

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

(19) Weltorganisation für geistiges
Eigentum

Internationales Büro

(43) Internationales
Veröffentlichungsdatum
1. Oktober 2015 (01.10.2015)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2015/143467 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation:
G01N 15/14 (2006.01) *G01N 11/00* (2006.01)
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/AT2015/050072
- (22) Internationales Anmeldedatum:
20. März 2015 (20.03.2015)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
A 50221/2014 26. März 2014 (26.03.2014) AT
- (71) Anmelder: TECHNISCHE UNIVERSITÄT WIEN
[AT/AT]; Karlsplatz 13, A-1040 Wien (AT). AC2T
RESEARCH GMBH [AT/AT]; Viktor-Kaplan-Strasse 2,
A-2700 Wiener Neustadt (AT).
- (72) Erfinder: HAIDEN, Christoph; Kirchengasse 141, A-
2732 Würflach (AT). JECH, Martin; Hintzerstrasse 9/11,
A-1030 Wien (AT). VELLEKOOP, Michael; Riensberger
Strasse 60, 28359 Bremen (DE). WOPELKA, Thomas;
Zieglergasse 34/18, A-1070 Wien (AT).
- (74) Anwalt: KLIMENT & HENHAPEL
PATENTANWÄLTE OG; Singerstrasse 8/3/9, 1010
Wien (AT).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW,
BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,
DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA,
SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM,
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST,
SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG,
KZ, RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH,
CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE,
IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO,
RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz
3)

(54) Title: APPARATUS FOR MEASURING NANOPARTICLES AND METHOD FOR DETERMINING THE DIAMETER OF
NANOPARTICLES IN A LIQUID

(54) Bezeichnung : VORRICHTUNG ZUR MESSUNG VON NANOPARTIKELN UND VERFAHREN ZUR BESTIMMUNG
DER DURCHMESSER VON NANOPARTIKELN IN EINER FLÜSSIGKEIT

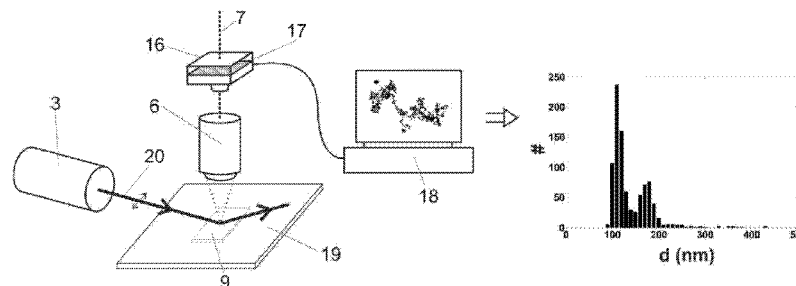


Fig. 1

(57) Abstract: Apparatus for measuring nanoparticles (1) in a liquid (2), comprising a light source (3), a channel (4) for accommodating the liquid (2), wherein the channel (4) is transmissive, at least in sections, for light emitted by the light source (3) and has a channel height (5), the apparatus also comprising an optical structure (6) and a two-dimensional detector (17) for recording a series of images produced from the optical structure (6), wherein the light source (3), the channel (4) and the optical structure (6) are in a dark field arrangement in order to pick up light, which is emitted by the light source (3) and is scattered at the nanoparticles (1), by means of the optical structure (6) using the detector (17), wherein positions of diffraction images of the light (21) scattered at the nanoparticles (1) on the detector (17) can be determined. In order to make it possible to determine long trajectories (26, 27) of the nanoparticles (1), the channel height (5) and the optical structure (6) are designed in such a manner that the depth of field DOF of the optical structure (6) is at least 10%, preferably at least 30%, of the channel height (5).

(57) Zusammenfassung:

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]



Vorrichtung zur Messung von Nanopartikeln (1) in einer Flüssigkeit (2), umfassend eine Lichtquelle (3), einen Kanal (4) zur Aufnahme der Flüssigkeit (2), wobei der Kanal (4) zumindest abschnittsweise für von der Lichtquelle (3) emittiertes Licht durchlässig ist und eine Kanalhöhe (5) aufweist, die Vorrichtung weiters umfassend einen optischen Aufbau (6) und einen zweidimensionalen Detektor (17) zur Aufnahme einer Serie von vom optischen Aufbau (6) erzeugten Bildern, wobei die Lichtquelle (3), der Kanal (4) und der optische Aufbau (6) in einer Dunkelfeldanordnung vorliegen, um Licht, das von der Lichtquelle (3) emittiert und an den Nanopartikeln (1) gestreut wird, durch den optischen Aufbau (6) mit dem Detektor (17) aufzunehmen, wobei Positionen von Beugungsbildern des an den Nanopartikeln (1) gestreuten Lichts (21) auf dem Detektor (17) bestimmbar sind. Um die Bestimmung langer Trajektorien (26, 27) der Nanopartikel (1) zu ermöglichen, die Kanalhöhe (5) und der optische Aufbau (6) so ausgelegt sind, dass die Schärfentiefe DOF des optischen Aufbaus (6) mindestens 10%, vorzugsweise mindestens 30% der Kanalhöhe (5) beträgt.

5 **VORRICHTUNG ZUR MESSUNG VON NANOPARTIKELN UND VERFAHREN ZUR
BESTIMMUNG DER DURCHMESSER VON NANOPARTIKELN IN EINER
FLÜSSIGKEIT**

GEBIET DER ERFINDUNG

- 10 Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf eine Vorrichtung zur Messung von Nanopartikeln in einer Flüssigkeit, umfassend eine Lichtquelle, einen Kanal zur Aufnahme der Flüssigkeit, wobei der Kanal zumindest abschnittsweise für von der Lichtquelle emittiertes Licht durchlässig ist und eine
- 15 Kanalhöhe aufweist, die Vorrichtung weiters umfassend einen optischen Aufbau und einen zweidimensionalen Detektor zur Aufnahme einer Serie von vom optischen Aufbau erzeugten Bildern, wobei die Lichtquelle, der Kanal und der optische Aufbau in einer Dunkelfeldanordnung vorliegen, um Licht, das
- 20 von der Lichtquelle emittiert und an den Nanopartikeln gestreut wird, durch den optischen Aufbau mit dem Detektor aufzunehmen, wobei Positionen von Beugungsbildern des an den Nanopartikeln gestreuten Lichts auf dem Detektor bestimmbar sind.
- 25 Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem ein Verfahren zur Bestimmung der Durchmesser von Nanopartikeln in einer Flüssigkeit.

Schließlich betrifft die Erfindung die Verwendung der erfindungsgemäßen Vorrichtung.

STAND DER TECHNIK

Zur Bestimmung der Größe von in Flüssigkeiten suspendierten Teilchen ist es bekannt, deren Brownsche Bewegung zu messen. Hierbei werden mit sogenannten Particle Tracking-Verfahren die Trajektorien der Teilchen bestimmt, beispielsweise indem die Teilchen direkt mit einem Mikroskop vergrößert abgebildet werden und eine Serie von Bildern bzw. ein Video des vom Mikroskop erzeugten, zweidimensionalen Bilds aufgenommen wird. Auf diese Weise lassen sich jedoch nur Teilchen messen, die größer als die verwendete Lichtwellenlänge sind.

Bei kleineren Teilchen wie Nanopartikeln, insbesondere bei Nanopartikeln, deren Durchmesser im Bereich von 10 nm bis 200 nm liegt, kann eine Dunkelfeldanordnung verwendet werden. Hierbei wird nur Licht, das von einer Lichtquelle emittiert und an den Nanopartikeln gestreut wird, vom Mikroskop eingefangen und vergrößert. D.h. statt den direkten Abbildern der Teilchen werden nur deren Beugungsbilder mit dem Mikroskop vergrößert abgebildet. Da die Teilchengröße wesentlich kleiner ist als die verwendete Lichtwellenlänge besteht das Beugungsbild jedes Nanopartikels aus dessen Point Spread Function (manchmal auch als Punktspreizfunktion bezeichnet), die im Wesentlichen als Beugungsscheibchen (u.a. auch als Airy-Scheibchen bezeichnet) erscheint. Die Trajektorie jedes Teilchens entspricht der Spur des wandernden Schwerpunkts des zugehörigen Beugungsscheibchens.

Somit lässt sich für jede Trajektorie das mittlere Verschiebungsquadrat als Funktion des zeitlichen Abstands (auch als „time lag“ bezeichnet) von zwei betrachteten Nanopartikel-Positionen bzw. Bildern berechnen. Durch Anpassen einer Geraden erhält man den Diffusionskoeffizienten für die Diffusion des jeweiligen Nanopartikels in zwei Dimensionen. Kenntnis der Viskosität der Flüssigkeit erlaubt mittels der Stokes-Einstein-Gleichung die Berechnung eines Durchmessers

des Nanopartikels. Dabei handelt es sich um dessen hydrodynamischen Durchmesser, der im Allgemeinen etwas größer sein kann als der Durchmesser des freien Nanopartikels, da das Nanopartikel in der Flüssigkeit z.B. von einer Solvathülle umgeben sein kann.

Problematisch bei dem oben geschilderten Verfahren ist, dass die Länge der aufnehmbaren Trajektorien in der Praxis stark beschränkt ist, da die Diffusion der Nanopartikel tatsächlich nicht auf zwei Dimensionen beschränkt ist, sondern auch in einer dritten Dimension stattfindet. Dies hat zur Folge, dass sich jedes Nanopartikel nur eine beschränkte Zeit in jenem Bereich der Flüssigkeit aufhält, der im Mikroskop scharf gestellt ist. Verlässt das jeweilige Nanopartikel diesen Bereich, erscheint sein Streubild unscharf und ausgewaschen und verschwimmt schließlich im Hintergrund, sodass eine Positionsbestimmung bzw. eine Schwerpunktsbestimmung des Beugungsbilds des Nanopartikels unmöglich ist. D.h. das Beugungsbild des jeweiligen Nanoteilchens ist typischerweise in maximal einigen zehn aufeinander folgenden Bildern für eine Auswertung hinreichend gut erkennbar. Entsprechend kurz ist die zugehörige auswertbare Trajektorie, die für die Berechnung des mittleren Verschiebungsquadrates herangezogen werden kann, was sich wiederum negativ im Hinblick auf den Fehler des ermittelten Durchmessers des Nanoteilchens auswirkt.

Aus der WO 2012004320 A1 ist ein Verfahren zur Bestimmung der Größe oder formbezogener Parameter eines effektiven Beobachtungsvolumens für Partikel, die in einer Dispersion zumindest teilweise eine stochastische Bewegung vollführen, mittels Single Particle Tracking (SPT) bekannt. Hierbei wird die zumindest teilweise stochastische Bewegung der Partikel modelliert. Eine Dunkelfeld-Messanordnung wird nicht diskutiert.

Aus A. Malloy et al., Part. Part. Syst. Charact. 23, 197 (2006) sind SPT-Messungen mit einem kommerziellen System bekannt, wobei Laserlicht aufgenommen wird, das an den sich in einer Dispersion befindenden Partikeln gestreut worden ist.

- 5 Das tatsächlich untersuchte Volumen ist viele Größenordnungen kleiner als das gesamte Probenvolumen. Auf die Problematik der nicht gemessenen Bewegung der Partikel in der z-Ebene wird lediglich hingewiesen.

- 10 Aus der CN 201984012 U ist statt eines Particle Tracking-Verfahrens eine spezielle Ausführungsform von dynamischer Lichtstreuung zur Untersuchung von Nanopartikeln bekannt, wobei das gestreute Licht nicht Punkte, sondern Spuren auf dem Detektor erzeugt. Aus der Länge der Spuren wird auf die Partikelgröße zurück gerechnet.

