische Einrichtung (9) zur Auswertung der an der durchgestrahlten Suspension entstandenen Streubilder (10) dieser Strahlung enthält.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass beide Messkörper (1, 2) beweglich angeordnet sind.

3. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass beide Messkörper als auswechselbares Element gestaltet sind.

4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1–3, dadurch gekennzeichnet, dass die Messkörper gegeneinander eine feste, unveränderbare Spaltbreite aufweisen.

5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1–4, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens einer der Messkörper (1, 2) als rotierende Scheibe ausgestaltet ist.

6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1–4, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens einer der Messkörper eine linear bewegbare Platte ist.

Die Erfindung bezieht sich auf eine Vorrichtung zur Messung von dynamischen Eigenschaften von in einer Flüssigkeit suspendierten Mikropartikeln unter Einwirkung von Scherkräften. Die einwirkenden Scherkräfte werden in einem konstanten oder veränderbaren, mit der Suspension gefüllten, Spalt zwischen zwei planen Körpern (z.B. Scheiben) aus einem lichtdurchlässigen Material, von denen einer fest und der andere beweglich ist, hervorgerufen. Bei der Bewegung des einen Körpers werden die Partikel, abhängig von der Geschwindigkeit der Bewegung und der Viskosität der Flüssigkeit, definierten Scherkräften ausgesetzt, welche gewisse Form- und/oder Größenveränderungen hervorrufen. Die Suspensionsschicht wird mit einem kohärenten Lichtstrahl (eines Lasers) durchleuchtet, wobei bei deren Durchgang durch die Suspensionsschicht an den Partikeln eine Streuung der Strahlung entsteht. Das entstandene Streubild der Strahlung ist von der Form bzw. Größe der Partikel abhängig. Die Differenzen der Streubilder von unbelasteten und belasteten Mikropartikeln werden optisch oder optoelektronisch erfasst und die dynamischen Eigenschaften von denselben ermittelt.

Unter Mikropartikeln werden Partikel einer Größe von 1 bis 50 Mikrometer verstanden und unter deren dynamischen Eigenschaften z.B. Veränderungen der Form oder Größe, entweder selbttätig oder unter Einfluss von äusseren Faktoren.

Die Messung von dynamischen Veränderungen von Mikropartikeln kann über deren Zustand und Eigenschaften aussagen, was besonders für biologische Untersuchungen und medizinische Diagnostik von Bedeutung ist. Als Beispiel kann die Messung von Deformabilität und innerer Viskoelastizität von Erythrozyten (rote Blutkörperchen) dienen, welche für die Bestimmung von Blutkonservenqualität und die Entwicklung von Konservierungsmethoden, sowie für medizinische Diagnostik von Blutkrankheiten von Bedeutung ist.

Es sind mehrere Methoden zur Messung von Deformabilität von Mikropartikeln bekannt und werden auch angewendet. Diese sind jedoch mit Nachteilen unterschiedlichen Grades behaftet.

a) Filtration von Partikelsuspension unter Druck oder Vacuum durch ein Sieb mit kalibrierten Öffnungen, die kleiner als die Partikel sind. Es wird ein Verhältnis zwischen der Anzahl der durchgeschlüpften und der zurückgebliebenen Partikel gemessen. Die Nachteile dieser Methode liegen darin, dass es nicht möglich ist, mit der gleichen Partikelgruppe die Messung zu wiederholen und dass die Relaxationszeit, d.h. die Zeitkonstante, in der die Partikel ihre ursprüngliche Form wiedererlangen, nicht ermittelt werden kann. Das Letztere ist eine wichtige Angabe zur Ermittlung der inneren Viskoelastizität der Partikel.

b) Deformation der Partikel durch zentrifugale Kräfte und deren Fixierung in deformiertem Zustand. Die Nachteile dieser Methode sind die gleichen, wie bei der Filtrations-Methode. Nachdem nur einzelne Partikel gemessen werden, ist es schwierig, Angaben über eine Gruppe von Partikeln zu gewinnen.

c) Elongation eines an einem Punkt fixierten Partikels in strömender Flüssigkeit. Von der langwierigen Präparation des Partikels bis zur Messung abgesehen, können die gleichen Nachteile wie bei a) und b) genannt werden. Dagegen ist es aber möglich, die Relaxationszeit, z.B. aus Videoaufnahmen zu messen.

