

(12)

PATENTSCHRIFT

(21) Anmeldenummer: 2098/83

(51) Int.Cl.⁵ : **G01N 21/64**
G01N 21/76

(22) Anmeldetag: 8. 6.1983

(42) Beginn der Patentdauer: 15.12.1989

(45) Ausgabetag: 10. 7.1990

(73) Patentinhaber:

AVL GESELLSCHAFT FÜR VERBRENNUNGSKRAFTMASCHINEN
UND MESSTECHNIK MBH. PROF.DR.DR.H.C. HANS LIST
A-8020 GRAZ, STEIERMARK (AT).

(72) Erfinder:

WOLFBEIS OTTO S. DR.
GRAZ, STEIERMARK (AT).
URBANO EDMUND DR.
GRAZ, STEIERMARK (AT).

(54) VERFAHREN ZUR FLUORIMETRISCHEN BESTIMMUNG DER KONZENTRATION VON IN EINER SUBSTANZ ENTHALTENEN
STOFFEN UND ANORDNUNG ZUR DURCHFÜHRUNG DIESES VERFAHRENS

AT 390 840 B

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur fluorimetrischen Bestimmung der Konzentration von in einer Substanz enthaltenen Stoffen, z. B. Gasen, Flüssigkeiten, mit Fluoreszenzindikatoren, deren Fluoreszenzintensität von den zu bestimmenden Stoffen gemindert bzw. gelöscht wird. Ferner betrifft die Erfindung eine Anordnung zur Durchführung des Verfahrens, bei der die zu bestimmenden Stoffe enthaltende Substanz in einem Probenraum angeordnet ist und mit den Fluoreszenzindikatoren der Sensorelemente zusammenwirkt, wobei die Fluoreszenzintensität der von einer Lichtquelle in den Fluoreszenzindikatoren angeregten Fluoreszenzstrahlung durch die zu bestimmenden Stoffe verringer- bzw. löschar ist.

Aufgabe der Erfindung ist die Erstellung eines Verfahrens und einer Anordnung zur fluorimetrischen Bestimmung einer oder mehrerer Stoffkonzentrationen mit Hilfe von Fluoreszenzindikatoren, welche nicht mehr notwendigerweise spezifisch für die zu untersuchenden Stoffe sein müssen, sodaß insbesondere gleichzeitig verschiedene Stoffe mit beliebigen Fluoreszenzindikatoren untersuchbar sind. Es ist bekannt, daß die Fluoreszenzfähigkeit gewisser Farbstoffe durch Zusatz von Stoffen, von sogenannten Fluoreszenzlöschern, gemindert werden kann. Zwischen der Konzentration des sogenannten Löschers und der Verminderung der Fluoreszenzintensität besteht nach Stern und Volmer die folgende Beziehung:

$$\frac{F^0}{F} - 1 = k [Q] \quad (1)$$

Hier bedeuten: F^0 die Fluoreszenzintensität eines Fluoreszenzindikators in Abwesenheit eines Löschers
 F die Fluoreszenzintensität eines Fluoreszenzindikators in Gegenwart eines Löschers
 k die sogenannte Löschkonstante, welche für jedes Paar von Löschers und Fluoreszenzindikator spezifisch ist
 $[Q]$ die Konzentration des löschenden Stoffes bzw. des Löschers (engl. "Quencher")

Da F^0 und k für die eingesetzten Fluoreszenzindikatoren bzw. die jeweiligen Indikatorsubstanzen Konstante sind, kann man durch Messung von F auf die Konzentration des Löschers schließen. Wenn F^0 und k unbekannt sind, eliminiert man sie durch die Vornahme von Messungen und durch die Erstellung von Eichgeraden oder Kurven, wobei F gegen $[Q]$ aufgetragen wird und F^0 und k z. B. graphisch ermittelt werden.

Diese analytische Methode hat verschiedene Anwendungen gefunden: So wird in der US-PS 3 612 866 eine Methode zur Messung von Sauerstoffkonzentrationen in verschiedenen Substanzen, wie z. B. Blut, beschrieben. Die Methode beruht darauf, daß Sauerstoff als Löschers die Fluoreszenzintensität gewisser aromatischer Kohlenwasserstoffe, wie z. B. Pyren, gemäß Gleichung (1), zu vermindern vermag. In der Zeitschrift Biochemistry (Band 9, Seite 464, 1970) ist ein Verfahren beschrieben, mit Hilfe von Pyrenbuttersäure die lokale Konzentration an Sauerstoff über die Fluoreszenzlöschung zu verfolgen. In der Zeitschrift für Analytische Chemie (Band 314, Seite 577, 1983) wird ein Verfahren beschrieben, mit Hilfe gewisser heterocyclischer Fluoreszenzindikatoren die Konzentration von Halogenidionen über die durch sie bewirkte Fluoreszenzlöschung mit großer Genauigkeit zu bestimmen. In der DE-AS 25 08 637 wird eine Methode zur optischen Messung von Blutgasen beschrieben, welche auf dem Prinzip der Fluoreszenzlöschung beruht. Weitere analytische Methoden zur Bestimmung von Stoffkonzentrationen mit Hilfe der Fluoreszenzlöschung sind beschrieben in der Zeitschrift Analyst (Band 107, Seite 465, 1982).