- 15 Aus der GB 2493391 A ist eine Kombination von Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) und dynamischer Lichtstreuung (DLS) bekannt, wobei das DLS-Ergebnis durch zuvor mittels NTA gewonnener Information verbessert wird.

- 20 Aus der KR 20040088012 A ist statt eines Particle Tracking-Verfahrens ein System basierend auf dynamischer Lichtstreuung zur Größenbestimmung von Partikeln bekannt.

AUFGABE DER ERFINDUNG

- 25 Es ist daher Aufgabe der vorliegenden Erfindung eine Vorrichtung und ein Verfahren zur Verfügung zu stellen, die den oben genannten Nachteil vermeiden und die Bestimmung langer Trajektorien ermöglichen, um den Durchmesser von Nanopartikeln in Flüssigkeiten besonders genau bestimmen zu können.

DARSTELLUNG DER ERFINDUNG

Um die genannte Aufgabe für die Bestimmung der Durchmesser von Nanopartikeln, insbesondere im Bereich von 10 nm bis 200 nm, in einer Flüssigkeit zu lösen, wird die Flüssigkeit in einem

5 Kanal mit einer gewissen Kanalhöhe gemessen. Der Kanal ist zumindest für Licht, das von einer Lichtquelle emittiert wird, durchlässig. Das Licht wird an den Nanopartikeln gestreut, und nur das gestreute Licht wird mittels eines optischen Aufbaus und einem nachgeschalteten zweidimensionalen Detektor

10 aufgenommen, dessen sensitive Fläche in Pixel einteilbar ist und der insbesondere als Bildsensor ausgeführt sein kann. Beim optischen Aufbau kann es sich um ein System mit Spiegeln, Linsen (insbesondere umfassend ein Objektiv), Filtern etc. handeln. Insbesondere kann der optische Aufbau durch ein

15 Mikroskop realisiert sein.

D.h. der optische Aufbau bzw. das Mikroskop erzeugt im Allgemeinen ein vergrößertes Bild, welches die Beugungsbilder der Nanopartikel enthält, wobei jedes Beugungsbild im Wesentlichen ein Beugungsscheibchen ist. Licht, das direkt von

20 der Lichtquelle kommt oder spekulär reflektiert wird, gelangt hingegen nicht in den optischen Aufbau bzw. ins Mikroskop und wird entsprechend auch nicht am Detektor bzw. Bildsensor detektiert. Mit anderen Worten liegt eine Dunkelfeldanordnung der Lichtquelle, des Kanals bzw. der Flüssigkeit im Kanal und

25 dem optischen Aufbau vor.

Um in der Folge Positionsveränderungen bzw. Trajektorien der Nanopartikel verfolgen zu können, ist es wichtig, dass die Position jedes Beugungsbilds bzw. jedes Beugungsscheibchens im aufgenommenen Bild eindeutig bestimmt werden kann,

30 beispielsweise indem sein Umriss und/oder sein Schwerpunkt bestimmt werden. Zu diesem Zweck müssen die Vergrößerung des optischen Aufbaus und die Pixeldichte des Detektors so

aufeinander abgestimmt sein, dass eine eindeutige Bestimmung der Position jedes Beugungsbilds sinnvoll möglich ist.

Wenn der Schwerpunkt jedes Beugungsbilds bestimmt werden soll, ist es in der Praxis ausreichend, wenn jedes

- 5 Beugungsscheibchen so groß am Detektor erscheint, dass es zumindest auf 2×2 Pixeln abgebildet wird. D.h. die Pixeln des Detektors sind entlang von zwei Richtungen, im Folgenden x und y genannt, angeordnet und überdecken somit eine Fläche, wobei die Beugungsscheibchen durch den optischen Aufbau so groß
- 10 vergrößert werden bzw. die Pixel so klein sind, dass zwei Pixel in x-Richtung und zwei Pixel in y-Richtung zumindest abschnittsweise durch das jeweilige Beugungsscheibchen überdeckt werden. Die Position des Schwerpunkts jedes Beugungsscheibchens ist dann mit einer Genauigkeit von weniger
- 15 als einem Pixel bestimmbar, entsprechend können jedem Schwerpunkt eine x- und eine y-Koordinate zugewiesen werden. Für den Fall, dass die Pixel des Detektors so klein sind, dass keine Vergrößerung benötigt wird, kann der optische Aufbau auf vergrößernde Element verzichten und z.B. im Wesentlichen aus
- 20 einem Loch bestehen, durch das das gestreute Licht auf den Detektor tritt.

Um nun Trajektorien der Nanopartikel zu ermitteln, wird eine Serie von Bildern aufgenommen und die Positionen der

- 25 Beugungsbilder/Beugungsscheibchen der Nanopartikel in jedem Bild bestimmt, sodass jedem Beugungsbild in jedem Bild eine Position zugeordnet werden kann. Die der Erfindung zugrundeliegende Idee besteht darin, die Schärfentiefe DOF des optischen Aufbaus und die Kanalhöhe so aufeinander abzustimmen, dass über die gesamte Kanalhöhe eine hinreichend
- 30 scharfe Abbildung erfolgt. Entsprechend erscheint das Streubild eines Nanopartikels stets hinreichend scharf, auch wenn das Nanopartikel in Richtung der Kanalhöhe diffundiert bzw. sich in Richtung der Kanalhöhe bewegt. D.h. das Beugungsbilds/Beugungsscheibchens bzw. dessen Position bleibt

für das Nanopartikel in der Serie von Bildern stets bestimmbar, solange das Nanopartikel sich nicht lateral aus dem Gesichtsfeld bewegt, d.h. solange bis entweder kein Licht mehr an diesem Nanopartikel gestreut wird oder das an diesem Nanopartikel gestreute Licht nicht mehr in den optischen Aufbau gelangt.

In aufwendigen Versuchsreihen konnte festgestellt werden, dass eine hinreichende Schärfentiefe DOF gegeben ist, wenn diese zumindest 10% der Kanalhöhe beträgt. In diesem Fall kann es zwar zu einem leichten Verschwimmen der Beugungsbilder der Nanopartikel kommen, doch lassen sich die Positionen der Beugungsbilder, insbesondere deren Schwerpunkte, immer noch bestimmen. Vorzugsweise sollte die Schärfentiefe DOF mindestens 30% der Kanalhöhe betragen. In diesem Fall bleiben die Beugungsbilder praktisch vollständig scharf und die Bestimmung der Positionen der Beugungsbilder, insbesondere von deren Schwerpunkten, ist sehr präzise möglich.

Daher ist es bei einer Vorrichtung zur Messung von Nanopartikeln in einer Flüssigkeit, umfassend eine Lichtquelle, einen Kanal zur Aufnahme der Flüssigkeit, wobei der Kanal zumindest abschnittsweise für von der Lichtquelle emittiertes Licht durchlässig ist und eine Kanalhöhe aufweist, die Vorrichtung weiters umfassend einen optischen Aufbau und einen zweidimensionalen Detektor zur Aufnahme einer Serie von vom optischen Aufbau erzeugten Bildern, wobei die Lichtquelle, der Kanal und der optische Aufbau in einer Dunkelfeldanordnung vorliegen, um Licht, das von der Lichtquelle emittiert und an den Nanopartikeln gestreut wird, durch den optischen Aufbau mit dem Detektor aufzunehmen, wobei Positionen von Beugungsbildern des an den Nanopartikeln gestreuten Lichts auf dem Detektor bestimmbar sind, erfindungsgemäß vorgesehen, dass die Kanalhöhe und der optische Aufbau so ausgelegt sind, dass die Schärfentiefe DOF des optischen Aufbaus mindestens 10%, vorzugsweise mindestens 30% der Kanalhöhe beträgt.

Die Schärfentiefe DOF des optischen Aufbaus kann insbesondere im Falle eines Mikroskops durch geeignete Wahl eines Objektivs des Mikroskops beeinflusst werden, wobei sich für die Schärfentiefe insbesondere die numerische Apertur NA auswirkt gemäß folgender Formel

$$\text{DOF} = \lambda / (2 * \text{NA}^2),$$

mit λ der Wellenlänge des verwendeten Lichts. D.h. indem die numerische Apertur verkleinert wird, kann die Schärfentiefe DOF vergrößert werden. Allerdings ist hierbei, wie oben geschildert, zu beachten, dass die Vergrößerung stets so groß bleibt, dass die Positionen, vorzugsweise die Schwerpunkte, der Beugungsbilder der Nanopartikel hinreichend gut am Detektor bestimmbar sind.

Entsprechend ist es bei einem Verfahren zur Bestimmung der Durchmesser von Nanopartikeln in einer Flüssigkeit, erfindungsgemäß vorgesehen, dass das Verfahren die folgenden Schritte umfasst:

- Aufnahme einer Serie von Bildern mittels einer erfindungsgemäßen Vorrichtung;
- Bestimmung der Positionen der Beugungsbilder der Nanopartikel in den Bildern;
- Bestimmung der Trajektorien der Nanopartikel entsprechend den Positionen der zugehörigen Beugungsbilder in den Bildern;
- Bestimmung von Diffusionskoeffizienten D der Nanopartikel aus deren Trajektorien;
- Berechnung des Durchmessers d jedes Nanopartikels (1) mittels der Stokes-Einstein-Gleichung

$$D = k_B * T / (3 * d * \pi * \eta),$$

mit k_B der Boltzmann-Konstante, T der Temperatur in Kelvin und η der Viskosität der Flüssigkeit.

Eine übliche Methode zur Bestimmung des Diffusionskoeffizienten für ein Nanopartikel ist die

Berechnung des mittleren Verschiebungsquadrats $MSD(\tau)$ als Funktion des zeitlichen Abstands τ zwischen den betrachteten Bildern für die Trajektorie des Nanopartikels. D.h. in der Serie von Bildern haben zwei aufeinander folgende Bilder einen zeitlichen Abstand Δt . Wenn beispielsweise als Detektor der Bildsensor einer Kamera verwendet wird, deren Aufnahmerate 25 Bilder pro Sekunde ist, so gilt $\Delta t = 0,04$ s. Der zeitliche Abstand zwischen zwei betrachteten Bildern muss dann ein ganzzahliges Vielfaches n dieses Wertes sein, d.h. $\tau = n * \Delta t$.

Praktischerweise berechnet man daher $MSD(n)$:

$$MSD(n) = 1/(N-n) * \sum_{i=1}^{N-n} [(x_i - x_{i+n})^2 + (y_i - y_{i+n})^2],$$

mit x_i/y_i der x/y-Koordinate des Schwerpunkts im i-ten Bild.

$MSD(n = 1)$ entspricht dann $MSD(\tau = 1 * \Delta t)$ etc.

Sodann erfolgt die Anpassung einer Funktion in einem

Anfangsbereich von $MSD(\tau)$, bevorzugt an mindestens drei der ersten zehn Punkte von $MSD(\tau)$, besonders bevorzugt an den zweiten, dritten, vierten und fünften Punkt von $MSD(\tau)$. Im einfachsten Fall, bei Vorliegen ungestörter Diffusion ist die anzupassende Funktion eine Gerade, wobei der Anstieg der Geraden

$$2 * \dim * D$$

entspricht, mit $\dim$ der Dimensionalität und D dem Diffusionskoeffizienten.

Andere Funktionen sind z.B. notwendig bei Vorliegen von

anomaler Diffusion, etwa wenn eine Interaktion der Nanopartikel mit ihrer Umgebung die Diffusion der Nanopartikel beeinflusst. Dies kann sich beispielsweise durch einen Exponenten α modellieren lassen mit

$$MSD(\tau) = 2 * \dim * D * \tau^\alpha,$$

wobei $\alpha < 1$ Sub-Diffusion beschreibt, während $\alpha > 1$ Super-Diffusion beschreibt.

