

(19)



REPUBLIK  
ÖSTERREICH  
Patentamt

(10) Nummer:

**AT 408 376 B**

(12)

**PATENTSCHRIFT**

(21) Anmeldenummer: 616/99  
(22) Anmeldetag: 07.04.1999  
(42) Beginn der Patentdauer: 15.03.2001  
(45) Ausgabetag: 26.11.2001

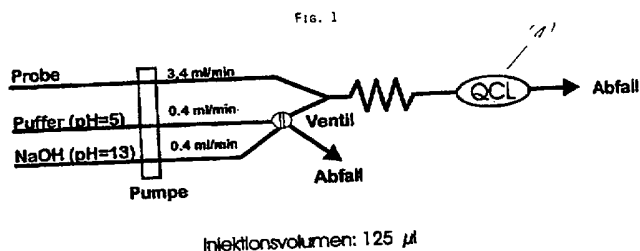
(51) Int. Cl.<sup>7</sup>: **G01N 21/35**

(56) Entgegenhaltungen:  
WO 92/17767

(73) Patentinhaber:  
LENDL BERNHARD DR.  
A-1160 WIEN (AT).

(54) VERFAHREN ZUR INFRAROT-OPTISCHEN BESTIMMUNG DER KONZENTRATION ZUMINDEST EINES ANALYTEN IN EINER FLÜSSIGEN PROBE

(57) Es wird ein Verfahren sowie eine Vorrichtung zur infrarot-optischen Bestimmung der Konzentration zumindest eines Analyten in einer flüssigen Probe beschrieben, wobei der zu messende Analyt vor oder während der Messung einer Modulation unterworfen wird, wobei die durch die Modulation des Analyten hervorgerufene Änderung der Infrarotabsorption als Funktion der zu ermittelnden Konzentration des Analyten gemessen wird, wobei die flüssige Probe mit Laserstrahlung im Infrarotbereich durchstrahlt wird, die bei mehreren Wellenlängen jeweils scharfe Intensitätspeaks aufweist.

**AT 408 376 B**

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur infrarot-optischen Bestimmung der Konzentration zumindest eines Analyten in einer flüssigen Probe, wobei der zu messende Analyt vor oder während der Messung einer Modulation unterworfen wird, wobei die durch die Modulation des Analyten hervorgerufene Änderung der Infrarotabsorption als Funktion der zu ermittelnden Konzentration des Analyten gemessen wird.

Die Erfindung betrifft weiters eine Vorrichtung zur infrarot-optischen Bestimmung der Konzentration zumindest eines Analyten in einer flüssigen Probe, mit einer von der Probenflüssigkeit durchströmten Probenküvette, welche im Strahlungsweg zwischen einer Strahlungsquelle zur Bereitstellung der Infrarotstrahlung und einem Detektor zur Messung der vom Analyten in der Probenküvette hervorgerufenen Infrarotabsorption angeordnet ist, und der Probenküvette eine Modulationsvorrichtung vorgeschaltet ist bzw. die Probenküvette eine Modulationsvorrichtung beinhaltet, in welcher der Analyt in einer sein Absorptionsverhalten ändernder Weise beeinflussbar ist.

Die Erfindung betrifft weiters die Verwendung einer solchen Vorrichtung zur infrarot-optischen Bestimmung der Konzentration zumindest eines Analyten in einer flüssigen Probe.

Die Konzentrationsmessung bzw. Detektion von Stoffen in einer Probe wird in vielen wissenschaftlichen und technischen Gebieten, z.B. in der Chemie, Verfahrenstechnik, Fertigungstechnik, Medizintechnik, Umweltanalytik oder Lebensmittelanalytik mit Hilfe von Absorptionsspektren, insbesondere im infraroten Spektralbereich durchgeführt, da gerade in diesem Bereich viele Analyten charakteristische Absorptionsbanden aufweisen, aus deren Intensität die Analytkonzentration ermittelt werden kann. Da in diesem Spektralbereich eine große Anzahl von Stoffen absorbieren, kann es zur Überlagerung des Absorptionsspektrums des Analyten durch andere in der Probe enthaltenen Stoffe kommen, wie etwa durch ein Lösungsmittel. Um diese Untergrundabsorption durch das Lösungsmittel von der Absorption durch den Analyten zu unterscheiden, sind eine Reihe von Verfahren beschrieben worden.

Die GB 1 521 085 A offenbart einen Detektor für einen Infrarot-Analysator, welcher zur Bestimmung der Konzentration einer bestimmten Komponente in einer flüssigen oder gasförmigen Probe dient. Zwischen der Probenküvette und der Strahlungsquelle ist ein für Infrarotstrahlung eines einzigen schmalen Wellenlängenbereiches durchlässiges Filter angeordnet. Dabei wird ein Wellenlängenbereich gewählt, der von der zu analysierenden Substanz absorbiert wird. Durch die Differenz der Absorptionsspektren der Probe mit Analyt und der Probe ohne Analyt kann die Gegenwart sowie die Konzentration des Analyten in der Probe festgestellt werden. Dieser beschriebene Analysator erfordert jedoch eine komplizierte Vorrichtung und die gewonnenen Ergebnisse sind nicht spezifisch genug.

Die WO 92/17767 betrifft ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Fett in einer Fettpartikel enthaltenden Emulsion unter Verwendung von IR-Absorptionstechniken, wobei der Absorptionsspeak bei einer Wellenzahl von etwa  $1160\text{--}1190\text{ cm}^{-1}$  zur Bestimmung herangezogen wird.

Eine weitere Vorrichtung zur Messung von Analyten in einer flüssigen Probe mit Hilfe der Messung von der Absorption von Infrarotstrahlen wird in der AT 404 514 B beschrieben. Hierbei wird der zu messende Analyt vor der Messung einer chemischen Reaktion unterworfen, welche die übrigen Bestandteile der flüssigen Probe unbeeinflusst lässt, und die durch die chemische Reaktion mit dem Analyten hervorgerufene Änderung der Infrarotabsorption wird als eindeutige Funktion der zu ermittelnden Konzentration des Analyten gemessen. Diese chemische Reaktion ist z.B. eine pH-Änderung, so dass der zu analysierende Stoff vor der pH-Änderung in einer bestimmten Form vorliegt, wie etwa einfach geladenes Substrat oder ungeladene Phosphorsäure, die bei der angegebenen Wellenlänge nicht oder nur geringfügig absorbiert. Nach der pH-Änderung liegt der Analyt in einer Form, z.B. dreifach geladenes Phosphat, vor, der bei der angegebenen Wellenlänge ein Absorptionsmaximum aufweist. Durch die Differenz der Messung vor und nach der chemischen Reaktion kann die Gegenwart und die Konzentration des Analyten bestimmt werden. Um Licht mit einer bestimmten Wellenlänge zu erzeugen, wird zwischen der Probenküvette und der Strahlungsquelle ein für Infrarotstrahlung eines einzigen schmalen Wellenlängenbereiches durchlässiges Filter angeordnet. Dieses an sich einfache und schnelle Verfahren mit der vorgeschalteten chemischen Reaktion weist jedoch Schwierigkeiten in Bezug auf die Empfindlichkeit und Robustheit des Analysators auf.