Allen diesen Verfahren haftet der Nachteil an, daß die verwendeten Fluoreszenzindikatoren bzw. die Indikatorsubstanzen für den zu untersuchenden Stoff spezifisch sein müssen, d. h. nur auf diesen einen Stoff ansprechen dürfen. In der Praxis findet man jedoch meist den Fall, daß Fluoreszenzindikatoren auf mehr als einen zu untersuchenden Stoff ansprechen, bzw. von mehreren Stoffen löschar sind. Die Methode der vorliegenden Erfindung erlaubt nun erstmals die gleichzeitige fluorimetrische Bestimmung mehrerer analytischer Größen bzw. Stoffkonzentrationen auch dann, wenn keine Indikatorspezifität mehr vorhanden ist, bzw. die Bestimmung von nur einer Konzentration trotz der Anwesenheit von störenden bzw. löschenden Stoffen.

Erfindungsgemäß wird dies bei einem Verfahren der eingangs genannten Art dadurch erreicht, daß zur insbesondere gleichzeitigen Bestimmung der Konzentrationen von zumindest zwei Stoffen an der die Stoffe enthaltenden Substanz eine der Anzahl der zu bestimmenden Stoffkonzentrationen entsprechende Anzahl von Messungen der Fluoreszenzintensität vorgenommen wird, wobei zumindest ein in bezug auf zumindest einen der zu bestimmenden Stoffe nicht spezifischer bzw. ein von mehr als einem der Stoffe löscharer Fluoreszenzindikator eingesetzt wird, der in bezug auf die ihn jeweils in seinen Intensitäten löschenden Stoffe (Löschers) verschiedene Löschkonstanten aufweist und daß aus den bekannten, ungelöschten Fluoreszenzintensitäten der eingesetzten Fluoreszenzindikatoren, den gemessenen gelöschten bzw. geminderten Fluoreszenzintensitäten und den bekannten bzw. vorab, z. B. graphisch oder rechnerisch, ermittelten Löschkonstanten die Konzentrationen der einzelnen Stoffe und/oder das Verhältnis von Stoffkonzentrationen, bestimmt werden.

Die Erfindung geht von der Erkenntnis aus, daß man, um den Einfluß mehrerer Löschers mathematisch berücksichtigen zu können, die Gleichungen (1) erweitern muß, indem man dem Einfluß zusätzlicher Löschers d.

h. weiterer zu untersuchender Stoffe durch Anfügung weiterer Glieder Rechnung trägt: Es resultiert somit eine Gleichung (2) für den Fall zweier Löscher, bzw. eine allgemeine Gleichung (3) für den Fall mehrerer Löscher bzw. zu untersuchender, nicht spezifische Fluoreszenzindikatoren löschender Stoffe.

5

$$\frac{F^0}{F} - 1 = k_1 [Q_1] + k_2 [Q_2] \quad (2)$$

10

$$\frac{F^0}{F} - 1 = k_1 [Q_1] + \dots + k_n [Q_n] \quad (3)$$

15

Da die Gleichung (2) zwei Unbekannte und Gleichung (3) mehrere Unbekannte enthält (nämlich die verschiedenen Stoff- bzw. Löscherkonzentrationen $[Q]$), braucht man zur Lösung zwei bzw. mehrere unabhängige Meßwerte, im allgemeinen Fall n Meßwerte. Man erhält sie dadurch, daß man die Fluoreszenzintensität F zweier verschiedener von den zu untersuchenden Stoffen gelöschten Fluoreszenzindikatoren mißt.

Bei Verwendung eines Indikators A erhält man ein Meßsignal

20

$$\frac{F_A^0}{F_A} - 1 = {}^1k_A [Q_1] + {}^2k_A [Q_2] + \dots \quad (4)$$

25

In Gleichung (4) bedeuten:

F_A^0 die Fluoreszenzintensität des Indikators A in Abwesenheit von Löschern bzw. der zu untersuchenden Stoffe, F_A die Fluoreszenzintensität in Gegenwart von Löschern bzw. der zu untersuchenden Stoffe, 1k_A die Löschkonstante des Indikators A durch den Löscher Q_1 , 2k_A die Löschkonstante des Indikators A durch den Löscher Q_2 , und $[Q_1]$ und $[Q_2]$ die Konzentration der beiden Löscher.