Ein weiteres Beispiel für ein Abweichen von $\text{MSD}(\tau)$ von einer Geraden ergibt sich, wenn der normalen Diffusion ein Fluss mit
5 Geschwindigkeit v überlagert ist. In diesem Fall ändert sich der Zusammenhang auf

$$\text{MSD}(\tau) = 2 \cdot \text{dim} \cdot D \cdot \tau + v^2 \cdot \tau^2.$$

Wie gesagt können auf diese Weise sehr lange Trajektorien bestimmt werden, womit die Präzision bei der Berechnung der
10 Größe der Nanopartikel erhöht werden kann. Insbesondere können bei der Auswertung gezielt ausschließlich sehr lange Trajektorien berücksichtigt werden, um den sich ergebenden Fehler bei den berechneten Durchmessern der Nanopartikel bewusst klein zu halten. Mit der Länge der Trajektorien ist
15 dabei nicht notwendigerweise die absolute Zeitdauer gemeint, über die sich die Trajektorien erstrecken, sondern die Anzahl der Stützpunkte bzw. Nanopartikel-Positionen der Trajektorien.

D.h. eine Trajektorie, die sich beispielsweise aus der Bestimmung des Schwerpunkts des Beugungsscheibchens eines

20 Nanopartikels in 567 aufeinanderfolgenden Bildern einer Serie von Bildern ergibt, ist 567 Bilder bzw. (Nanopartikel-) Positionen lang - mit 566 Schritten. Die absolute zeitliche

Länge der Trajektorie ergibt sich aus der Multiplikation der Schritttanzahl mit Δt . Daher ist es bei einer bevorzugten

25 Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens vorgesehen, dass zur Bestimmung der Diffusionskoeffizienten D Trajektorien mit einer Länge von mindestens 200 Positionen, bevorzugt von mindestens 500 Positionen, besonders bevorzugt von mindestens 1000 Positionen verwendet werden, wobei zur Bestimmung der

30 Diffusionskoeffizienten D vorzugsweise nur Trajektorien mit einer Länge von mindestens 200 Positionen, bevorzugt von mindestens 500 Positionen, besonders bevorzugt von mindestens 1000 Positionen verwendet werden. Es versteht sich, dass die

Gesamtanzahl der Bilder der aufgenommenen Serie deutlich größer sein kann als die Länge der verwendeten Trajektorien.

Die somit erzielbare hohe Präzision bei der Berechnung der Durchmesser der Nanopartikel ermöglicht es außerdem, eine
5 Verteilung der Durchmesser zu bestimmen und auch nahe beieinander liegende Maxima in der Verteilung – auch als Peaks bezeichnet – hinreichend genau aufzulösen. Folglich sind z.B. in einer Histogrammdarstellung der Häufigkeitsverteilung der ermittelten Durchmesser der Nanopartikel sich ergebende Maxima
10 deutlich voneinander unterscheid- und bestimmbar. Letzteres kann durch Anpassen einer geeigneten Funktion an den jeweiligen Peak der Häufigkeitsverteilung erfolgen. Im Vergleich zu existierenden Verfahren kann dadurch die Messung von polydispersen Nanopartikeln innerhalb einer Messung
15 entscheidend verbessert werden. Entsprechend ist es bei einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens vorgesehen, dass eine Verteilung der berechneten Durchmesser d bestimmt wird.

Die oben geschilderte Auswertung, insbesondere die Bestimmung
20 der Trajektorien, wird idealerweise automatisiert vorgenommen, weshalb es bei einer bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung vorgesehen ist, dass ein Computer vorgesehen ist, um aus der Serie von Bildern Trajektorien der Nanopartikel automatisiert zu bestimmen.

25 Für Nanopartikel mit einem Durchmesser 10 nm bis 200 nm können die Kanalhöhen entsprechend klein gewählt werden, um bei ausreichend großer Vergrößerung eine hinreichend große Schärfentiefe zu erzielen und gleichzeitig starke Wechselwirkungen mit Kanalwänden immer noch auszuschließen.

30 Daher ist es bei einer bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung vorgesehen, dass die Kanalhöhe kleiner gleich 30 μm , bevorzugt kleiner gleich 20 μm , besonders bevorzugt kleiner gleich 10 μm ist. Entsprechend

beträgt die minimale Schärfentiefe DOF für diese Ausführungsformen 3 μm , 2 μm bzw. 1 μm . Die Verwendung von so geringen Kanalhöhen hat außerdem den Vorteil, dass Flüssigkeiten, die grundsätzlich nicht transparent sind, wie z.B. Motoröl, trotzdem durchstrahlt werden können.

Bei einem Kanal mit einer Kanalhöhe von 10 μm kann als optischer Aufbau z.B. ein Mikroskop mit einem Objektiv mit numerischer Apertur $NA = 0,45$ verwendet werden, wobei sich bei einer Wellenlänge $\lambda = 532 \text{ nm}$ eine ausreichende Schärfentiefe DOF von ca. 1,3 μm ergibt. Noch genauere Ergebnisse werden bei gleicher Kanalhöhe und Licht gleicher Wellenlänge beispielsweise mit einem Mikroskop mit einem Objektiv mit numerischer Apertur $NA = 0,3$ erzielt, wobei die Schärfentiefe DOF ca. 3 μm beträgt.

Wenn die Kanalhöhe in Relation zur Größe der Nanopartikel so klein wird, dass eine Wechselwirkung der Nanopartikel mit den Kanalwänden zwangsweise gegeben ist, können die erfindungsgemäße Vorrichtung sowie das erfindungsgemäße Verfahren grundsätzlich trotzdem verwendet werden. Bei der Auswertung wird dann in der Regel ein zu großer Durchmesser für die Nanopartikeldurchmesser erhalten, der jedoch durch Multiplikation mit einem geeigneten Korrekturfaktor korrigiert werden kann.

Um einen besonders einfachen Aufbau zu realisieren, ist es bei einer bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung vorgesehen, dass die Lichtquelle auf derselben Seite des Kanals angeordnet ist wie der optische Aufbau.

Hierzu sei bemerkt, dass es auch vorstellbar ist, gleichzeitig zumindest einen weiteren optischen Aufbau und einen weiteren Detektor zu verwenden. Der weitere optische Aufbau und der weitere Detektor können dabei auf der anderen Seite des Kanals

angeordnet sein, d.h. dem optischen Aufbau und dem Detektor gegenüberliegend.

Im Sinne einer optimalen Intensität werden beste Ergebnisse erzielt, wenn das Licht in einem relativ steilen Winkel auf den Kanal auftrifft, um Reflexionen am Kanal klein zu halten. Andererseits muss dem vorhandenen bzw. verfügbaren Abstand zwischen Kanal und dem optischem Aufbau Rechnung getragen werden. Entscheidend ist hierbei, dass der Winkel so gewählt ist, dass kein Licht direkt oder durch spekulare Reflexion in den optischen Aufbau gelangen kann, sondern nur durch Streuung an den Nanopartikeln. Gute Ergebnisse haben sich in der Praxis ergeben, wenn das von der Lichtquelle emittierte Licht mit einer optischen Achse des optischen Aufbaus einen Winkel von mindestens 60° , bevorzugt mindestens 70° einschließt. Dabei steht die optische Achse vorzugsweise normal auf einer Oberfläche des Kanals.

Um einen sehr einfachen Aufbau zu realisieren, ist es bei einer bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung vorgesehen, dass als Lichtquelle mindestens ein Laser vorgesehen ist. Die Verwendung von Lasern ermöglicht zudem eine sehr präzise Wahl der Lichtwellenlänge. Mehrere unterschiedliche Laser ermöglichen es zudem, Licht unterschiedlicher Wellenlänge zur Verfügung zu stellen.

Da für die Detektion von Nanopartikeln hohe Lichtintensitäten notwendig sind, kann es mitunter zu Stabilitätsproblemen mit Laserquellen mit 100 mW oder mehr kommen. Wenn Laser verwendet werden, treten z.B. aufgrund der endlichen Rauigkeit der Wände des Kanals Speckle-Muster im gestreuten Licht auf, die für die Beugungsbilder der Nanopartikel ein unerwünschtes Hintergrundsignal darstellen. Wenn diese Speckle-Muster sich während der Aufnahme einer Serie von Bildern ändern, gestaltet es sich als schwierig, die Beugungsbilder der Nanopartikel vom sich ändernden Hintergrund zu unterscheiden. Sich ändernde

Speckle-Muster können dabei z.B. von geringfügigen Instabilitäten der Laser-Lichtquelle verursacht werden. Leuchtdioden, insbesondere sogenannte High Power LEDs, können bei sehr hohen Intensitäten mitunter stabiler arbeiten.

- 5 Darüberhinaus treten bei der Verwendung von Leuchtdioden, die grundsätzlich kein kohärentes Licht emittieren, prinzipiell keine Speckle-Muster auf, was sich im Hinblick auf den Hintergrund der Beugungsbilder der Nanopartikel vorteilhaft auswirkt. Daher ist es bei einer bevorzugten Ausführungsform
- 10 der erfindungsgemäßen Vorrichtung vorgesehen, dass als Lichtquelle mindestens eine Leuchtdiode vorgesehen ist. Auch Leuchtdioden bieten dabei die Möglichkeit gewisse Wellenlängen relativ präzise auszuwählen, wenngleich dies nicht so präzise wie mit Lasern möglich ist. Unterschiedliche Wellenlängen
- 15 können wiederum mit mehreren unterschiedlichen Leuchtdioden realisiert werden. Alternativ oder zusätzlich wäre auch die Verwendung von Leuchtdioden, die im Wesentlichen weißes Licht ausstrahlen, möglich.

- Die Verwendung von unterschiedlichen Lichtwellenlängen
- 20 ermöglicht im Prinzip spektroskopische Messungen. Beispielsweise kann durch Messung der Streuintensität der Nanopartikel bei mehreren Wellenlängen und bereits bestimmten Durchmesser der Nanopartikel ein Vergleich mit dem theoretischen Streuverhalten von Nanopartikeln durchgeführt
- 25 und auf deren Material geschlossen werden, sofern eine begrenzte Anzahl an möglichen Materialien vorliegt. Dabei wird für jedes Teilchen individuell dessen Durchmesser aus der Brownschen Bewegung bestimmt. Bei der Auswertung der spektroskopischen Information kann somit das Streuverhalten
- 30 berücksichtigt werde, dass sich für genau dieses Teilchen aufgrund von dessen Größe ergibt. Entsprechend können Aussagen über das Material des betrachteten Teilchens getroffen werden. Daher ist es bei einer bevorzugten Ausführungsform der

erfindungsgemäßen Vorrichtung vorgesehen, dass die Lichtquelle Licht mehrerer Wellenlängen emittiert.

Eine Möglichkeit der Anwendung besteht darin, die unterschiedlichen Wellenlängen gepulst einzusetzen, sodass
5 jedes Bild mit einer bestimmten Wellenlänge aufgenommen wird. Z.B. können bei drei unterschiedlichen Wellenlängen nacheinander ein Bild mit der ersten Wellenlänge, das nächste Bild mit der zweiten Wellenlänge und das darauf folgende Bild mit der dritten Wellenlänge aufgenommen werden, worauf wieder
10 mit der ersten Wellenlänge begonnen wird etc. Nach Beendigung der Aufnahme der Serie von Bildern können für jedes Nanopartikel drei Trajektorien bestimmt werden, wobei jede Trajektorie nur aus Bildern mit jeweils einer der drei Wellenlängen extrahiert wird.

15 Um die erfindungsgemäße Vorrichtung mit minimalen Abmessungen zu realisieren, ist es bei einer bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung vorgesehen, dass der Kanal in einem Mikrofluidik-Chip ausgebildet ist. Entsprechend muss der Mikrofluidik-Chip zumindest abschnittsweise transparent
20 für das von der Lichtquelle emittierte Licht sein.