Es ist demnach ein Ziel der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren sowie eine Vorrichtung zur infrarot-optischen Bestimmung der Konzentration eines Analyten in einer flüssigen Probe zur

Verfügung zu stellen, das einfach und schnell durchführbar ist, eine ausreichende Empfindlichkeit und Robustheit, um ein marktfähiges Produkt zu erzielen, aufweist und insbesondere für einen On-line Betrieb geeignet ist.

Das Verfahren der eingangs angeführten Art ist dadurch gekennzeichnet, dass die flüssige Probe mit Laserstrahlung im Infrarotbereich durchstrahlt wird, wobei die Infrarotstrahlung bei mehreren Wellenlängen jeweils scharfe Intensitätspeaks aufweist.

Laser erzeugen Infrarotstrahlung mit hoher Lichtdichte, wobei auf Grund der hohen spektralen Dichte mit Lasern spektroskopische Verfahren möglich sind, die mit herkömmlichen Lichtquellen nicht durchführbar sind. Die Kombination der Spektroskopie mit vorgeschaltener bzw. während der Messung durchgeführter Modulation und der Laserspektroskopie ergibt ein Verfahren zur infrarot-optischen Bestimmung von Analyten in einer flüssigen Probe, die eine bedeutend höhere Empfindlichkeit und Robustheit als die herkömmlichen Verfahren aufweist.

Unter der Modulation wird jegliche Änderung der Absorption der Probe bzw. des Analyten verstanden, so etwa eine chemische Reaktion oder eine Auftrennung der Probe, etwa mittels eines chromatographischen Verfahrens. Eine chemische Reaktion ist z.B. eine Änderung des pH-Werts der flüssigen Probe, so dass der Analyt nach der chemischen Reaktion in einer anderen Form vorliegt, in der er ein charakteristisches Absorptionsspektrum aufweist. Zum Beispiel wird bei der Konzentrationsbestimmung von Phosphat, das im sauren Bereich praktisch ausschließlich in den Formen  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  und  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (einfach geladenes Phosphat oder ungeladene Phosphorsäure) vorliegt, vom sauren pH auf einen pH-Wert auf über 13 erhöht, so dass Phosphat praktisch ausschließlich in der dreifach geladenen Form vorliegt oder auf pH 9 bis 11, so dass das Phosphat praktisch ausschließlich in der zweifach geladenen Form vorliegt. In der dreifach geladenen Form weist Phosphat ein Absorptionsmaximum bei einer Wellenzahl von  $1005\text{ cm}^{-1}$  und in der zweifach geladenen Form weist das Phosphat ein Absorptionsmaximum von  $1088\text{ cm}^{-1}$  auf.

Es können natürlich weitere Ionen sowie jegliche andere Stoffe, wie z.B. organische Säuren, Alkohole, Kohlehydrate, etc. sehr genau gemessen werden. Die Änderung des pH-Werts wird z.B. durch Zusatz einer Lauge bzw. Säure sowie auch mit einem Ionentauscher durchgeführt. Für weitere Ausführungsformen dieses Verfahrens der infrarot-optischen Bestimmung mit Hilfe einer chemischen Reaktion ist auf die Patentschrift AT 404 514 B zu verweisen.

Unter Modulation wird weiters z.B. eine Chelatierung verstanden, wobei der Analyt mit einem zugesetzten Reagens ein Chelat bildet, dessen Absorption der Infrarotstrahlung gemessen wird, so daß die Konzentration des Analyten präzise bestimmt werden kann. Als Komplexbildungsreaktion kommt etwa EDTA (Ethylendiamintetraessigsäure)- $\text{Ca}^{2+}$ -Komplexierung oder Glukose-Borax-Komplexierung in Frage, um nur zwei Beispiele zu nennen. Der Vorteil der zuletzt genannten Komplexierung besteht darin, daß in einer Probe, die neben Zucker auch Alkohole aufweist, auch höhere Zuckergehalte durch Komplexierung präzise gemessen werden können, wohingegen bei einer direkten, einfachen infrarot-optischen Bestimmung der Probe die Zucker und Alkohole nicht nebeneinander bestimmbar sind, da sich die Absorptionsspektren überlagern.

Für weitere Möglichkeiten der Technik der Modulation wird auf die Schrift von J. Ruzicka "The second coming of flow-injection analysis" (Analytica Chimica Acta, 261 (1992) 3-10) verwiesen.

Unter Modulation wird auch die Auftrennung der Probe, etwa mittels eines chromatographischen Verfahrens auf einer Chromatographiesäule verstanden. Dabei wird die flüssige Probe umfassend den bzw. die Analyten chromatographisch aufgetrennt, wonach die aufgetrennte Probe bei Verlassen der Säule mit Infrarotstrahlung hoher Lichtdichte durchstrahlt wird, welche Infrarotstrahlung bei mehreren Wellenlängen scharfe Intensitätspeaks aufweist. Jeder Analyt absorbiert Strahlung einer definierten Wellenlänge, so daß die Absorption dieses bestimmten Peaks auch bei unvollständiger Auftrennung quantifiziert werden kann.

Weiters wird unter Modulation auch eine Wechselwirkung zwischen einer biologischen Probe (z.B. Proteinlösung, DNA-Lösung, Zellkulturen, etc.) und einem bestimmten Arzneimittelwirkstoff verstanden, wobei eine etwaige Wechselwirkung zwischen der biologischen Probe und dem Wirkstoff zwangsläufig mit einer Konzentrationsänderung an freiem Wirkstoff verbunden ist.

Bei Verwendung von zwei oder mehreren Infrarotstrahlungsquellen verschiedener Wellenlängen können bei Chromatographieverfahren auch unvollständig aufgetrennte Peaks den jeweiligen Analyten präzise zugeordnet werden, da zwei oder mehrere Spuren ("traces") bei verschiedenen Wellenlängen aufgenommen werden und durch Vergleich der Spuren eventuelle Unklarheiten bei

der Zuordnung der jeweiligen Peaks ausgeräumt werden (so können verschiedene Analyten in einer Spur ("trace") absorbieren, in den anderen jedoch nicht und umgekehrt, vgl. auch Journal of Chromatography, A 824 (1998) 159-167).