d) Elongation eines Partikels beim Einsaugen in eine Micropipette unter definierter Kraft. Mit dieser Methode werden vorwiegend die Eigenschaften von Zellmembranen ermittelt. Die Nachteile sind gleich wie bei c).

e) Deformation von Partikeln in Suspension, die einen Spalt zwischen zwei zentrischen Zylindern, von denen einer fest ist und der andere rotiert, ausfüllt. Die bei der Rotation entstehenden Scherkräfte deformieren die Partikel. Die gemessene Suspension ist mit einem kohärenten Licht durchstrahlt und das dabei entstandene Streubild wird auf einer Photoplatte fixiert und ausgewertet. Die Nachteile dieser Messanordnung sind:

- Der Lichtstrahl wird an den zylindrischen Flächen teilweise deformiert und das Streubild, besonders bei der Rotation, verzerrt.

- Schwierige Reinigung der Zylinder und der Probenwechsel.

- Nach jedem Probenwechsel müssen die Zylinder optisch zentriert werden.
- Sedimentation der Partikel beim Stillstand.
- Die Spaltbreite kann ohne Zylinderwechsel nicht verändert werden.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Mess-Vorrichtung zu schaffen, die die vorstehend genannten Mängel beseitigt, indem sie folgende technische Kriterien erfüllt:

a) Messung von dynamischen Eigenschaften von Mikropartikeln in breitem Bereich der einwirkenden Kräfte, wobei Deformation (Elongation) und Relaxation der Partikel als wichtigste Eigenschaften erfasst werden müssen.

b) Wiederholbarkeit der Messung mit der gleichen Partikelgruppe unter konstanten oder veränderten Bedingungen und Erfassung der Messdaten in beliebiger Phase der Untersuchung.

c) Veränderbarkeit der Prüfbedingungen ohne Umbau der Vorrichtung oder Umfüllen der Prüfsubstanz.

d) Einfacher und leichter Probenwechsel durch schnelle Reinigung der Mess-Vorrichtung oder durch auswechselbare Messelemente.

e) Weitgehende Eliminierung der Sedimentation der Partikel beim Stillstand.

f) Benutzung einer optischen oder optoelektronischen Einrichtung, die eine graphische und/oder mathematische Auswertung der Daten (mit eventuellem Anschluss an EDV) erlaubt.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, dass

die Messung an in einer Flüssigkeit suspendierten Mikropartikeln durch Einwirkung von Scherkräften in einer Vorrichtung erfolgt, welche mindestens zwei plane, strahlungsdurchlässige Messkörper (1, 2) aufweist, von denen mindestens einer beweglich angeordnet ist, deren Flächen in einstellbarem Abstand gehalten sind und somit einen Spalt zur Aufnahme der Suspension (3) bilden und dass sie eine Quelle kohärenter Strahlung (5), sowie eine optische oder optoelektronische Einrichtung (9) zur Auswertung der an der durchgestrahlten Suspension entstandenen Streubilder (10) dieser Strahlung enthält.

Während des Messvorganges wird der bewegliche Messkörper in Bewegung gesetzt, wobei die der Oberfläche nähere Flüssigkeitsschichten mitbewegt werden. Die Bewegung wird jedoch von der Oberfläche des festen Messkörpers gebremst und somit entstehen in der dünnen Flüssigkeitsschicht Scherkräfte deren Stärke von der Viskosität der Flüssigkeit und der Geschwindigkeit des Messkörpers abhängen. Diesen Scherkräften ausgesetzte Partikel verändern dabei ihre Form oder Grösse, wenn sie eine Elastizität aufweisen.

Beim Durchstrahlen der Suspensionsschicht mit kohärenter Strahlung wird diese an den Partikeln gestreut. Es entsteht ein Streubild (Fig. 2) der Strahlung, wobei Veränderungen der Partikel wie z.B. Elongation, als Deformation des Streubildes erscheinen (Fig. 3). Durch optische oder optoelektronische Erfassung der Streubilder und Auswertung der Deformation ist es möglich, schnell und einfach die dynamischen Eigenschaften der Partikel zu bestimmen.