Die Verwendung von mikrofluidischen Komponenten bzw. eines Mikrofluidik-Chips bietet eine exzellente Möglichkeit der Integration und Miniaturisierung des gesamten Systems. Dies ist u.a. im Hinblick auf eine Installation einer
25 erfindungsgemäßen Vorrichtung in einem Motor interessant. Dabei kann ein Detektor bzw. Bildsensor mit optischem System bzw. Mikroskop für eine einzige fixe Vergrößerung zur Detektion des Streulichts dienen. Entsprechend ist es bei einer bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen
30 Vorrichtung vorgesehen, dass der optische Aufbau und der Detektor in einer strukturellen Einheit integriert sind. Diese strukturelle Einheit kann insbesondere zusammen mit einem Mikrofluidik-Chip, der außerdem als Einweg-Chip ausgeführt

werden kann, sowie mit einer Lichtquelle und zugehöriger Elektronik für die Auswertung klein und portabel gestaltet werden.

Die Verwendung von Mikrofluidik-Chips erlaubt es zudem, diese
5 als Einweg-Elemente auszuführen, d.h. der Mikrofluidik-Chip wird nach einer Messung durch einen neuen ersetzt. Alternativ und/oder zusätzlich ist es möglich, die Flüssigkeit nach einer Messung aus dem Kanal zu befördern und neue Flüssigkeit in den Kanal zu bringen. Daher ist es bei einer bevorzugten
10 Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung vorgesehen, dass Mittel vorgesehen sind, um die Flüssigkeit in den und aus dem Kanal zu befördern. Ein besonders einfaches Mittel wäre z.B. eine Spritze, aber natürlich wäre auch eine Pumpe ein geeignetes Mittel, um Flüssigkeit aus dem Kanal abzupumpen und
15 in den Kanal hinein zu pumpen. Somit wäre es z.B. denkbar, die erfindungsgemäße Vorrichtung in einen Motor zu integrieren und regelmäßig die Abriebpartikel im Motoröl bzw. deren Durchmesser automatisiert zu bestimmen, indem beispielsweise nach jedem Betrieb des Motors Motoröl in den Kanal gepumpt und
20 eine Messung durchgeführt wird.

Ebenso kann es zur Verbesserung der Statistik gewünscht sein, mehrere Messungen mit unterschiedlichen Flüssigkeitsproben durchzuführen. Entsprechend ist es bei einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens vorgesehen,
25 dass nach der Aufnahme der Serie von Bildern mindestens einmal die Flüssigkeit aus dem Kanal entfernt wird, neue Flüssigkeit in den Kanal eingebracht wird und eine weitere Serie von Bildern aufgenommen wird.

Insbesondere wenn der Kanal in einem Mikrofluidik-Chip
30 ausgebildet ist, kann eine „vertikale“ Anordnung leicht realisiert werden, um gezielt Sedimentationseffekte zu beobachten. Hierbei ist die Kanalhöhe ebenso wie die optische Achse horizontal orientiert. D.h. die Sedimentation, die sich

aufgrund der Schwerkraft einstellt, erfolgt normal zur Beobachtungsrichtung. Neben der gezielten Beobachtung der Sedimentation von Nanopartikeln und der Bestimmung von deren Durchmessern können in einer solchen Anordnung größere, schwerere Partikel, welche prinzipiell die Messung kleinerer Partikel beeinflussen oder den Kanal verstopfen können, über Sedimentation vorab abgeschieden werden.

In ähnlicher Weise ist es möglich, eine zusätzliche auf die Nanopartikel wirkende Kraft, die vorzugsweise normal auf die Beobachtungsrichtung steht, zu erzeugen und damit Nanopartikel aufgrund der jeweils zusätzlichen Eigenschaft zu charakterisieren oder abzuscheiden. Daher ist es bei einer bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung vorgesehen, dass die Vorrichtung derart ausgelegt ist, dass eine Kraft mit einer Richtungskomponente, die normal auf eine optische Achse des optischen Aufbaus steht, auf die Nanopartikel wirkt.

Im Falle der Sedimentation ist die wirkende Kraft die Gravitation. Darüberhinaus können insbesondere elektrische oder magnetische Kräfte den Nanopartikeln aufgeprägt werden. Daher ist es bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung vorgesehen, dass Mittel zur Erzeugung eines elektrischen und/oder magnetischen Feldes vorgesehen sind, um eine zusätzliche, auf die Nanopartikel wirkende Kraft zu erzeugen mit einer Richtungskomponente, die normal auf die optische Achse des optischen Aufbaus steht. Geeignete Mittel wären beispielsweise Elektroden oder Kondensatorplatten für das Anlegen eines elektrischen Feldes oder Spulen, wie z.B. Helmholtz-Spulen, für das Anlegen eines magnetischen Feldes.

Alternativ oder zusätzlich sind auch andere aufprägbare physikalische Größen denkbar, beispielsweise eine durch einen

osmotischen Druck bedingte Strömung oder ein anderweitig erzeugtes Geschwindigkeitsprofil.

Die Viskosität der Flüssigkeit ist für die oben geschilderte Berechnung der Größe der Nanopartikel aus deren Brownscher Bewegung höchst relevant. Daher ist es bei einer bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung vorgesehen, dass ein Viskositätssensor zur Messung der Viskosität der Flüssigkeit vorgesehen ist. Insbesondere wenn der Kanal in einem Mikrofluidik-Chip ausgebildet ist, lassen sich verschiedenste miniaturisierte Viskositätssensoren integrieren. So bieten sich beispielsweise bekannte Viskositätssensoren basierend auf Kanalnetzwerken oder schwingenden Mikrostrukturen an. Selbstverständlich kann der Viskositätssensor aber auch separat vom Mikrofluidik-Chip, welcher den Kanal enthält, ausgebildet sein.

Die Viskosität der Flüssigkeit wird maßgeblich durch die Temperatur beeinflusst. Um die Viskosität der Flüssigkeit beeinflussen zu können, ist es bei einer bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung vorgesehen, dass ein Heizelement und/oder ein Kühlelement vorgesehen sind, um den Kanal auf eine gewünschte Temperatur zu bringen. Beispiele wären ein Heizwiderstand, z.B. in Form einer Platte oder eines Heizdrahtes, als Heizelement und/oder ein Peltier-Element als Kühlelement. Es versteht sich, dass ebenso ein Temperatursensor vorgesehen ist, wenn dieser nicht ohnehin im Heizelement/Kühlelement integriert ist.

Auch das Heizelement und/oder Kühlelement können – ebenso wie eventuell vorhandene Pumpen – klein und kompakt realisiert werden, sodass eine Vorrichtung, die diese Komponenten zumindest teilweise aufweist, ebenfalls klein, kompakt und portabel gestaltet werden kann.

Wie bereits geschildert ist erfindungsgemäß die Verwendung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Bestimmung der Größe

und/oder Größenverteilung von Partikeln, vorzugsweise Verschleißpartikeln in einem flüssigen Schmierstoff, insbesondere in Motoröl vorgesehen. Bei den Schmierstoffen kann es sich dabei um Schmierstoffe verschiedenster Maschinen handeln, d.h. nicht notwendigerweise um Schmierstoffe für Motoren. Beispielsweise kann es sich um Schmierstoffe zur Schmierung von Lagern handeln. Hierbei werden insbesondere metallische Nanopartikel gemessen.

Mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung bzw. dem erfindungsgemäßen Verfahren können jedoch generell Nanopartikel untersucht werden, die einen anderen Brechungsindex als das Trägermedium bzw. die Flüssigkeit aufweisen. D.h. es können nicht nur metallische Verschleißpartikel, sondern auch andere anorganische und auch organische Nanopartikel gemessen und deren Durchmesser bestimmt werden. Dies ermöglicht u.a. interessante Anwendungen in der Pharmazie. Beispielsweise kann die Reinheit von Präparaten bzw. flüssigen Arzneimitteln untersucht werden. Entsprechend ist erfindungsgemäß die Verwendung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Bestimmung der Größe und/oder Größenverteilung von Fremdpartikeln in einem flüssigen Arzneimittel vorgesehen.

Insbesondere im Hinblick auf die Verwendung der erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Messung von Verschleißpartikeln in Schmierstoffen ist es wichtig zu berücksichtigen, dass neben den als Nanopartikel vorliegenden Verschleißpartikeln zusätzlich auch größere Verschleißpartikel - z.B. im Sub-Mikrometerbereich oder Mikrometerbereich - im Schmierstoff vorhanden sein können. Bei zu geringen Kanalhöhen können diese größeren Verschleißpartikel den Kanal verstopfen. Um ein Verstopfen des Kanals zu vermeiden, ist es daher bei einer bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung vorgesehen, dass die Kanalhöhe mindestens 1 μm , bevorzugt mindestens 3 μm , besonders bevorzugt mindestens 5 μm

beträgt. Es versteht sich, dass bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform nicht nur die Kanalhöhe, sondern generell ein lichter Querschnitt des Kanals größer/ gleich als/wie die Kanalhöhe ist, um ein Verstopfen wirkungsvoll zu unterbinden.

Zur erfindungsgemäßen Bestimmung der Durchmesser der Nanopartikel muss die Viskosität der Flüssigkeit grundsätzlich bekannt sein. Dabei können mittels der erfindungsgemäßen Vorrichtung Flüssigkeiten in einem sehr breiten

Viskositätsbereich untersucht werden, vorzugsweise in einem Bereich von 0,1 mPa s bis 1000 mPa s. Umgekehrt ist es natürlich auch möglich, bei bekannter Größe der Nanopartikel auf die Viskosität der Flüssigkeit zu schließen. Daher ist erfindungsgemäß die Verwendung einer erfindungsgemäßen

Vorrichtung zur Bestimmung der Viskosität einer Flüssigkeit, in der sich Nanopartikel bekannter Größe befinden, vorgesehen.

KURZE BESCHREIBUNG DER FIGUREN

Die Erfindung wird nun anhand von Ausführungsbeispielen näher erläutert. Die Zeichnungen sind beispielhaft und sollen den Erfindungsgedanken zwar darlegen, ihn aber keinesfalls einengen oder gar abschließend wiedergeben.

Dabei zeigt:

Fig. 1 eine schematische Skizze des Aufbaus einer erfindungsgemäßen Vorrichtung

Fig. 2 ein Detail einer Schnittansicht eines Kanals der Vorrichtung aus Fig. 1

Fig. 3 eine schematische Skizze des Aufbaus einer weiteren Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung, die

zur Beobachtung von Sedimentationseffekten geeignet ist

Fig. 4 eine schematische Detailansicht der Flüssigkeit im Kanal der Vorrichtung aus Fig. 3, wobei Trajektorien eines größeren, schwereren und eines kleineren, leichteren Nanopartikels unter Einfluss der Schwerkraft und einer Flussrichtung illustriert sind

Fig. 5 eine schematische Skizze eines Details des Aufbaus einer weiteren Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung, die zur Beobachtung der Diffusion von Nanopartikeln unter zusätzlichem Einfluss eines elektrischen Feldes geeignet ist

Fig. 6 eine schematische Skizze eines Details des Aufbaus einer weiteren Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung, die zur Beobachtung der Diffusion von Nanopartikeln unter zusätzlichem Einfluss eines magnetischen Feldes geeignet ist

Fig. 7 eine schematische Skizze eines Details des Aufbaus einer weiteren Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung mit einem Heizelement, einem Kühlelement und mit einem Viskositätssensor

WEGE ZUR AUSFÜHRUNG DER ERFINDUNG

Fig. 1 in Verbindung mit Fig. 2 zeigt eine Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Messung von Nanopartikeln 1 in einer Flüssigkeit 2, wie z.B. Wasser oder Öl, wobei sich die Flüssigkeit 2 in einem Kanal 4 befindet. Im gezeigten Ausführungsbeispiel ist der Kanal 4 in einem Mikrofluidik-Chip 9 ausgebildet, der wiederum auf einem Mikroskoptisch 19 eines Mikroskops 6, das einen optischen Aufbau bildet, angeordnet ist. Das Mikroskop 6, der Kanal 4 sowie eine Lichtquelle 3

liegen in einer Dunkelfeldanordnung vor. D.h. von der Lichtquelle 3 emittiertes und auf die Flüssigkeit 2 einfallendes Licht 20 wird an den Nanopartikeln 1 gestreut, und es tritt nur gestreutes Licht 21 in das Mikroskop 6 ein.