30

Bei Verwendung des Indikators B erhält man analog:

$$\frac{F_B^0}{F_B} - 1 = {}^1k_B [Q_1] + {}^2k_B [Q_2] + \dots \quad (5)$$

35

F_B^0 ist die Fluoreszenzintensität des Indikators B in Abwesenheit von Löschern, F_B die Fluoreszenzintensität in Gegenwart von Löschern, 1k_B die Löschkonstante des Indikators B durch Löscher Q_1 , 2k_B die Löschkonstante des Indikators B durch Q_2 , und $[Q_1]$ und $[Q_2]$ die Konzentration der beiden Löscher.

40

Setzt man nun zur Vereinfachung für $\frac{F_A^0}{F_A} - 1$ gleich α und für $\frac{F_B^0}{F_B} - 1$ gleich β und setzt das aus

45

Gleichung (4) berechnete $[Q_2]$ in Gleichung (5) ein, so resultiert folgender Ausdruck:

50

$$[Q_1] = \frac{(\alpha \cdot {}^2k_B - \beta \cdot {}^2k_A)}{({}^1k_A \cdot {}^2k_B - {}^2k_A - {}^1k_B)} \quad (6)$$

bzw. für

$$[Q_2] = \frac{(\beta \cdot {}^1k_A - \alpha \cdot {}^1k_B)}{({}^1k_A \cdot {}^2k_B - {}^2k_A \cdot {}^1k_B)} \quad (7)$$

1k_A , 2k_A , 1k_B und 2k_B sind konstante Größen, die bekannt sind bzw. bereits ermittelt wurden. α und β sind variable Größen, die sich aus den Meßwerten der gelöschten Intensitäten F_A bzw. F_B ergeben. Damit lassen sich entsprechend den Gleichungen (6) und (7) die Konzentrationen der zu bestimmenden Stoffe bzw. Löscher Q_1 und Q_2 bestimmen.

Bei drei zu bestimmenden Stoffen bzw. Löschern braucht man drei Fluoreszenzindikatoren und muß drei Meßgrößen α , β , γ und bestimmen, welche wie folgt definiert sind:

$$\alpha = \frac{F_A^0}{F_A} - 1; \quad \beta = \frac{F_B^0}{F_B} - 1; \quad \gamma = \frac{F_C^0}{F_C} - 1 \quad (8)$$

Daraus ergeben sich mit Gleichung (3) drei Gleichungen mit neun Löschkonstanten:

$$\begin{aligned} \alpha &= {}^1k_A \cdot [Q_1] + {}^2k_A \cdot [Q_2] + {}^3k_A \cdot [Q_3] \\ \beta &= {}^1k_B \cdot [Q_1] + {}^2k_B \cdot [Q_2] + {}^3k_B \cdot [Q_3] \\ \gamma &= {}^1k_C \cdot [Q_1] + {}^2k_C \cdot [Q_2] + {}^3k_C \cdot [Q_3] \end{aligned} \quad (9)$$

Die Lösung des Gleichungssystems kann durch Erstellen einer Matrix,

$$\begin{pmatrix} \alpha \\ \beta \\ \gamma \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} {}^1k_A & {}^2k_A & {}^3k_A \\ {}^1k_B & {}^2k_B & {}^3k_B \\ {}^1k_C & {}^2k_C & {}^3k_C \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} [Q_1] \\ [Q_2] \\ [Q_3] \end{pmatrix} \quad (10)$$

und die Auswertung über eine Systemdeterminante mit Hilfe eines geeigneten Taschenrechners erfolgen.

Zur Bestimmung von n unbekannten Konzentrationen werden identerweise n unabhängige Gleichungen aufgestellt und es müssen n Meßwerte der gelöschten Fluoreszenzintensitäten F_n ermittelt werden.

Der Vorteil des Verfahrens liegt darin, daß es mit Hilfe von z. B. zwei nicht spezifischen Fluoreszenzindikatoren erstmals möglich ist, zwei unbekannte Stoffkonzentrationen fluorimetrisch zu ermitteln, wenn die beiden Stoffe jeweils beide Fluoreszenzindikatoren löschen.