Da die Infrarotstrahlung mittels zumindest eines Lasers erzeugt wird kann auf diese Weise maximale Lichtdichte und beste Auflösung erzielt werden. Die Einstellungen des Lasers hängen vom gewünschten Wellenlängenbereich ab.

Dabei sind prinzipiell jegliche Laser zur Herstellung von Infrarotstrahlung einsetzbar, wie z.B. Diodenlaser, Farbstofflaser, Farbzentrenlaser, um nur einige Beispiele zu nennen. Für das erfindungsgemäße Verfahren ist es wichtig, dass die Laser praktisch monochromatisches Licht erzeugen. Auf diese Weise ist sichergestellt, dass ein Spektrum im gewünschten Wellenlängenbereich erhalten wird, das mindestens einen scharfen Peak bzw. scharfe Peaks bei eng beieinander liegenden Wellenlängen aufweist. Ist ein Analyt in der Probe vorhanden, der bei einer ganz bestimmten Wellenlänge Strahlung absorbiert, wird die Konzentration dieses Stoffes selbst in geringen Konzentrationen eindeutig detektiert.

Bei Diodenlasern wird durch eine p-n Halbleiterdiode in Transmissionsrichtung ein Strom geschickt, so dass Elektronen und Löcher im Bereich des p-n Übergangs rekombinieren. Die Endflächen der Diode wirken hierbei meist als resonanter Spiegel. Diodenlaser haben keine fest vorgegebene Wellenlänge.

Farbzentrenlaser sind Festkörperlaser, bei dem als aktives Medium ein Kristall mit Farbzentren verwendet wird. Mit verschiedenen Kristallen überdecken sie den gesamten Bereich des nahen infraroten Wellenbereichs: 0,8 bis 4  $\mu\text{m}$ .

Farbstofflaser sind Laser, deren aktives Medium aus in Flüssigkeiten gelösten organischen Farbstoffen besteht. Die Farbstoffe besitzen breite Emissionsbanden.

Ein weiteres günstiges Verfahren ist dadurch gegeben, daß sich bei Verwendung von mehreren Lasern die Mittelwerte der Intensitätspeaks jeweils um eine Wellenzahl von etwa 50 unterscheiden. Die zur Zeit hergestellten Laser erzeugen eine Strahlung, die in einem Wellenzahl-Bereich von etwa 40 bis 50 durchstimmbare sind. Werden nun zwei Laser eingesetzt, die Strahlungen erzeugen, deren Wellenlängen sich um eine Wellenzahl von 50 unterscheiden, wird durch diese beiden Laser ein Wellenzahl-Bereich von etwa 100 abgedeckt. Je mehr Laser eingesetzt werden, umso größer wird der Wellenzahl-Bereich, der dadurch abgedeckt wird.

Besonders bevorzugt wird ein Verfahren zur Verfügung gestellt, wobei sich die Intensitätspeaks des Emissionsspektrums eines Lasers um eine Wellenzahl von etwa 1 (0,01 Mikrometer) unterscheiden. Dieser Unterschied erlaubt eine hochspezifische Bestimmung selbst von geringen Mengen eines Analyten, da die Absorption einer einzigen Wellenlänge präzise detektiert und quantifiziert werden kann. Solche Spektren sind nur mit Hilfe von Lasern herstellbar. Mit Hilfe der konventionellen Infrarotlichtquellen waren lediglich Wellenlängen, die sich um eine Wellenzahl von etwa 50 bis 100  $\text{cm}^{-1}$  unterscheiden, möglich.

Vorzugsweise wird die Infrarotstrahlung mittels mehrerer Laser erzeugt. Jeder Laser besitzt ein spezifisches Emissionsspektrum und somit wird es möglich, jeglichen gewünschten Wellenlängenbereich abzudecken. Je nachdem, welche Wellenlänge(n) von den zu bestimmenden Analyten absorbiert wird (werden), werden die Laser ausgewählt.

Vorzugsweise wird ein Verfahren eingesetzt, wobei der bzw. die Laser als Quantum-Kaskaden-Laser ausgebildet ist bzw. sind. Ein Quantum-Kaskaden-Laser ist ein Halbleiterlaser, der nur eine Art von Träger verwendet, und der auf den Prinzip der Quantumbegrenzung basiert. In einem Quantum-Kaskaden-Laser vollbringen die Elektronen Übergänge zwischen begrenzten Zuständen in ultradünnen alternierenden Schichten eines Halbleitermaterials. Die Emissionswellenlänge hängt nunmehr von der Dicke der Schichten ab, so dass ein weites Spektrum von mittleren Infrarotwellenlängen sowie auch weit in den fernen Infrarotbereich erzeugt werden kann, insbesondere zwischen 3,5 und 17  $\mu\text{m}$ . Ein besonderer Vorteil eines Quantum-Kaskaden-Lasers besteht darin, dass höhere Betriebstemperaturen möglich sind. Der Nachteil fast aller Diodenlaser ist die große Stromdichte, die erreicht wird, die ohne Kühlung zu einer thermischen Zerstörung führen würde. Die Effizienz der Kühlung dieser Zone begrenzt den Entladungsstrom und damit die Lichtleistung des Diodenlasers. Hingegen können Quantum-Kaskaden-Laser bei und über Raumtemperatur eingesetzt werden, was bislang noch nicht möglich war. Da der Quantum-Kaskaden-Laser auf einer Kaskade von identischen Zuständen (typischerweise 20 bis 50) basiert, emittiert ein Elektron

viele Photonen, so dass eine höhere optische Leistung emittiert wird. Ein weiterer Vorteil des Quantum-Kaskaden-Lasers besteht darin, dass er robuster ist. Auf Grund all dieser Vorteile ist das Verfahren zur infrarot-optischen Bestimmung der Konzentration zumindest eines Analyten in einer flüssigen Probe mit vorgeschaltener bzw. während der Messung durchgeführter Modulation, wobei die Infrarotstrahlung mittels eines Quantum-Kaskaden-Lasers erzeugt wird, spezifisch, rasch durchführbar und somit optimal für den industriellen Einsatz.