- 5 Insbesondere tritt Licht nicht direkt aus der Lichtquelle 3 in das Mikroskop 6 ein, ebensowenig wie Licht, das am Kanal 4 bzw. Mikrofluidik-Chip 9 reflektiert wird.

- Als Lichtquelle 3 kommt im gezeigten Ausführungsbeispiel ein Laser zum Einsatz, beispielsweise mit einer Wellenlänge $\lambda = 532$ nm. Die Lichtquelle 3 ist so zum Kanal 4 bzw. zum Mikrofluidik-Chip 9 und dem Mikroskop 6 angeordnet, dass das emittierte Licht unter einem derartigen Winkel auf den Kanal 4 bzw. den Mikrofluidik-Chip 9 einfällt, dass kein Licht direkt oder durch (spekulare) Reflexion in das Mikroskop 6 gelangen kann, sondern nur durch Streuung an den Nanopartikeln 1. Der Kanal 4 bzw. der Mikrofluidik-Chip 9 ist hierbei zumindest abschnittsweise für das Licht transparent. Im gezeigten Ausführungsbeispiel wird diese Anordnung erreicht, indem ein Winkel 8 zwischen dem einfallenden Licht 20 und einer optischen Achse 7 des Mikroskops 6 zwischen 60° und 70° groß ist, wobei die optische Achse 7 im Wesentlichen normal auf den Kanal 4 bzw. den Mikrofluidik-Chip 9 steht.

- Die Nanopartikel 1 sind im Allgemeinen kleiner – jedenfalls nicht deutlich größer – als die Wellenlänge λ , sodass mit dem Mikroskop 6 die Beugungsbilder jener Nanopartikel 1 eingefangen und vergrößert werden, an denen das einfallende Licht 20 gestreut wird. Dabei besteht jedes dieser Beugungsbilder aus der zugehörigen Point Spread Function (manchmal auch als Punktspreizfunktion bezeichnet), die im Wesentlichen als Beugungsscheibchen (u.a. auch als Airy-Scheibchen bezeichnet) erscheint. Vorzugsweise weisen die untersuchten Nanopartikel 1 einen Durchmesser d im Bereich zwischen 10 nm und 200 nm, sodass jedes Nanopartikel 1 ein im

Wesentlichen gleich groß erscheinendes Beugungsscheibchen produziert.

Mittels eines zweidimensionalen Bildsensors 17, der einen zweidimensionalen Detektor darstellt und im gezeigten

- 5 Ausführungsbeispiel Teil einer Kamera 16 ist, wird das vom Mikroskop 6 vergrößerte Bild aufgenommen bzw. wird eine Serie solcher Bilder aufgenommen. Eine solche Serie besteht typischerweise aus zumindest 1000 Bildern, wobei zwischen jedem Bild ein gleicher zeitlicher Abstand liegt von
- 10 beispielsweise 40 ms. Die Vergrößerung des Mikroskops 6 und die Pixeldichte des Bildsensors 17 sind so aufeinander abgestimmt, dass die Bestimmung des Schwerpunkts jedes Beugungsscheibchens sinnvoll möglich ist, indem jedes Beugungsscheibchen so groß am Bildsensor 17 erscheint, dass es
- 15 zumindest auf 2×2 Pixel abgebildet wird. Hierzu wird beispielsweise ein Objektiv mit 10-facher Vergrößerung und einer numerischen Apertur $NA = 0,3$ verwendet, in Kombination mit einem um einen Faktor 1,25 bis 2,5 vergrößernden Adapter und einem Bildsensor 17 mit 1920×1080 Pixeln. Bei 2,5-facher
- 20 Vergrößerung des Adapters entspricht im gezeigten Ausführungsbeispiel die am Bildsensor 17 abgebildete Fläche $774 \mu\text{m} \times 435 \mu\text{m}$, d.h. 2,48 Pixel pro μm . Entsprechend werden die Beugungsscheibchen, deren Durchmesser im Fokus mehrere μm groß ist, hinreichend aufgelöst, um deren Schwerpunkt
- 25 bestimmen zu können.

Zweidimensionale Trajektorien der Nanopartikel 1 ergeben sich sodann aus den Positionen des jeweiligen Beugungsscheibchens, d.h. im vorliegenden Fall aus den Koordinaten des Schwerpunkts des jeweiligen Beugungsscheibchens, als Funktion der Schritte

30 bzw. der aufeinanderfolgenden Bilder der aufgenommenen Serie. Damit das Beugungsscheibchen jedes Nanopartikels 1 in jedem Bild der Serie so scharf abgebildet wird, dass die Bestimmung des Schwerpunkts problemlos möglich ist, weist der Kanal 4 eine begrenzte Kanalhöhe 5 auf, die im gezeigten

Ausführungsbeispiel 10 μm beträgt. Die sich aus der Wellenlänge λ und der numerischen Apertur ergebende Schärfentiefe DOF beträgt

$$\text{DOF} = \lambda / (2 * \text{NA}^2) \approx 3 \mu\text{m},$$

- 5 also rund 30% der Kanalhöhe 5. D.h. die Kanalhöhe 5 und die Schärfentiefe DOF sind so aufeinander abgestimmt, dass das Beugungsscheibchen jedes Nanopartikels 1 stets hinreichend scharf abgebildet wird – unabhängig davon, wo sich das jeweilige Nanopartikel 1 bezogen auf die Kanalhöhe 5 befindet.
- 10 Entsprechend sind die aufnehmbaren Trajektorien praktisch beliebig lang, da die Nanopartikel 1 bzw. deren Beugungsscheibchen während der Aufnahme der Serie von Bildern sich im Wesentlichen nicht aus dem Fokus bewegen können. Bei z.B. 1000 aufgenommenen Bildern, können also für die
- 15 Nanoteilchen 1 auch Trajektorien aufgenommen werden, die 1000 Positionen enthalten. D.h. die Länge der mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung aufgenommenen Trajektorien kann zumindest zwei Größenordnungen größer sein als die Länge von Trajektorien, die mit aus dem Stand der Technik bekannten
- 20 Vorrichtungen aufgenommen werden können.

- Versuche haben ergeben, dass ausreichend scharfe Abbildungen der Beugungsscheibchen erzielt werden können, solange die Schärfentiefe DOF zumindest 10% der Kanalhöhe 5 beträgt. Entsprechend lieferten Versuche mit einem Objektiv mit 50-
- 25 facher Vergrößerung, einer numerischen Apertur $\text{NA} = 0,45$ und einer sich ergebenden Schärfentiefe DOF von ca. $1,3 \mu\text{m}$ noch brauchbare Ergebnisse.

- Zur Bestimmung der Durchmesser d der Nanopartikel 1 wird mittels eines Computers 18 das mittlere Verschiebungsquadrat
- 30 $\text{MSD}(\tau)$ für jede Trajektorie berechnet, wobei τ der zeitliche Abstand von zwei betrachteten Bildern ist. Hierauf wird eine Gerade im Anfangsbereich von $\text{MSD}(\tau)$ angepasst. Der Anstieg der

angepassten Geraden entspricht $4 \cdot D$, wobei D der Diffusionskoeffizient des betrachteten Nanopartikels 1 für dessen Diffusion in den zwei betrachteten Dimensionen ist. Der Durchmesser d des jeweiligen Nanopartikels 1 ergibt sich aus
5 der Stokes-Einstein-Gleichung:

$$D = k_B \cdot T / (3 \cdot d \cdot \pi \cdot \eta),$$

mit k_B der Boltzmann-Konstante, T der Temperatur in Kelvin und η der Viskosität der Flüssigkeit 2. Da mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung praktisch beliebig lange

10 Trajektorien aufgenommen werden können, z.B. mit einer Länge von 1000 Bildern, erfolgt die Bestimmung der Durchmesser d der einzelnen Nanopartikel 1 mit einer beispiellosen Genauigkeit.

Dies wiederum ermöglicht es, eine Größenverteilung der Durchmesser d sehr präzise zu ermitteln. Wie in Fig. 1
15 schematisch dargestellt, kann die Größenverteilung als Histogramm der Häufigkeitsverteilung von d dargestellt werden (Häufigkeit # versus Durchmesser d). Maxima (auch Peaks genannt) können mittels einer passenden Funktion angepasst werden, selbst wenn diese Maxima relativ eng beieinander
20 liegen. Somit können insbesondere Größenverteilungen von polydispersen Nanopartikeln 1 genau bestimmt werden. Die in Fig. 1 gezeigte Verteilung zeigt das Ergebnis einer solchen Messung mit 1000 Bildern (bzw. Trajektorien dieser Länge), wobei die Maxima für Durchmesser d von 115 nm und 170 nm
25 ermittelt wurden, d.h. die Peak-Auflösung ist im gezeigten Fall ca. 1:1,5.

Fig. 3 zeigt eine weitere Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung, wobei der Mikrofluidik-Chip 9 mit dem Kanal 4 in diesem Fall „vertikal“ angeordnet ist. D.h.
30 gegenüber der Ausführungsform der Fig. 1 ist der Aufbau im Wesentlichen um 90° gedreht und die Beobachtungsrichtung bzw. die optische Achse 7 sowie die Kanalhöhe 5 sind horizontal

angeordnet. Da der Kanal 4 normal zur Kanalhöhe 5, also im Ausführungsbeispiel der Fig. 3 in einer vertikalen Ebene, wesentlich größere Abmessungen als die Kanalhöhe 5 aufweist, kann die Sedimentation von Nanopartikeln 1 beobachtet werden.

5 D.h. der zufälligen Brownschen Bewegung der Nanopartikel 1 ist eine gerichtete Bewegung entsprechend der Richtung 23 der Schwerkraft überlagert. Dabei wirkt sich die Sedimentation für größere, schwerere Nanopartikel 24 stärker aus als für kleinere, leichtere Nanopartikel 25.

10 Letzteres ist in Fig. 4 illustriert, die eine schematische Detailansicht der Flüssigkeit im Kanal 4 der Vorrichtung aus Fig. 3 zeigt. Da sich die Schwerkraft im Verhältnis zur Brownschen Bewegung für das größere, schwerere Nanopartikel 24 stärker auswirkt als für das kleinere, leichtere Nanopartikel
15 25, weist die Trajektorie 26 des größeren, schwereren Nanopartikels 24 eine starke Ausrichtung nach unten auf. Demgegenüber weist die Trajektorie 27 des kleineren, leichteren Teilchens 25 keine solche Ausrichtung auf.

Im Ausführungsbeispiel der Fig. 3 und Fig. 4 ist der
20 zufälligen Brownschen Bewegung der Nanopartikel 1, 24, 25 außerdem eine weitere gerichtete Bewegung überlagert. Diese ergibt sich dadurch, dass die Flüssigkeit 2 im Kanal 4 nicht ruht, sondern sich entlang einer Flussrichtung 22 bewegt. Dies wird erreicht, indem mittels einer Spritze 15 kontinuierlich
25 Flüssigkeit 2 durch den Kanal 4 befördert wird. Entsprechend weist in Fig. 4 sowohl die Trajektorie 26 des größeren, schwereren Nanopartikels 24 als auch die Trajektorie 27 des kleineren, leichteren Nanopartikels 25 eine Ausrichtung entlang der Flussrichtung 22 auf.