Erfindungsgemäß ist weiters vorgesehen, daß zur Bestimmung der Konzentration von einem Stoff oder der Konzentrationen von mehreren Stoffen in Gegenwart von zumindest einem weiteren nicht interessierenden bzw. störenden Stoff, welcher die Fluoreszenzintensität(en) des bzw. der auf den bzw. auf die zu bestimmenden Stoff(e) ansprechenden Fluoreszenzindikator(en)s ebenfalls löscht, sowohl die Fluoreszenzintensität(en) bezüglich des zu bestimmenden Stoffes bzw. der zu bestimmenden Stoffe als auch bezüglich des störenden Stoffes bestimmt wird bzw. werden und die gemessenen Fluoreszenzintensitäten zur Ermittlung der Konzentration(en) des bzw. der zu bestimmenden Stoffe(s) herangezogen wird bzw. werden. Die Berechnung der Stoffkonzentrationen erfolgt hier auf die bereits beschriebene Weise, nur eben mit der Ausnahme, daß die gelöschte Intensität der Störsubstanz als Rechenhilfsgröße benötigt wird und die tatsächliche Konzentration der Störsubstanz nicht berechnet wird. In diesem Fall wird das erfindungsgemäße Verfahren zur Diskriminierung der gewünschten Stoffkonzentration gegenüber einem störenden Stoff dienen.

Analog können Effekte von n Störsubstanzen bzw. nicht interessierenden Stoffen durch n ermittelte Meßwerte

von gelöschten Fluoreszenzintensitäten der Störsubstanzen ausgeschaltet werden, die gemeinsam mit der gelöschten Fluoreszenzintensität des zu untersuchenden Stoffes in $n+1$ Gleichungen eingesetzt werden. Bedingung für die Lösung der Gleichungen ist der Umstand, daß für alle Indikator-Löcher-Kombinationen die Löschkonstanten k unterschiedlich sind. Unter der Anzahl der zu bestimmenden Konzentrationen wird somit die Anzahl der zur Lösung der Gleichungen erforderlichen gelöschten Intensitäten der Stoffe und der Störsubstanzen verstanden.

Gleichungen (6) und (7) werden stark vereinfacht, wenn zumindest ein für einen Stoff spezifischer Indikator eingesetzt wird. Eine der Löschkonstanten wird dann gleich null, und der Bruch besteht dann nur mehr aus drei Gliedern.

Will man hingegen nur das Verhältnis von zwei Löschkonzentrationen ermitteln, so gilt dafür durch Kombination der Gleichungen (6) und (7) Gleichung (11):

$$\frac{[Q_1]}{[Q_2]} = \frac{\alpha \cdot {}^2k_B - \beta \cdot {}^2k_A}{\beta \cdot {}^1k_A - \alpha \cdot {}^1k_B} \quad (11)$$

Es ist möglich, daß Fluoreszenzindikatoren eingesetzt werden, die von derselben Fluoreszenzindikatorsubstanz gebildet sind, die jedoch in verschiedener Indikatorumgebung, z. B. in verschiedenen Lösungen oder Bindungen, vorliegt, und daß diese Fluoreszenzindikatoren in den verschiedenen Indikatorumgebungen für den jeweils zu bestimmenden Stoff bzw. Löcher unterschiedliche Löschkonstanten besitzen. In verschiedener Umgebung vorliegende und dadurch für jeweils verschiedene Stoffe unterschiedliche Löschkonstanten aufweisende Fluoreszenzindikatoren bzw. Indikatorsubstanzen sind für das erfindungsgemäße Verfahren als voneinander unabhängig einsetzbare, unterschiedliche Fluoreszenzindikatoren zu betrachten.

Je nach der Verfahrensdurchführung können Fluoreszenzindikatoren eingesetzt werden, die sich in derselben Phase bzw. Substanz wie die zu bestimmenden Stoffe befinden oder Fluoreszenzindikatoren eingesetzt werden, die sich in einer anderen Phase bzw. von den zu bestimmenden Stoffen getrennt befinden, wobei die zu bestimmenden Stoffe in die Indikatorphase diffundieren gelassen werden.

In einer Weiterbildung der Erfindung ist dabei vorgesehen, daß die Fluoreszenzindikatoren gleichzeitig den zu bestimmenden Stoffen bzw. der diese enthaltenen Substanz zugegeben und ggf. vermischt werden oder auf mehrere Stofflösungen oder Indikatormembranen verteilt eingesetzt werden.