Im Folgenden wird die Erfindung anhand von Ausführungsbeispielen und Zeichnungen erläutert. Es zeigen

Fig. 1 die schematische Anordnung von Komponenten der Messvorrichtung,

Fig. 2 ein Streubild einer unbelasteten Suspension,

Fig. 3 ein Streubild einer mit Scherkraft belasteten Suspension,

Fig. 4 die Anordnung der Messkörper mit konstantem (a) und veränderbarem (b) Spalt,

Fig. 5 die Anordnung mit auswechselbaren Messkörpern, entweder mit eingelegten Distanzscheiben (5a) oder mit integrierter Distanzform (5b),

Fig. 6 eine Anordnung der Messkörper zur Messung bei linearer Bewegung.

In Fig. 1 ist die Messvorrichtung schematisch dargestellt. In dem Spalt zwischen dem festen Messkörper 1 und dem beweglichen (rotierenden) Messkörper 2 befindet sich die Suspension der untersuchten Partikel 3. Kohärente Strahlung 4 eines Lasers 5 wird durch die Messkörper und die Suspension geführt oder mit Hilfe von Prismen oder Spiegeln 6 gelenkt,

wobei eine Streuung 7 der Strahlung an den Partikeln entsteht. Die so veränderte Strahlung, über ein optisches System 8 geführt, wird von einem System optischer oder optoelektronischer Detektoren 9 aufgenommen und ausgewertet. Die Auswertung der Streubilder wird in Fig. 2 und 3 bei der Messung der Deformabilität von Erythrozyten (roten Blutkörperchen) demonstriert. In Fig. 2 ist ein Streubild 11 einer Suspension bei Stillstand des Messkörpers, also bei Null-Scherkraft und ein entsprechendes Diagramm der Intensität und Strahlungsverteilung 12 in der Bildebene dargestellt.

Fig. 3 zeigt ein Streubild 11' bei rotierendem Messkörper, somit bei der Einwirkung von Scherkräften auf die Erythrozyten, sowie ein entsprechendes Diagramm 12' der Strahlungsverteilung in der Bildebene. Die Berechnung der Deformabilität erfolgt nach der Formel

$$\frac{d}{d_0} = \frac{a_0}{a_1}$$

20

wobei  $d$  die durch die Deformation entstandene Elongation der Erythrozyten,  $d_0$  deren Durchmesser,  $a_0$  und  $a_1$  die Abstände der Strahlungsminima im Streubild sind.

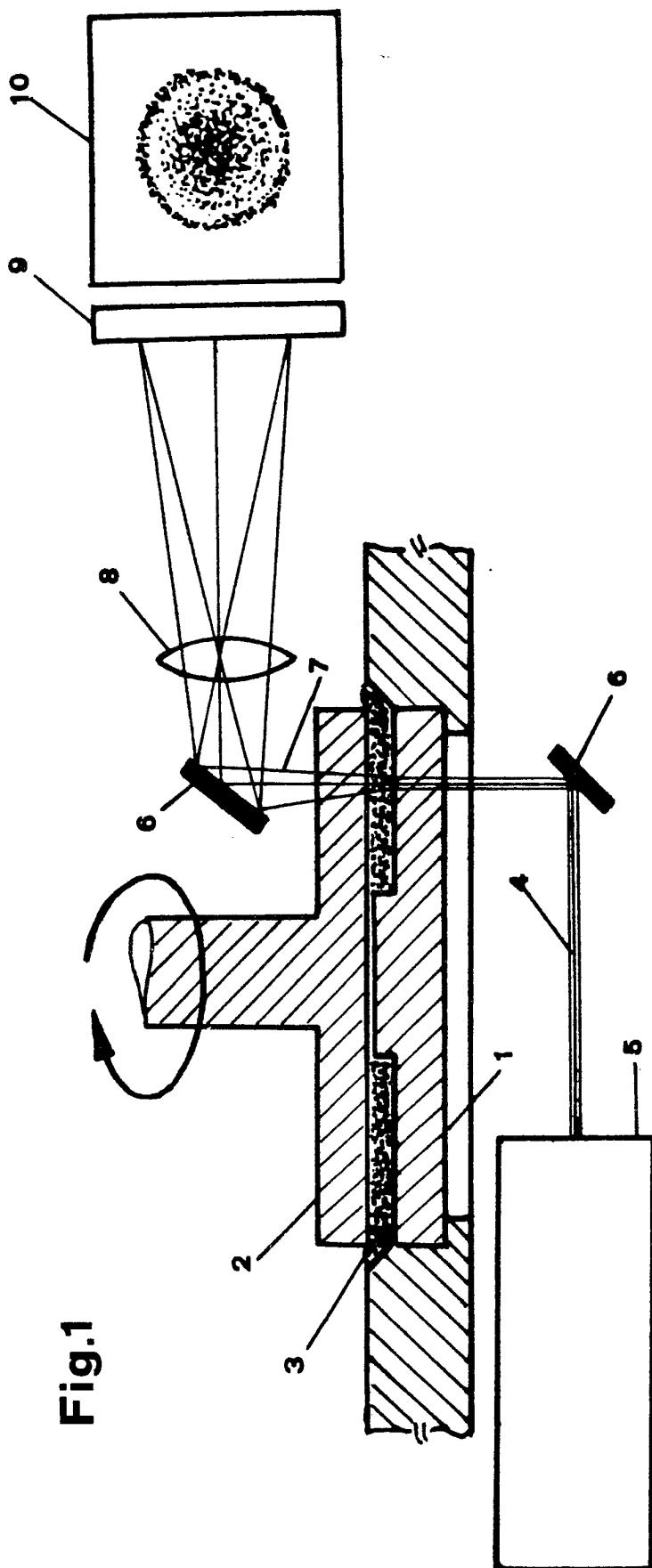
In nachfolgenden Beispielen und Zeichnungen sind die grundsätzlichen Ausführungen der Messkörper und die Messanordnungen aufgeführt.