30 Die Tatsache, dass sich gleichzeitig die Sedimentation bei den größeren, schwereren Nanopartikeln 24 stärker auswirkt als bei den kleineren, leichteren Nanopartikeln 25, kann zu einer Trennung der größeren, schwereren Nanopartikel 24 von den

kleineren, leichteren Nanopartikeln 25 genutzt werden. Hierzu sind an einem Ende des Kanals 4 vertikal voneinander beabstandet ein oberer mikrofluidischer Anschluss 28 und ein unterer mikrofluidischer Anschluss 29 angeordnet. Durch den oberen mikrofluidischen Anschluss 28 gelangt im Wesentlichen nur Flüssigkeit 2 mit kleineren, leichteren Nanopartikeln 25. Durch den unteren mikrofluidischen Anschluss 29 gelangt vor allem Flüssigkeit 2 mit abgesunkenen größeren, schwereren Nanopartikeln 24. Entsprechend weisen Behälter, in welche die Flüssigkeit 2 vom oberen mikrofluidischen Anschluss 28 und vom unteren mikrofluidischen Anschluss 29 geleitet wird, jeweils Flüssigkeit 2 mit überwiegend kleineren, leichteren Nanopartikeln 25 oder überwiegend größeren, schwereren Nanopartikeln 24 auf.

Es sei bemerkt, dass sowohl die durch die Sedimentation verursachte Vorzugsrichtung in der Bewegung bzw. in den Trajektorien der Nanopartikel 1 als auch die durch die Flussrichtung 22 verursachte Vorzugsrichtung in der Bewegung bzw. in den Trajektorien der Nanopartikel 1 mittels bekannter Methoden berücksichtigt werden kann, um auf die rein Brownsche Bewegung zu schließen. D.h. die Bestimmung der Durchmesser d der Nanopartikel 1 ist auch im Falle von überlagerter Sedimentation und/oder überlagerter Flussrichtung 22 - allgemeiner auch bei Vorhandensein einer überlagerten Driftgeschwindigkeit - möglich.

Statt für einen permanenten, kontinuierlichen Wechsel der Flüssigkeit 2 im Kanal 4 kann die Spritze 15 auch dazu benutzt werden, die Flüssigkeit 2 im Kanal 4 schrittweise auszutauschen, vorzugsweise nach Beendigung einer Messung und vor dem Start einer neuen Messung. Auf diese Weise kann die Statistik der ermittelten Größenverteilung der Nanopartikel 1 verbessert werden. Zudem wird das Auftreten von überlagerten Driftgeschwindigkeiten vermieden.

Neben der Schwerkraft können gezielt weitere zusätzliche Kräfte den Nanopartikeln 1 aufgeprägt werden, um entsprechende Eigenschaften der Nanopartikel 1 zu untersuchen. So zeigt Fig. 5 schematisch ein Detail eines Aufbaus einer

- 5 Ausführungsvariante der erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Messung von Nanopartikeln 1 unter dem zusätzlichen Einfluss eines elektrischen Feldes. Zur Erzeugung eines solchen elektrischen Feldes sind Elektroden 10 vorgesehen, die an zwei gegenüberliegenden Endbereichen des Kanals 4 angeordnet sind
- 10 und an welche eine elektrische Spannung angelegt ist. Auf diese Weise lässt sich beispielsweise im Falle von geladenen Nanopartikeln 1 eine der Diffusion überlagerte Driftgeschwindigkeit der Nanopartikel 1 erzeugen. Auf diese Weise ist z.B. eine Unterscheidung zwischen geladenen und
- 15 ungeladenen Nanopartikeln 1 möglich.

- Analog zur Ausführungsform von Fig. 5 zeigt Fig. 6 eine weitere Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Messung von Nanopartikeln 1 unter dem zusätzlichen Einfluss eines Magnetfeldes. Zur Erzeugung eines solchen magnetischen
- 20 Feldes ist eine Spule 11 vorgesehen, wobei magnetische Feldlinien durch strichlierte Linien angedeutet sind. Auf diese Weise kann beispielsweise magnetischen Nanopartikeln 1 ein der Diffusion überlagertes bestimmtes Driftverhalten aufgeprägt werden, wohingegen nicht-magnetische Nanopartikel 1
- 25 sich rein diffusiv bewegen, sodass eine Unterscheidung zwischen magnetischen und nicht-magnetischen Nanopartikeln 1 möglich ist.

- Grundsätzlich wird das Ergebnis für die erhaltenen Durchmesser d der Nanopartikel 1 maßgeblich von der Viskosität η der
- 30 Flüssigkeit 2 beeinflusst. Daher ist bei einer weiteren Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung ein Viskositätssensor 14 vorgesehen, wie in Fig. 7 schematisch illustriert. Solche Viskositätssensoren 14 sind an sich bekannt und basieren auf Kanalnetzwerken oder schwingenden

Mikrostrukturen. Im Ausführungsbeispiel der Fig. 7 sind sowohl der Kanal 4 als auch der Viskositätssensor 14 als mikrofluidische Elemente ausgebildet, die über eine Leitung miteinander verbunden sind, sodass Flüssigkeit 2 aus dem Kanal 4 mit dem Viskositätssensor 14 gemessen werden kann.

Neben der genauen Kenntnis der Viskosität η der Flüssigkeit 2 kann es wünschenswert sein, die Viskosität η gezielt zu beeinflussen, um die Geschwindigkeit der Diffusion der Nanopartikel 1 zu erhöhen oder zu erniedrigen und besser an die Bildwiederholrate der Aufnahme der Serie von Bildern anzupassen. Entsprechend weist der Mikrofluidik-Chip 9 in Fig. 7 außerdem einen Heizdraht 12 auf. Darüberhinaus ist der Mikrofluidik-Chip 9 auf einem Peltier-element 13 angeordnet. Somit können der Kanal 4 und damit auch die Flüssigkeit 2 durch Heizen oder Kühlen auf die gewünschte Temperatur gebracht werden. Alternativ könnte das Peltier-Element 13 nicht nur zum Kühlen, sondern durch Umpolung auch zum Heizen verwendet werden, sodass auf den Einsatz des Heizdrahts 12 auch verzichtet werden könnte.

BEZUGSZEICHENLISTE

	1	Nanopartikel
	2	Flüssigkeit
	3	Lichtquelle
5	4	Kanal
	5	Kanalhöhe
	6	Mikroskop
	7	Optische Achse des Mikroskops
	8	Winkel
10	9	Mikrofluidik-Chip
	10	Elektroden
	11	Spulen
	12	Heizdraht
	13	Peltier-Element
15	14	Viskositätssensor
	15	Spritze
	16	Kamera
	17	Bildsensor
	18	Computer
20	19	Mikroskoptisch
	20	Einfallendes Licht
	21	Gestreutes Licht

	22	Flussrichtung
	23	Richtung der Schwerkraft
	24	Großes, schweres Partikel
	25	Kleines, leichtes Partikel
5	26	Trajektorie des großen, schweren Partikels
	27	Trajektorie des kleinen, leichten Partikels
	28	Oberer mikrofluidischer Anschluss
	29	Unterer mikrofluidischer Anschluss
	DOF	Schärfentiefe
10	λ	Wellenlänge
	τ	Zeitlicher Abstand
	dim	Dimensionalität
	D	Diffusionskoeffizient
	d	Durchmesser eines Nanopartikels
15	k_B	Boltzmann-Konstante
	T	Temperatur
	η	Viskosität der Flüssigkeit

A N S P R Ü C H E

1. Vorrichtung zur Messung von Nanopartikeln (1) in einer Flüssigkeit (2), umfassend eine Lichtquelle (3), einen Kanal (4) zur Aufnahme der Flüssigkeit (2), wobei der Kanal (4) zumindest abschnittsweise für von der Lichtquelle (3) emittiertes Licht durchlässig ist und eine Kanalhöhe (5) aufweist, die Vorrichtung weiters umfassend einen optischen Aufbau (6) und einen zweidimensionalen Detektor (17) zur Aufnahme einer Serie von vom optischen Aufbau (6) erzeugten Bildern, wobei die Lichtquelle (3), der Kanal (4) und der optische Aufbau (6) in einer Dunkelfeldanordnung vorliegen, um Licht, das von der Lichtquelle (3) emittiert und an den Nanopartikeln (1) gestreut wird, durch den optischen Aufbau (6) mit dem Detektor (17) aufzunehmen, wobei Positionen von Beugungsbildern des an den Nanopartikeln (1) gestreuten Lichts (21) auf dem Detektor (17) bestimmbar sind, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Kanalhöhe (5) und der optische Aufbau (6) so ausgelegt sind, dass die Schärfentiefe DOF des optischen Aufbaus (6) mindestens 10%, vorzugsweise mindestens 30% der Kanalhöhe (5) beträgt.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Kanalhöhe (5) kleiner gleich 30 μm , bevorzugt kleiner gleich 20 μm , besonders bevorzugt kleiner gleich 10 μm ist.
3. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 2, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Kanalhöhe (5) mindestens 1 μm , bevorzugt mindestens 3 μm , besonders bevorzugt mindestens 5 μm beträgt
4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Lichtquelle (3) auf derselben Seite des Kanals (4) angeordnet ist wie der optische Aufbau (6).

5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet, dass** als Lichtquelle (3) mindestens ein Laser vorgesehen ist.
- 5 6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet, dass** als Lichtquelle (3) mindestens eine Leuchtdiode vorgesehen ist.
7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Kanal (4) in einem Mikrofluidik-Chip (9) ausgebildet ist.
- 10 8. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Lichtquelle (3) Licht mehrerer Wellenlängen (λ) emittiert.
9. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, **dadurch gekennzeichnet, dass** ein Computer (18) vorgesehen ist, um
15 aus der Serie von Bildern Trajektorien (26, 27) der Nanopartikel (1) automatisiert zu bestimmen.
10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Vorrichtung derart ausgelegt ist, dass eine Kraft mit einer Richtungskomponente, die normal
20 auf eine optische Achse (7) des optischen Aufbaus (6) steht, auf die Nanopartikel (1) wirkt.
11. Vorrichtung nach Anspruch 10, **dadurch gekennzeichnet, dass** Mittel (10, 11) zur Erzeugung eines elektrischen und/oder magnetischen Feldes vorgesehen sind, um eine
25 zusätzliche, auf die Nanopartikel (1) wirkende Kraft zu erzeugen mit einer Richtungskomponente, die normal auf die optische Achse (7) des optischen Aufbaus (6) steht.
12. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, **dadurch gekennzeichnet, dass** ein Heizelement (12) und/oder ein Kühlelement (13) vorgesehen sind, um den Kanal (4) auf
30 eine gewünschte Temperatur zu bringen.

13. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 12,
dadurch gekennzeichnet, dass ein Viskositätssensor (14)
zur Messung der Viskosität der Flüssigkeit (2) vorgesehen
ist.
- 5 14. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 13,
dadurch gekennzeichnet, dass Mittel (15) vorgesehen sind,
um die Flüssigkeit (2) in den und aus dem Kanal (4) zu
befördern.
- 10 15. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 14,
dadurch gekennzeichnet, dass der optische Aufbau (6) und
der Detektor (17) in einer strukturellen Einheit
integriert sind.
- 15 16. Verfahren zur Bestimmung der Durchmesser von
Nanopartikeln (1) in einer Flüssigkeit (2), **dadurch**
gekennzeichnet, dass das Verfahren die folgenden Schritte
umfasst:
- Aufnahme einer Serie von Bildern mittels einer
Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 15;
 - Bestimmung der Positionen der Beugungsbilder der
20 Nanopartikel (1) in den Bildern;
 - Bestimmung der Trajektorien (26, 27) der Nanopartikel
(1) entsprechend den Positionen der zugehörigen
Beugungsbilder in den Bildern;
 - Bestimmung von Diffusionskoeffizienten D der
25 Nanopartikel (1) aus deren Trajektorien (26, 27);
 - Berechnung der Durchmesser d der Nanopartikel (1)
mittels der Stokes-Einstein-Gleichung
- $$D = k_B \cdot T / (3 \cdot d \cdot \pi \cdot \eta),$$
- mit k_B der Boltzmann-Konstante, T der Temperatur in Kelvin
30 und η der Viskosität der Flüssigkeit (2).
17. Verfahren nach Anspruch 16, **dadurch gekennzeichnet,**
dass nach der Aufnahme der Serie von Bildern mindestens

einmal die Flüssigkeit (2) aus dem Kanal (4) entfernt wird, neue Flüssigkeit (2) in den Kanal (4) eingebracht wird und eine weitere Serie von Bildern aufgenommen wird.