Eine Anordnung der eingangs genannten Art zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens ist erfindungsgemäß dadurch gekennzeichnet, daß eine der Anzahl der gleichzeitig zu bestimmenden Konzentrationen der Stoffe entsprechende Anzahl von Fluoreszenzindikatoren in den Sensorelementen vorgesehen ist, welche zumindest mittelbar an den Probenraum angrenzen, daß zumindest einer der Fluoreszenzindikatoren ein in bezug auf zumindest einen der zu bestimmenden Stoffe nicht spezifisch ansprechender bzw. von mehr als einem Stoff löscher Fluoreszenzindikator ist, daß die Löschkonstanten dieses Fluoreszenzindikators für die ihn löschenden Stoffe jeweils unterschiedlich sind und daß die verringerten bzw. gelöschten Fluoreszenzintensitäten der einzelnen Fluoreszenzindikatoren von Lichtdetektoren gemessen werden, die ggf. über einen Verstärker mit einer Auswerteeinheit verbunden sind, sodaß die von den Detektoren empfangenen Signale dieser Auswerteeinheit zur Ermittlung der Konzentrationen und/oder des Verhältnisses der Stoffkonzentrationen der einzelnen zu bestimmenden Stoffe zuführbar sind. Diese Anordnung ermöglicht bei Einsatz von nicht spezifischen Fluoreszenzindikatoren eine Bestimmung der Konzentrationen von Stoffen, auch wenn sich unter diesen Stoffen nicht interessierende Störsubstanzen befinden.

Vorteilhaft ist es, wenn erfindungsgemäß zumindest ein Teil der Sensorelemente eine Indikatorsubstanz enthält, die bei den einzelnen Sensorelementen in jeweils verschiedener Umgebung bzw. Lösung oder Bindung vorliegt und in verschiedener Lösung bzw. Bindung gegenüber den sie löschenden Stoffen unterschiedliche Löschkonstanten besitzt.

Bevorzugt ist es, wenn die Recheneinheit eine Divisionseinheit aufweist, in der der Quotient aus der ungelöschten Fluoreszenzintensität der einzelnen Fluoreszenzindikatoren und den einzelnen gemessenen Fluoreszenzintensitäten, ggf. nach Subtraktion eines konstanten, einem Streulichtanteil entsprechenden Wertes, bestimmbar ist, daß die Recheneinheit eine Subtrahiereinheit besitzt, in der vom errechneten Quotienten der Wert 1 abziehbar ist, und daß in der Recheneinheit eine Einheit zur Berechnung der Stoffkonzentrationen nach den Gleichungen (6), (7), (8), (9), (10) oder der Konzentrationsverhältnisse der Stoffe nach den Gleichungen (6), (7), (11), vorgesehen ist.

Im folgenden wird die Erfindung anhand der Zeichnung beispielsweise näher erläutert. Fig. 1 bis 3 zeigen verschiedene Meßanordnungen und Fig. 4 ein Diagramm zur Löschkonstantenermittlung.

Die Fig. 1 und 2 zeigen einfache Anordnungen, mit denen das erfindungsgemäße Verfahren für den gängigen Fall von zwei diffusionsfähigen Stoffen in flüssigen oder gasförmigen Proben ausgeführt werden kann. An einem Probenraum (20) sind außen Fluoreszenzindikatoren bzw. in den Sensorelementen (21 A) und (21 B) angebracht. Lichtquellen (22 A) bzw. (22 B) erzeugen mit den Fluoreszenzindikatoren Fluoreszenzen, deren Intensitäten mit Hilfe der Lichtdetektoren (23 A), (23 B) gemessen werden. In Abwesenheit von Löschern

bzw. der zu untersuchenden Stoffe wird die Fluoreszenzintensität F^0 besonders hoch sein; die gemessenen Werte entsprechen dann den Größen F_A^0, F_B^0 in Gleichung (2). Zur Messung wird dann die die zu bestimmenden Stoffe enthaltende Substanz in den Probenraum (20) eingeleitet bzw. durch diesen geleitet. Aus dem Probenraum (20) können nun Löscher Substanzen zu den in den Sensorelementen (21 A), (21 B) angeordneten Fluoreszenzindikatoren diffundieren (z. B. Sauerstoff, Schwefeldioxid, Halothan usw.). Diese Löscherstoffe bewirken bei diesen Indikatoren eine reversible Verminderung der Fluoreszenzintensität auf F (Gleichung (2) bzw. (4) und (5)). Mißt man nun die Fluoreszenzintensität F_A, F_B beider Indikatoren in den Sensorelementen (21 A), (21 B) so kann man in Kenntnis von F_A^0 und F_B^0 sowie der Löschkonstanten k die Konzentrationen der Löscher berechnen. Zur besseren Diskriminierung des Anregungslichtes (24) und des Fluoreszenzlichtes (25) können auch Lichtfilter (26), (27), beispielsweise Interferenzfilter, in den Strahlengang eingebracht werden.