Dabei ist es jedenfalls besonders von Vorteil, wenn der bzw. die Laser durchstimmbar ausgebildet ist bzw. sind, d.h., daß die Wellenlänge des Lasers kontrolliert verändert werden kann. Wird ein durchstimmbarer Laser zur infrarot-optischen Bestimmung eingesetzt, wird das Verfahren wesentlich flexibler. Dadurch wird ermöglicht, daß ein einziges Gerät für die Bestimmung aller möglichen Analyten, Komplexe, Moleküle etc. eingesetzt und an die unterschiedlichsten chemischen Probleme angepaßt werden kann. Bei Diodenlaser ist die Wellenlänge in einem Bereich, der durch das verwendete Halbleitermaterial gegeben ist, durchstimmbar, was durch Veränderung der Temperatur und des Entladungsstromes erfolgt. Durchstimmbare Diodenlaser liefern Licht im nahen, mittleren und fernen Infrarot zwischen 0,8 und 32  $\mu\text{m}$ .

Die Vorrichtung der eingangs angeführten Art ist dadurch gekennzeichnet, dass als Strahlungsquelle für die Infrarotstrahlung zumindest ein, vorzugsweise durchstimmbarer Laser vorgesehen ist, der Strahlung hoher Lichtdichte erzeugt, welche bei mehreren Wellenlängen jeweils scharfe Intensitätspeaks aufweist. Die Vorrichtung kann so konstruiert sein, dass eine On-line Messung von Analyten möglich ist. Somit wird eine Vorrichtung zur Verfügung gestellt, die einen einfachen Aufbau aufweist und eine rasche und spezifische Bestimmung der Analyten ermöglicht.

Eine besonders bevorzugte Vorrichtung ist dadurch gekennzeichnet, dass zumindest ein, vorzugsweise durchstimmbarer Quantum-Kaskaden-Laser Infrarotstrahlung mindestens zweier Wellenlängen mit jeweils scharfen Intensitätspeaks erzeugt. Wie oben bereits beschrieben, ist dadurch eine äußerst präzise Bestimmung von Analyten möglich. Der bzw. die Quantum-Kaskaden-Laser können dabei Infrarotstrahlung erzeugen, deren Intensitätspeaks sich um eine Wellenzahl von etwa 1 (0,01 Mikrometer) unterscheiden. Mit Hilfe dieser Vorrichtung wird die präzise Messung des Analyten möglich, da eine hohe Lichtintensität im Bereich der Infrarotabsorptionsbande des Analyten erzielt wird.

Vorzugsweise ist eine Vorrichtung dadurch gekennzeichnet, daß bei Verwendung mehrerer Laser sich die Mittelwerte der Intensitätspeaks der Infrarotstrahlung jeweils um eine Wellenzahl von etwa 50 unterscheiden.

Weiters betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung eines Quantum-Kaskaden-Lasers als Infrarot-Strahlungsquelle zur infrarot-optischen Bestimmung der Konzentration zumindest eines Analyten in einer flüssigen Probe, wobei der zu messende Analyt vor bzw. während der Messung einer Modulation unterworfen wird, wobei die durch die Modulation der Probe hervorgerufene Änderung der Infrarotabsorption als Funktion der zu ermittelnden Konzentration des Analyten gemessen wird.

Die vorliegende Erfindung wird anhand der in den Zeichnungen dargestellten Figuren weiter erläutert, auf die sie jedoch nicht beschränkt sein soll, wobei Fig. 1 schematisch eine Vorrichtung darstellt, wobei die vorgeschaltene Modulation eine pH-Erhöhung der Probe ist; Fig. 2a das Absorptionsspektrum von  $\text{PO}_4^{3-}$  und  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ; Fig. 2b das Emissionsspektrum eines Quantum-Kaskaden-Lasers; Fig. 3 das zu Fig. 2a korrespondierende Spannung-Zeit-Diagramm; Fig. 4 das Absorptionsspektrum von EDTA und  $\text{EDTA}+\text{Ca}^{2+}$ ; Fig. 5 das Absorptionsspektrum von reiner Glukose und von Glukose im Glukose-Borax-Komplex; und Fig. 6 Emissionsspektren von zwei Quantum-Kaskaden-Lasern darstellen.

In Fig. 1 ist eine Vorrichtung zur infrarot-optischen Bestimmung eines Analyten in einer flüssigen Probe mit Hilfe eines Quantum-Kaskaden-Lasers (1) dargestellt. Der Detektion ist eine Modulation des Analyten, Phosphat, vorgeschaltet, nämlich eine pH-Änderung. Die Probe wird dem Detektor QCL mit 3.4 ml/min zugeführt. Vor dem Detektor wird der Probe entweder ein Puffer mit einem pH-Wert von 5 zugeetzt oder eine Natronlauge mit einem pH-Wert von 13, je nachdem in welcher Stellung sich das Ventil befindet. In Fig. 2a ist ersichtlich, daß sich das Absorptionsspektrum entsprechend der Änderung des pH-Werts ändert. Der schwarze Balken kennzeichnet die Intensitätspeaks, die der verwendete Quantum-Kaskaden-Laser (1) erzeugt (s. auch die darunterliegende Fig. 2b). Bis zu etwa 20 sek (pH=5) liegt der Analyt als  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  vor. In der Zeit von

30 sek bis etwa 60 sek liegt der Analyt als PO vor (pH=13). Bei einem pH-Wert von 5 wird die Strahlung weniger absorbiert, bei einem pH-Wert von 13 wird deutlich mehr Strahlung absorbiert, so daß in diesem Bereich ein Peak entsteht. Anschließend (nach 60 sek) wird der pH wieder auf pH=5 gesenkt, so daß der Analyt die Strahlung weniger absorbiert.

In Fig. 3 ist das zu Fig. 2a korrespondierende Spannungs-Zeit-Diagramm gezeigt. Wird weniger Strahlung absorbiert (pH=5), so wird eine maximale Spannung von über 0.0115 V gemessen. Wird der pH-Wert auf 13 erhöht, so daß der Analyt die Strahlung stärker absorbiert, so sinkt die gemessene Spannung auf ein Minimum von unter 0.01 V. Mit der Zeit wurde der pH-Wert geändert, so daß die in Fig. 3 ersichtliche Zick-Zack-Kurve entsteht.

In Fig. 4 sind zwei Infrarot-Absorptionsspektren dargestellt. Vor der Absorptionsmessung kann eine Chelatierung vorgeschaltet werden (das Absorptionsspektrum sowohl des Chelats EDTA-Ca<sup>2+</sup> als auch des EDTA ohne Ca<sup>2+</sup> ist dargestellt). Die Unterschiede der Peakhöhen könnten mit Hilfe des Quantum-Kaskaden-Lasers (1) präzise festgestellt werden.