Fig. 4 stellt die Messkörper als zwei runde Scheiben dar, von denen eine, z.B. die untere (1), fest und die andere, z.B. die obere (2) rotierend angeordnet sind. Der Messspalt kann durch feste Distanzscheiben (Fig. 4a) oder mittels eines beweglichen Kolbens (Fig. 4b) eingestellt werden.

In Fig. 5 ist für eine grössere Anzahl zu untersuchender Proben eine Anordnung der beiden Messkörper 1 und 2 als auswechselbares Element dargestellt. Der Spalt zur Aufnahme der Partikelsuspension wird mit eingelegten Distanzscheiben (Fig. 5a) eingestellt oder mittels integrierter Distanzform (Fig. 5b) definiert.

Bei manchen Mikropartikeln erfolgt deren volle Deformation augenblicklich mit dem Einsetzen der Scherkräfte und somit ist eine aussagekräftige Messung solcher Partikel auch bei kurzer, linearer Bewegung der Messkörper möglich.

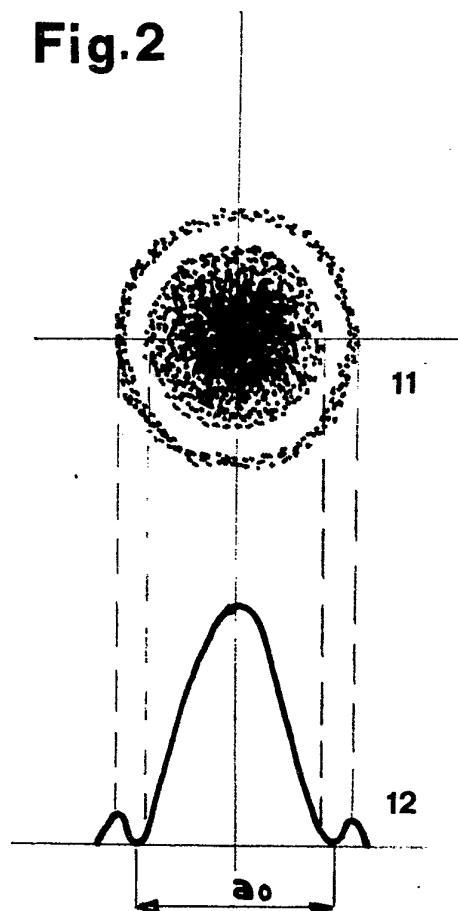
In Fig. 6 ist eine Anordnung der Messkörper zur Messung bei linearer Bewegung dargestellt. Die Grundplatte 22 ist mit Führungs- und gleichzeitig Distanzschielen 20 versehen, in denen die zweite Platte 1 mit einstellbarer Geschwindigkeit bewegt wird. Der Messspalt wird durch feste oder verstellbare Distanzschielen eingestellt.