Die Probenräume (20) können als Einmal-Meßkammer oder auch als Durchflußmeßzellen ausgeführt sein. Ein Vorteil des erfindungsgemäßen Verfahrens und der erfindungsgemäßen Anordnung besteht auch darin, daß sowohl einzelne Proben wie auch kontinuierlich vorbeiströmende Proben vermessen werden können.

Als Lichtquellen können thermoelektrische, elektronische, Laser- oder LED-artige Anordnungen dienen, die kontinuierlich oder gepulst Licht liefern.

Die eingesetzten Sensorelemente bestehen üblicherweise aus dünnen Membranen aus polymeren Materialien mit Lösungen löschersensitiver Materialien bzw. Indikatorsubstanzen, die ggf. mit Weichmacherzusätzen versehen sind. Alternativ können Fluoreszenzindikatormaterialien bzw. -substanzen auch in kovalenter Weise an Trägermaterial gebunden vorliegen.

Als Indikatoren kommen alle Fluoreszenzindikatoren bzw. Indikatorsubstanzen ggf. in unterschiedlichen Umgebungen in Frage, welche durch Fremdstoffen eine Fluoreszenzlöschung erleiden. Zweckmäßigerweise sollen diese Indikatoren stark fluoreszieren und stabil sein. Als Beispiel seien folgende Indikator-Löscher-Kombinationen genannt:

Pyrenbuttersäure - Sauerstoff	Benzo(ghi)perylen-Halothan
Chlorophyll - Schwefeldioxid	
Chininsulfat - Chloridion	
Acridinsulfat - Bromidion	
Indol - H_2O	

Die Lichtdetektoren (23 A), (23 B) dienen zur Messung der Fluoreszenzlichtintensität, die von der Löscherkonzentration abhängt. Als Lichtmeßeinrichtungen bzw. -detektoren können lichtelektrische Photozellen, Photoverstärker oder Photodioden eingesetzt werden. Das erhaltene Meßsignal wird üblicherweise noch in einer Verstärkereinheit (28) verstärkt, ehe es einer analogen oder digitalen Rechen- bzw. Auswerteeinheit (29) oder Anzeigevorrichtung (30) zugeführt wird. In der Recheneinheit (29) werden die Konzentrationen der zu bestimmenden Stoffe gemäß den angeführten Gleichungen ermittelt.

Fig. 3 zeigt eine schematische Darstellung zur kontinuierlichen Messung von drei Stoffen in optisch transparenten strömenden Materialien, wie z. B. Gasen oder Flüssigkeiten. Die zu untersuchenden Stoffe strömen in Richtung der Pfeile (34) durch einen von einem U-förmigen Rohr gebildeten Probenraum (20) an Sensorelementen mit den drei Fluoreszenzindikatoren vorbei, die durch das Licht (31) einer Lichtquelle (22) ggf. durch Filter (26) zur Fluoreszenz erregt werden. Das von den Fluoreszenzindikatoren ausgestrahlte Fluoreszenzlicht (32) wird, ggf. nach Passieren von Lichtfiltern (27), mit Hilfe von Lichtdetektoren (23 A), (23 B), (23 C) gemessen. Die erhaltenen Signale werden in Verstärkern (28) verstärkt und mit einer Recheneinheit (29) gemäß Gleichungen (8), (9) und (10), ausgewertet. Sie können dann analog oder digital in der Anzeigeeinrichtung (30) angezeigt oder ausgedruckt werden. Zur Bestimmung des Verhältnisses der Löscherkonzentrationen zieht man Gleichung (10) heran.

Es wird bemerkt, daß es in der Praxis oft notwendig wird, vom anliegenden Meßsignal bzw. der gemessenen Fluoreszenzintensität F eine konstante Größe F_s abzuziehen, um auf das eigentliche Meßsignal zu kommen. Die Größe F_s berücksichtigt das störende Fluoreszenzlicht, welches durch Lichtstreuung in das Fluoreszenzdetektionssystem gelangt.

Die Beschreibung dieser Meßanordnungen dient zur Verständlichmachung des Meßprinzips. Im Bedarfsfall kann es nach Maßgabe der Erfordernisse zu verschiedenartigen Anordnungen und zur Verwendung anderer Bauteile kommen. So kann es z. B. notwendig werden, die Lichtzufuhr von der Lichtquelle zu den Fluoreszenzindikatoren sowie die Lichtableitung von den Indikatoren zu den Lichtdetektoren mit Hilfe von Lichtleitern vorzunehmen. Es ist möglich, den Indikatormembranen sogenannte Ionencarrier zuzusetzen, um die Diffusion der Löscher durch die Membranen bzw. in die Indikatoren zu erleichtern, bzw. selektiver zu gestalten.