Fig. 5 zeigt ebenfalls zwei Absorptionsspektren, wobei die der Detektion vorgeschaltene Modulation eine Komplexierung von Glukose mit Borax ist. Das Spektrum der reinen Glukose weist andere Peakintensitäten auf als das Spektrum der Glukose im Glukose-Borax-Komplex, was bei Verwendung eines Quantum-Kaskaden-Lasers (1) präziser meßbar ist.

Fig. 6 stellt zwei Emissionsspektren dar, die von verschiedenen Quantum-Kaskaden-Lasern A, B erzeugt wurden. Es ist ersichtlich, daß die Wellenlängen jeweils scharfe Intensitätspeaks aufweisen, wobei sich die Wellenlängen um eine Wellenzahl von etwa 1 (0,01 µm) unterscheiden. (Bei Verwendung eines Quantum-Kaskaden-Lasers sind die Peaks klar ersichtlich, und die Messung wird empfindlich).

## PATENTANSPRÜCHE:

1. Verfahren zur infrarot-optischen Bestimmung der Konzentration zumindest eines Analyten in einer flüssigen Probe, wobei der zu messende Analyt vor oder während der Messung einer Modulation unterworfen wird, wobei die durch die Modulation des Analyten hervorgerufene Änderung der Infrarotabsorption als Funktion der zu ermittelnden Konzentration des Analyten gemessen wird, dadurch gekennzeichnet, daß die flüssige Probe mit Laserstrahlung im Infrarotbereich durchstrahlt wird, wobei die Strahlung bei mehreren Wellenlängen jeweils scharfe Intensitätspeaks aufweist.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß bei Verwendung mehrerer Laser zur Erzeugung der Laserstrahlung sich die Mittelwerte derer Intensitätspeaks jeweils um eine Wellenzahl von etwa 50 unterscheiden.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß sich die Intensitätspeaks des Emissionsspektrums eines Lasers um eine Wellenzahl von etwa 1 (0,01 Mikrometer) unterscheiden.
4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß der bzw. die Laser als Quantum-Kaskaden-Laser ausgebildet ist bzw. sind.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß der bzw. die Laser durchstimmbar ausgebildet ist bzw. sind.
6. Vorrichtung zur infrarot-optischen Bestimmung der Konzentration zumindest eines Analyten in einer flüssigen Probe, mit einer von der Probenflüssigkeit durchströmten Probenküvette, welche im Strahlungsweg zwischen einer Strahlungsquelle zur Bereitstellung der Infrarotstrahlung und einem Detektor zur Messung der vom Analyten in der Probenküvette hervorgerufenen Infrarotabsorption angeordnet ist und der Probenküvette eine Modulationsvorrichtung vorgeschaltet ist bzw. die Probenküvette eine Modulationsvorrichtung beinhaltet, in welcher der Analyt in einer sein Absorptionsverhalten ändernder Weise beeinflussbar ist, dadurch gekennzeichnet, daß als Strahlungsquelle für die Infrarotstrahlung zumindest ein, vorzugsweise durchstimmbarer Laser (1) vorgesehen ist, der Strahlung hoher Lichtdichte erzeugt, welche bei mehreren Wellenlängen jeweils scharfe Intensitätspeaks aufweist.
7. Vorrichtung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß zumindest einer der Laser als

vorzugsweise durchstimmbarer Quantum-Kaskaden-Laser ausgebildet ist.

8. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 6 oder 7, dadurch gekennzeichnet, daß bei Verwendung mehrerer Laser sich die Mittelwerte der Intensitätspeaks der Infrarotstrahlung jeweils um eine Wellenzahl von etwa 50 unterscheiden.
- 5 9. Verwendung zumindest eines Quantum-Kaskaden-Lasers als Infrarotstrahlungsquelle zur infrarot-optischen Bestimmung der Konzentration zumindest eines Analyten in einer flüssigen Probe, wobei der zu messende Analyt vor bzw. während der Messung einer Modulation unterworfen wird, wobei die durch die Modulation des Analyten hervorgerufene Änderung der Infrarotabsorption als Funktion der zu ermittelnden Konzentration des Analyten
- 10 gemessen wird.