- 5 18. Verfahren nach einem der Ansprüche 16 bis 17, **dadurch gekennzeichnet, dass** zur Bestimmung der Diffusionskoeffizienten D Trajektorien (26, 27) mit einer Länge von mindestens 200 Positionen, bevorzugt von mindestens 500 Positionen, besonders bevorzugt von mindestens 1000 Positionen verwendet werden, wobei zur
- 10 Bestimmung der Diffusionskoeffizienten D vorzugsweise nur Trajektorien (26, 27) mit einer Länge von mindestens 200 Positionen, bevorzugt von mindestens 500 Positionen, besonders bevorzugt von mindestens 1000 Positionen verwendet werden.
- 15 19. Verfahren nach einem der Ansprüche 16 bis 18, **dadurch gekennzeichnet, dass** eine Verteilung der berechneten Durchmesser d bestimmt wird.
- 20 20. Verwendung einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 15 zur Bestimmung der Größe und/oder Größenverteilung von Partikeln (1), vorzugsweise Verschleißpartikeln in einem flüssigen Schmierstoff (2), insbesondere in Motoröl.
- 25 21. Verwendung einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 15 zur Bestimmung der Größe und/oder Größenverteilung von Fremdpartikeln (1) in einem flüssigen Arzneimittel (2).
- 30 22. Verwendung einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 15 zur Bestimmung der Viskosität einer Flüssigkeit (2), in der sich Nanopartikel (1) bekannter Größe befinden.