Es stehen mehrere Möglichkeiten zur Erfassung der Meßwerte bzw. Ermittlung der Konzentrationen zur Verfügung. Für den häufigen Fall, daß man zwei Meßwerte benötigt, kann man

(a) die Fluoreszenzintensitäten F_A und F_B mit Hilfe zweier Sensorelemente, die verschiedene

Indikatorsubstanzen enthalten, in Gegenwart der Löscher bzw. zu bestimmenden Stoffe messen und dann die Konzentrationen der Löscher Q_1 und Q_2 nach Gleichungen (6) und (7) oder graphisch ermitteln;

(b) die Fluoreszenzintensitäten F_A und $F_{A'}$ mittels zweier Sensorelemente messen, die dieselbe Indikatorsubstanz allerdings in jeweils verschiedener Indikatorumgebung, z. B. in verschiedenen Lösungsmitteln oder in verschiedenen Polymermembranen enthalten. Da sich die Löschkonstanten k einer Indikatorsubstanz mit der Art der Umgebung bzw. des Lösungsmittels ändern, kann man wiederum mit den Gleichungen (6) und (7) bzw. graphisch die Konzentration von zwei Löschern ermitteln. $F_{A'}$ ist dann gleichzusetzen mit F_B .

Für den Fall von mehr als zwei Stoffen bzw. von in mehr als zwei verschiedenen Umgebungen bzw. Lösungen vorliegender Indikatorsubstanzen gilt natürlich entsprechendes.

Die erfindungsgemäßen Meßmethoden können in Art, Aufbau und geometrischer Anordnung verschieden ausgestaltet sein.

Die Wechselwirkung zwischen Fluoreszenzindikator bzw. Indikatorsubstanz und dem Löscher kann in homogener Lösung erfolgen, indem Lösungen von dem zu untersuchenden Stoff und dem Indikator zusammengegeben werden, (z. B. Messungen in Küvetten, wie in den folgenden Beispielen 1 und 2 angegeben ist).

Die Wechselwirkung zwischen Fluoreszenzindikator und dem zu bestimmenden Stoff kann auch erfolgen, indem die Indikatoren sich nicht in derselben Phase wie der Stoff befinden, indem die Löscher Substanzen aus der die Stoffe enthaltenden Substanz zum Indikator bzw. zur Indikatorsubstanz diffundieren (z. B. bei der Bestimmung von Gaskonzentrationen mit membranförmigen Sensoren, wie z. B. in Fig. 1 bis 3).

Die Fluoreszenzindikatoren können, wenn sie spektral unterscheidbare Strahlung abgeben, in einer Lösung oder einer Membran vorliegen, sie können aber auch erfindungsgemäß auf mehrere Stofflösungen oder auf mehrere Sensorelemente verteilt sein.

In einer Ausgestaltung der Erfindung können zwischen dem Probenraum und den Sensorelementen Reaktionsräume vorgesehen sein, in welchen durch chemische Reaktion löschende Stoffe in nichtlöschende oder in denen nichtlöschende Stoffe in löschende umwandelbar sind, sodaß auch nichtlöschende Stoffe indirekt untersucht bzw. bestimmt werden können.

Weiters können erfindungsgemäß zwischen dem Probenraum und den Sensorelementen permeationsselektive Membranen angeordnet sein, was die Selektivität zusätzlich verbessert.

Es ist erfindungsgemäß auch möglich, daß die Sensorelemente und/oder die Reaktionsräume und/oder die permeationsselektiven Membranen für die Fluoreszenzindikatoren in Reihe nebeneinander oder schichtförmig übereinander angeordnet sind.

Um Intensitätsschwankungen der Lichtquelle (22) zu eliminieren, ist erfindungsgemäß vorgesehen, daß den Sensorelementen zur Ausschaltung von Lichtquellenintensitätsschwankungen eine Referenzlichtmeßzelle bzw. ein Referenzindikator zugeordnet ist, die bzw. der ggf. über einen Verstärker an die Recheneinheit angeschlossen ist. Dazu ist eine Referenzlichtmeßzelle (33) vorgesehen (Fig. 3), die die Intensität der Lichtquelle (22) mißt und die mit den Verstärkern (28) verbunden ist, um Schwankungen der Lichtquelle (22) zu kompensieren bzw. nicht als Änderungen in der Fluoreszenzintensität erscheinen zu lassen. Die Anwendungsmöglichkeiten der vorliegenden Erfindung sind mannigfaltig: lediglich als Beispiele, aber ohne weitere Anwendungsmöglichkeiten damit einzuschränken, seien genannt:

a) die gleichzeitige Messung von Sauerstoff und Schwefeldioxid in Industrieabgasen oder in Umweltmeßanlagen.

b) Die Messung von Sauerstoffkonzentrationen z. B. in Straßentunnels in Gegenwart störender Autoabgase, wie z. B. SO_2 oder NO_x .

c) Die gleichzeitige Messung der Löscher Sauerstoff und Halothan im Anästhesiegas während der Anästhesie.

d) Die kontinuierliche Messung von Chlorid und Sulfid in Abwässern.