**HIEZU 6 BLATT ZEICHNUNGEN**

15

20

25

30

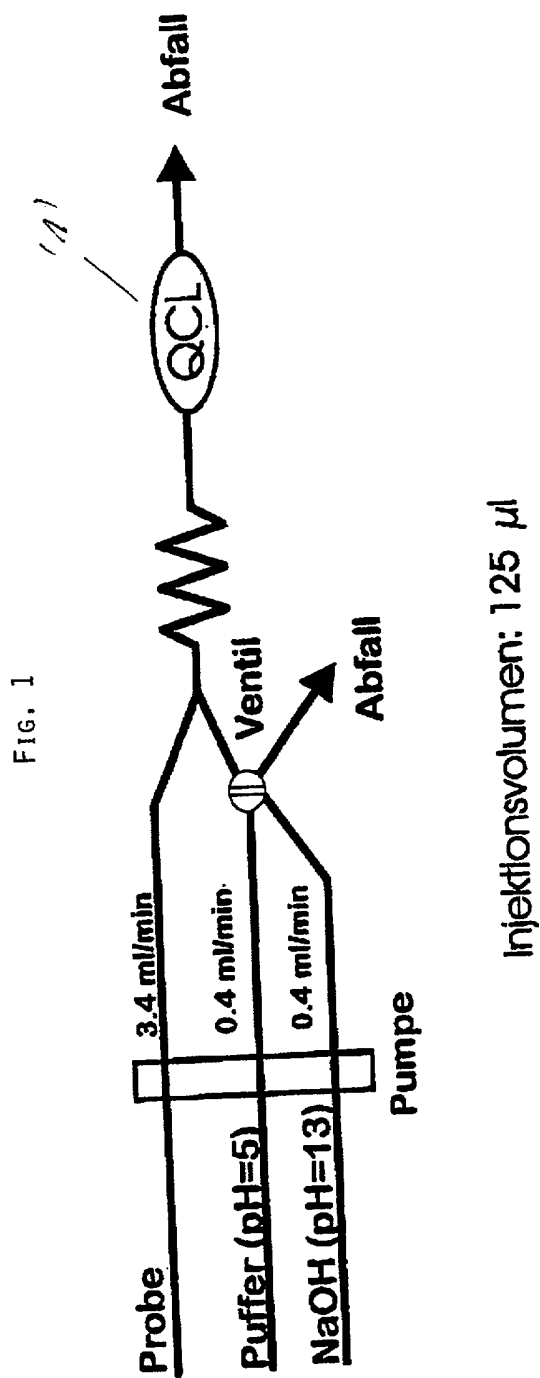
35

40

45

50

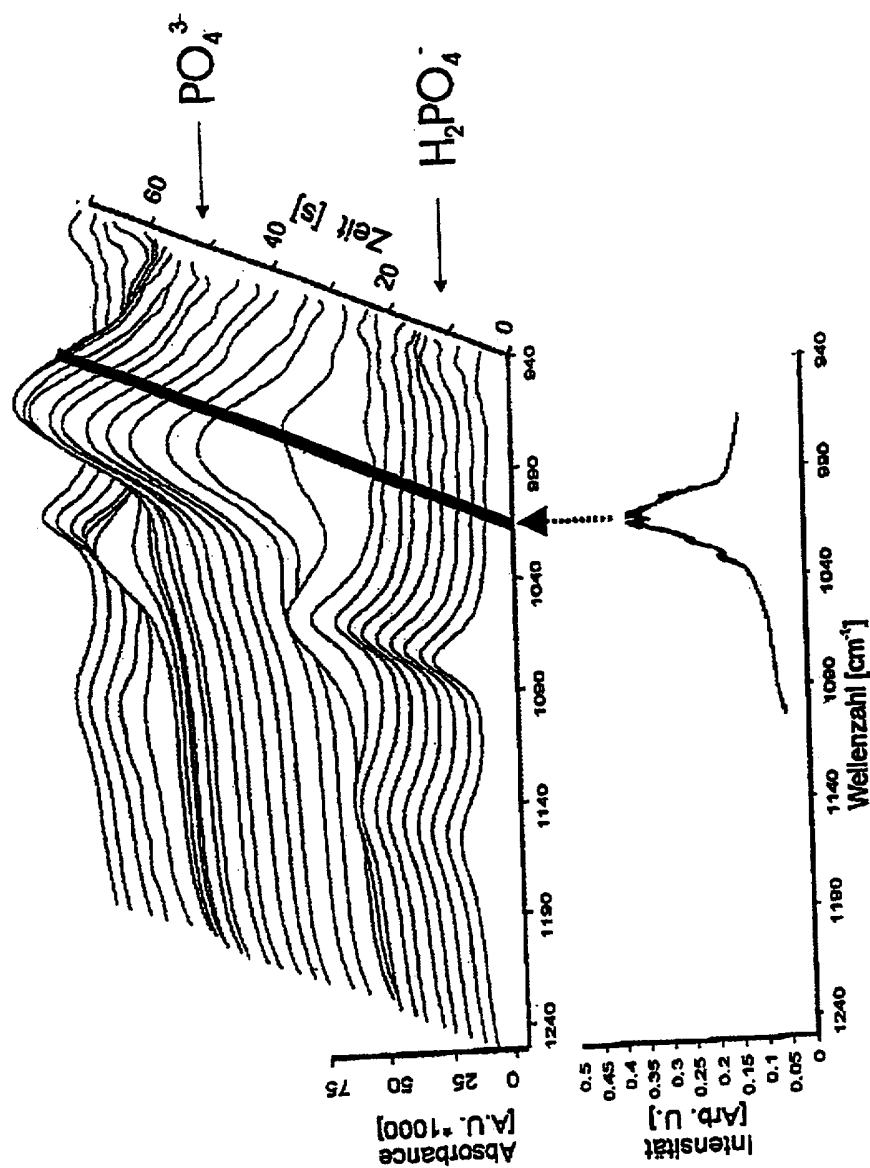
55





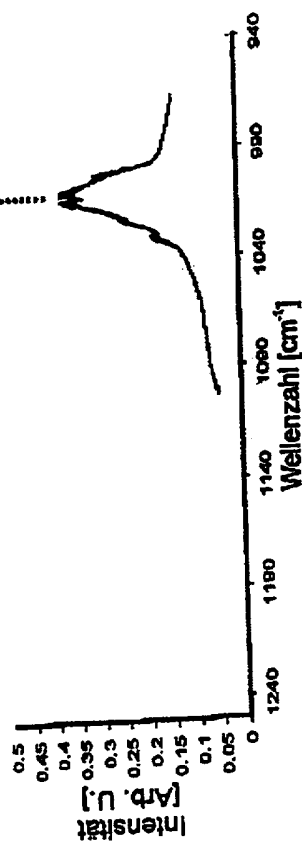
FTIR:

FIG. 2A



Laser:

FIG. 2B



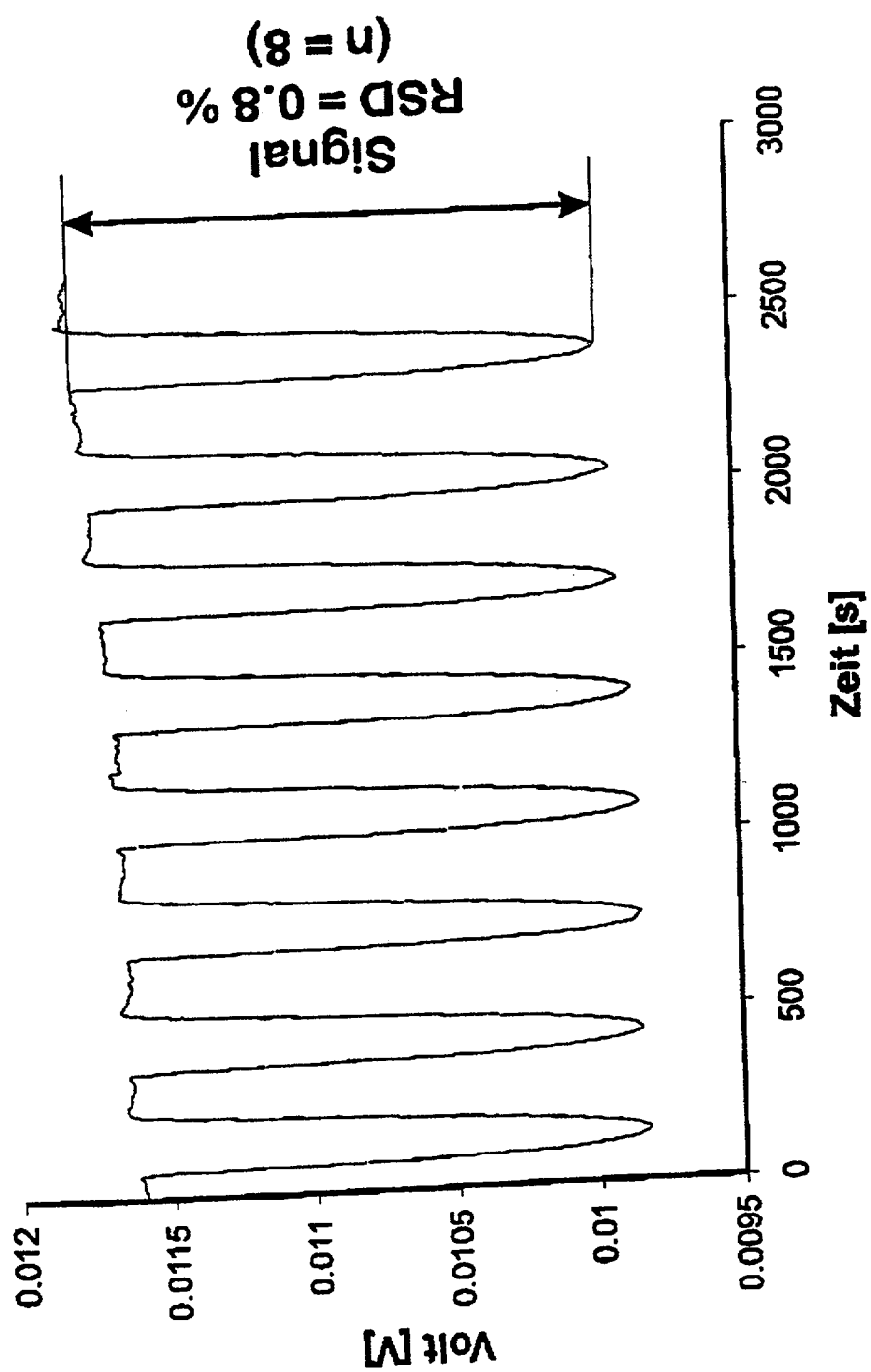


FIG. 3

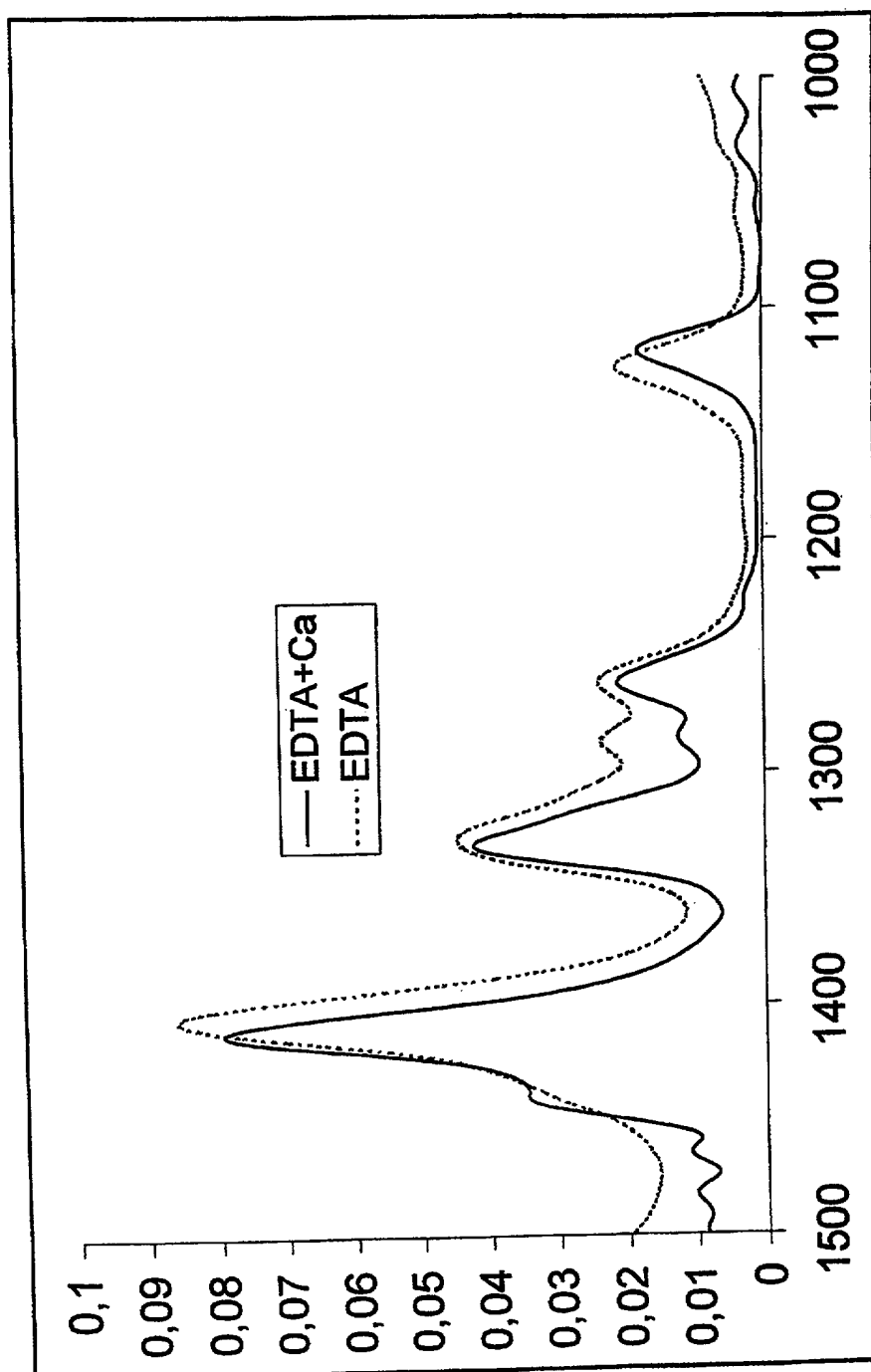