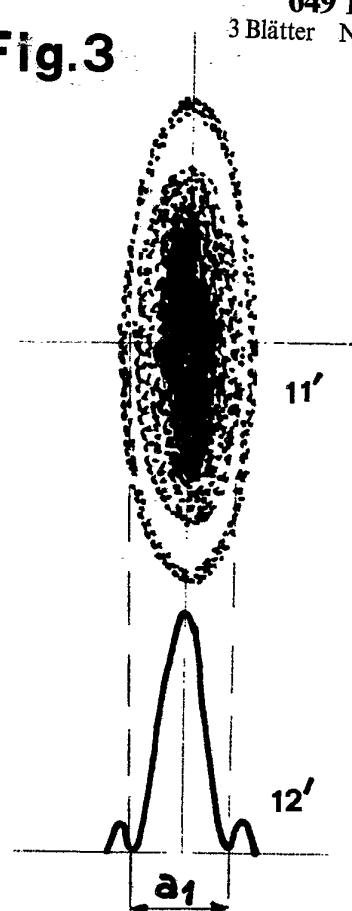
649 155

3 Blätter Nr. 2

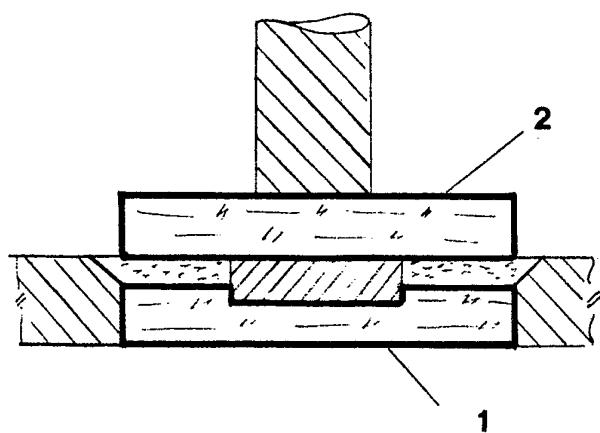
**Fig.2**



**Fig.3**

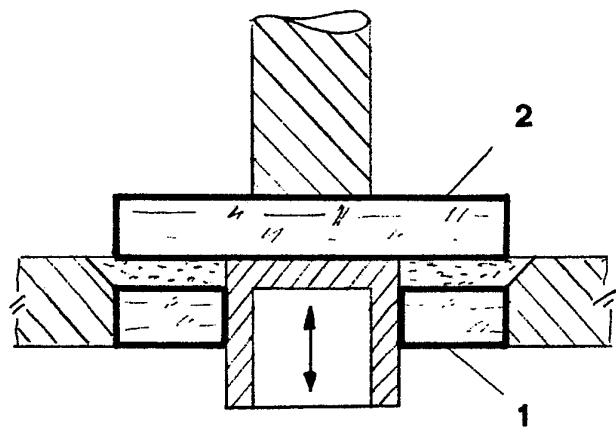


**a**

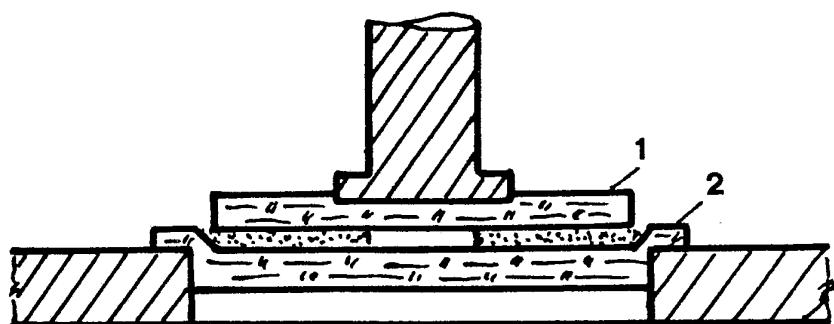


**Fig.4**

**b**

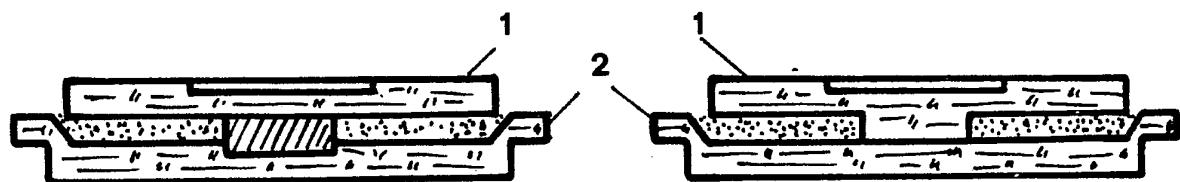


**Fig.5**



**Fig.5a**

**Fig.5b**



**Fig.6**