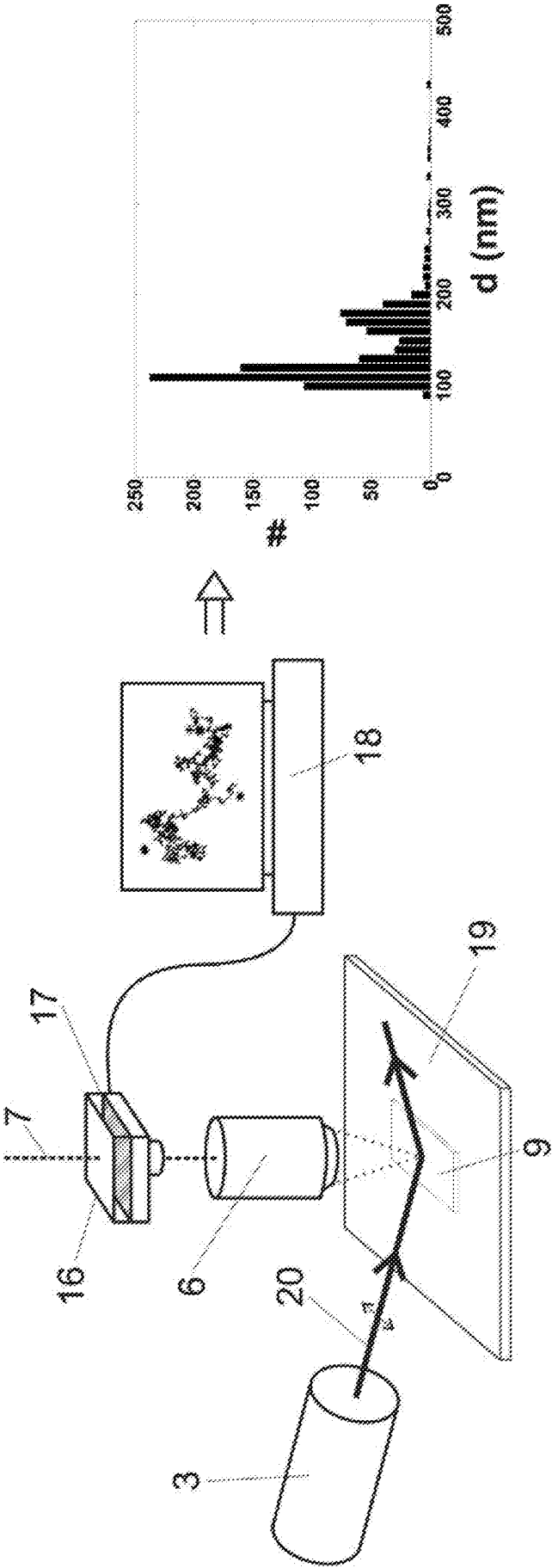


Fig. 1

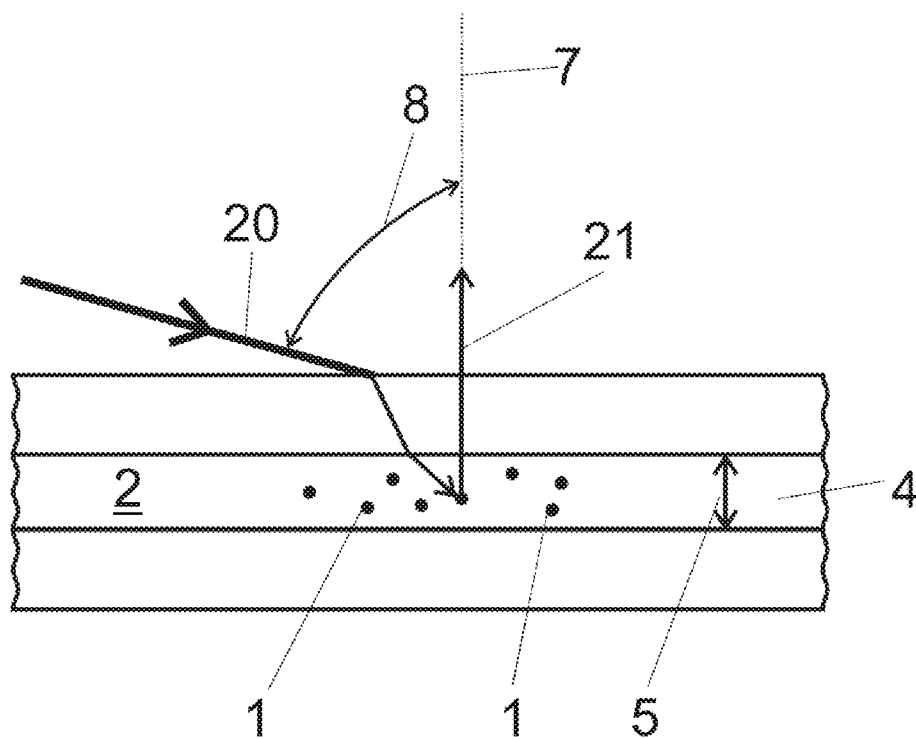


Fig. 2

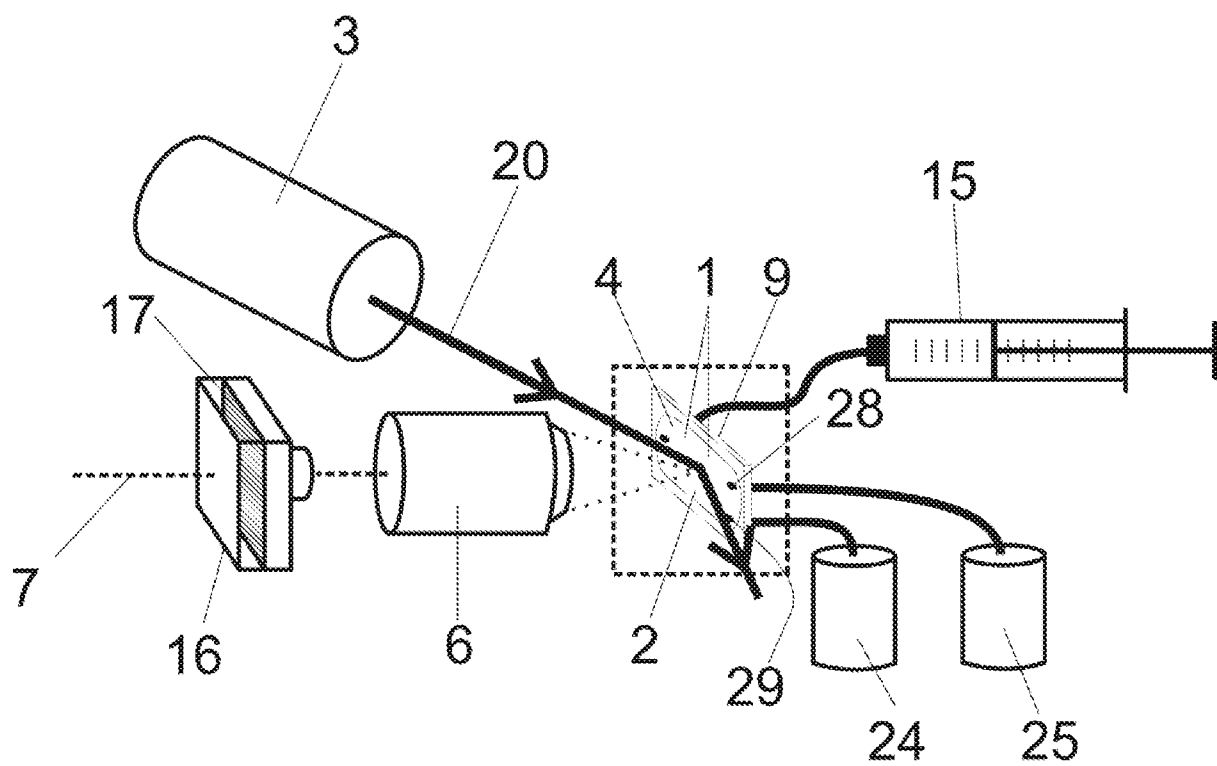


Fig. 3

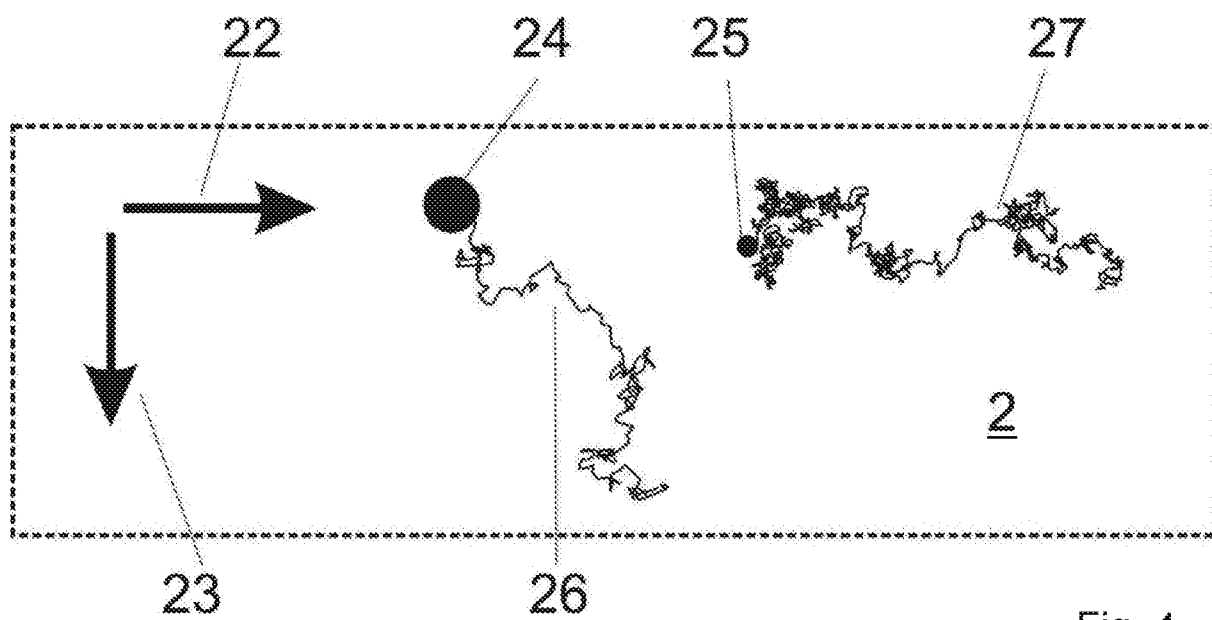


Fig. 4

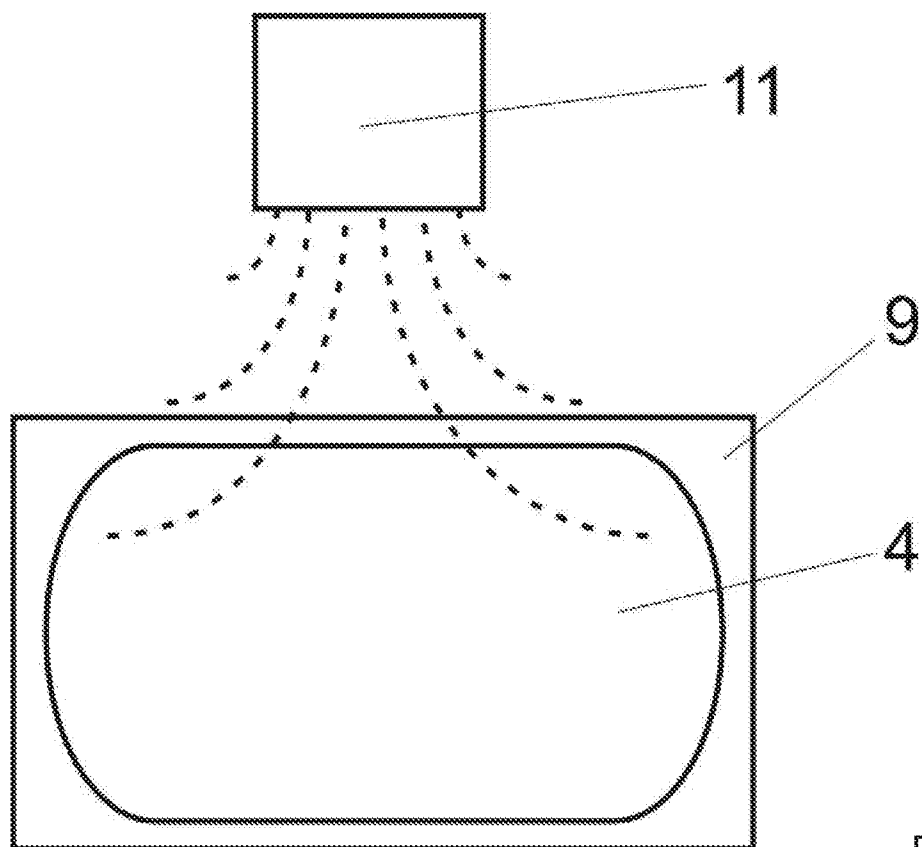


Fig. 5

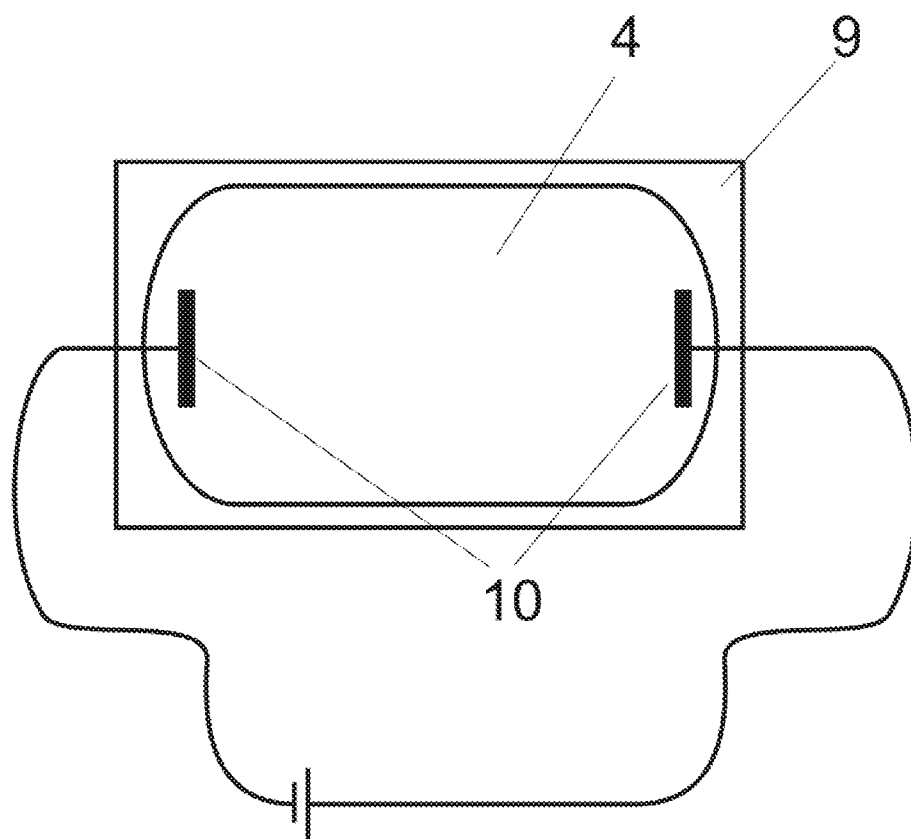


Fig. 6

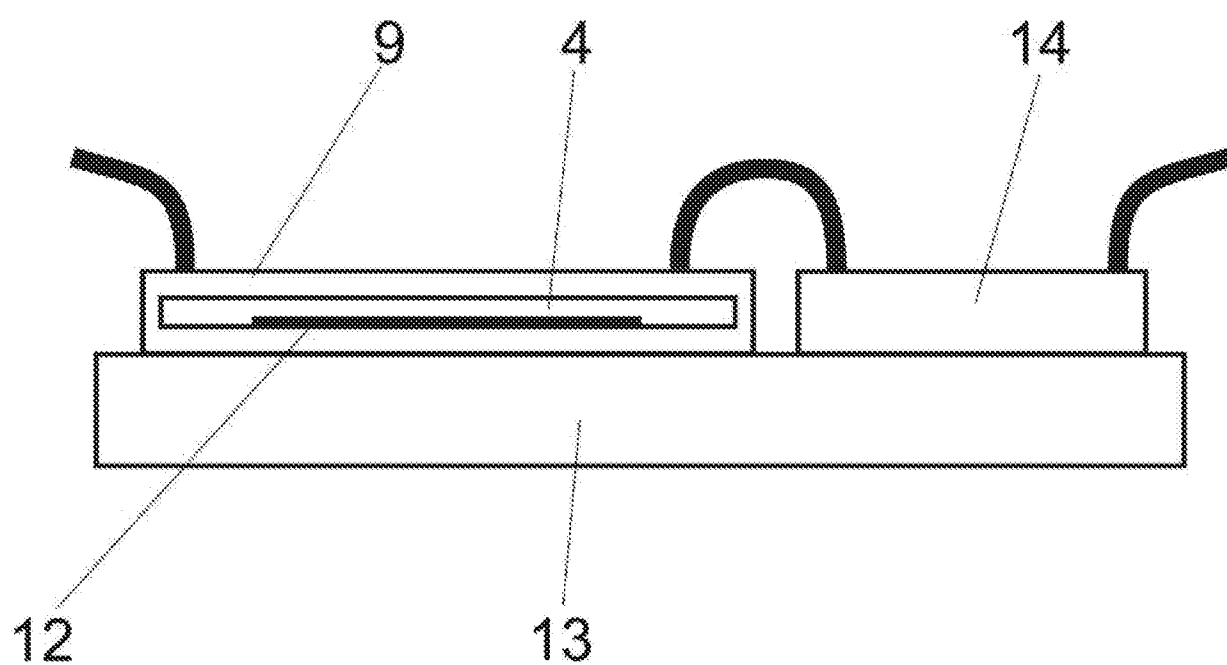


Fig. 7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/AT2015/050072

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. G01N15/14
ADD. G01N11/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2012/274760 A1 (KING FREDERICK DAVID [CA] ET AL) 1 November 2012 (2012-11-01) paragraph [0027] - paragraph [0029]; figure 1 paragraph [0048] - paragraph [0050]; figure 4A	1-22
X,P	----- CHRISTOPH HAIDEN ET AL: "Sizing of Metallic Nanoparticles Confined to a Microfluidic Film Applying Dark-Field Particle Tracking", LANGMUIR, vol. 30, no. 31, 12 August 2014 (2014-08-12), pages 9607-9615, XP055196500, ISSN: 0743-7463, DOI: 10.1021/la5016675 the whole document ----- -/-	1-22



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

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

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

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

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published 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; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 June 2015

Date of mailing of the international search report

29/06/2015

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mauritz, Jakob

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/AT2015/050072

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 2 647 977 A1 (ETH ZUERICH [CH]) 9 October 2013 (2013-10-09) paragraph [0010] - paragraph [0011] paragraph [0031]; figures 1a,1b -----	1-22

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/AT2015/050072

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2012274760 A1	01-11-2012	CA 2775506 A1	29-10-2012
		US 2012274760 A1	01-11-2012
		US 2015070699 A1	12-03-2015

EP 2647977 A1	09-10-2013	EP 2647977 A1	09-10-2013
		EP 2834616 A1	11-02-2015
		US 2015081228 A1	19-03-2015
		WO 2013149715 A1	10-10-2013

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

INV. G01N15/14

ADD. G01N11/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

G01N

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 2012/274760 A1 (KING FREDERICK DAVID [CA] ET AL) 1. November 2012 (2012-11-01) Absatz [0027] - Absatz [0029]; Abbildung 1 Absatz [0048] - Absatz [0050]; Abbildung 4A -----	1-22
X,P	CHRISTOPH HAIDEN ET AL: "Sizing of Metallic Nanoparticles Confined to a Microfluidic Film Applying Dark-Field Particle Tracking", LANGMUIR, Bd. 30, Nr. 31, 12. August 2014 (2014-08-12), Seiten 9607-9615, XP055196500, ISSN: 0743-7463, DOI: 10.1021/la5016675 das ganze Dokument ----- -/-	1-22



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" frühere Anmeldung oder Patent, die bzw. das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

18. Juni 2015

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

29/06/2015

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Mauritz, Jakob

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	EP 2 647 977 A1 (ETH ZUERICH [CH]) 9. Oktober 2013 (2013-10-09) Absatz [0010] - Absatz [0011] Absatz [0031]; Abbildungen 1a,1b -----	1-22

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/AT2015/050072

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US 2012274760	A1	01-11-2012	CA	2775506 A1	29-10-2012
			US	2012274760 A1	01-11-2012
			US	2015070699 A1	12-03-2015

EP 2647977	A1	09-10-2013	EP	2647977 A1	09-10-2013
			EP	2834616 A1	11-02-2015
			US	2015081228 A1	19-03-2015
			WO	2013149715 A1	10-10-2013