FIG. 4

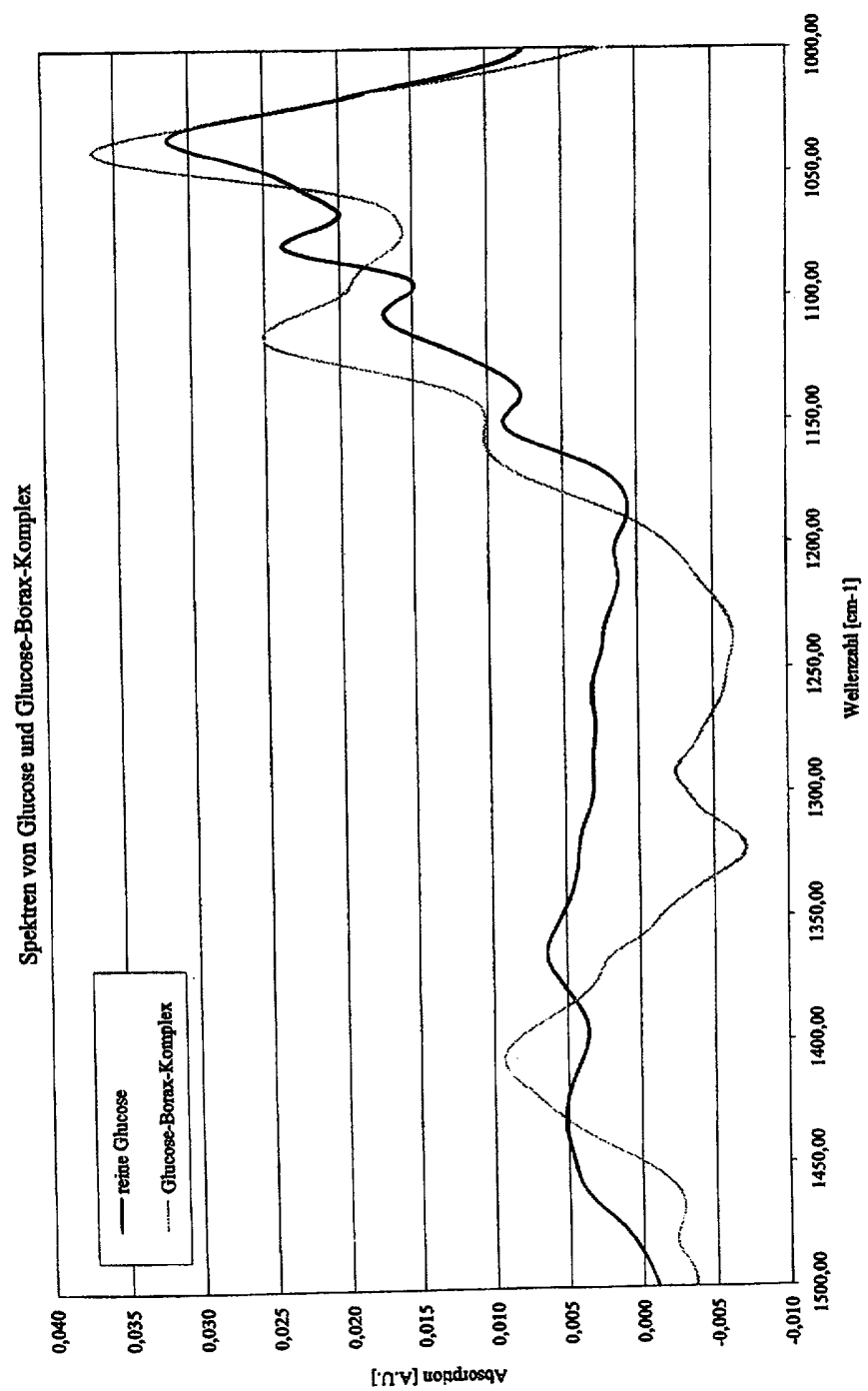


Fig. 5

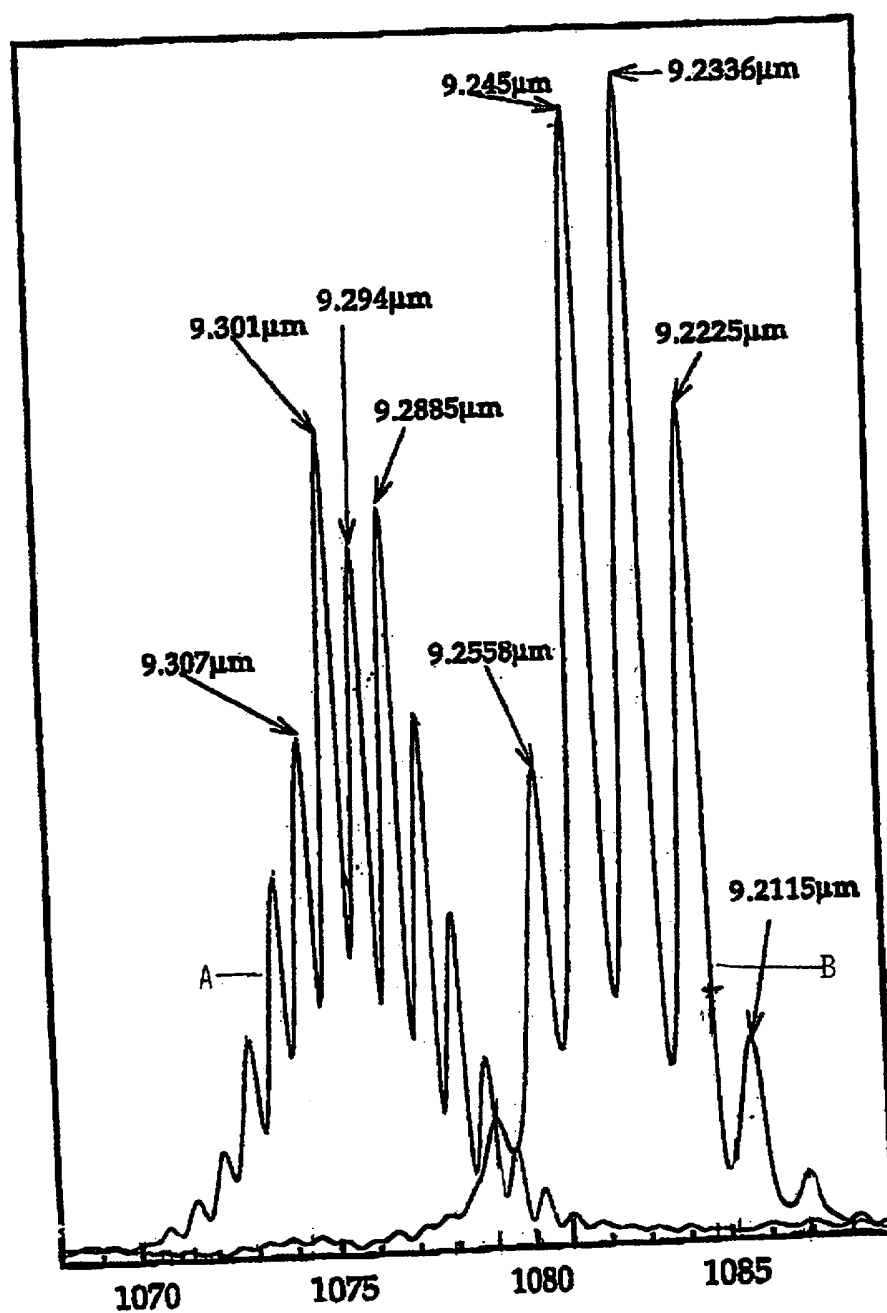


FIG. 6