Im folgenden wird die Erfindung anhand von Beispielen näher erläutert, denen auch die Exaktheit des erfindungsgemäßen Meßverfahrens zu entnehmen ist:

1. Beispiel:

Quantitative fluorimetrische Simultanbestimmung zweier Löscher (Chlorid und Bromid) in homogener Lösung

Prinzip: Die Fluoreszenzintensität der Indikatoren Chinin und Acridin wird durch Bromid und Chlorid unterschiedlich gelöscht.

5.123 mg 1-Chlor-2,4-dinitrobenzol (MG: 202.56) und 4,602 mg Benzalacetophenondibromid (MG: 368.08) wurden zusammen eingewogen und in einer Sauerstoffatmosphäre verbrannt. Die Verbrennungsgase werden in 5 ml einer 1 %-igen Hydrazinsulfatlösung absorbiert.

Nach der Absorption der Reaktionsgase wurde der Inhalt des Kolbens in einen 20 ml Maßkolben überführt und dieser ohne Indikatorzugabe aufgefüllt. Man pipettierte nun je 8 ml dieser Stammlösung in zwei 10 ml Maßkolben. In den einen kamen 1 ml einer $2.0 \cdot 10^{-5}$ molaren Chininsulfatlösung in 1 N Schwefelsäure

(1. Indikator), in den anderen 1 ml einer $1.0 \cdot 10^{-5}$ molaren Acridinlösung in 1 N Schwefelsäure (2. Indikator). Danach wurden beide Kolben mit Wasser auf 10 ml aufgefüllt. Nach der Bereitung zweier halogenidfreier Standardlösungen wurden deren Standard-Fluoreszenzintensitäten (F_A^0 und F_B^0) auf 100 eingestellt. Der relative F_A -Wert der Probe (Chininsulfat als Indikator) betrug 76.1, der F_B -Wert der Probe (Acridin als Indikator) zufällig ebenfalls 76.1.

Die für die Auswertung der Meßergebnisse erforderlichen Löschkonstanten k wurden vorher bestimmt und sind in der Tabelle 1 aufgeführt:

Tabelle 1

Löschkonstanten k für die im folgenden Beispiel verwendeten Indikatoren Chininsulfat und Acridin in Schwefelsäure

Indikator	Cl^-	Br^-
Chininsulfat in 0.1 N H_2SO_4 (A)	$^1k_A =$ 133.0	$^2k_A =$ 177.5
Acridin in 0.1 N H_2SO_4 (B)	$^1k_B =$ 9.5	$^2k_B =$ 304.2

Auswertung:

Folgende Meßergebnisse wurden erhalten:

$$F_A^0 = F_B^0 = 100$$

$$F_A = F_B = 76.1$$

$$\alpha = (F_A^0 / F_A) - 1 = 0.31506$$

$$\beta = (F_B^0 / F_B) - 1 = 0.31506$$

Setzt man diese Größen und die Stern-Volmer-Konstanten k in die Gleichungen (6) und (7) ein, so ergeben sich die molaren Konzentrationen der Löscher Chlorid und Bromid zu:

$$Cl^- = 1.0296 \text{ mM} = 0.9126 \text{ mg/25 ml Gesamtprobenvolumen}$$

$$Br^- = 1.0036 \text{ mM} = 2.0048 \text{ mg/25 ml Gesamtprobenvolumen}$$

Um den mg-Gehalt Halogenid zu erhalten, muß die molare Löscherkonzentration der Proben mit dem Molekulargewicht und dem Gesamtprobenvolumen in ml multipliziert und durch 1000 dividiert werden.

Dividiert man den in mg/Gesamtprobenvolumen erhaltenen Analysenwert durch die Einwaage (in mg) und multipliziert man das Ergebnis mit 100, so erhält man den Relativprozentgehalt der Halogenide. Für das angeführte Beispiel erhält man folgendes Ergebnis:

Einwaage: 9.9725 mg

gefunden Chlorid: 9.38 %, berechnet 9.22 %

Bromid: 20.61 %, berechnet 20.55 %

2. Beispiel:

Quantitative fluorimetrische Simultanbestimmung dreier Löscher (Chlorid, Bromid und Jodid) in homogener Lösung.

Prinzip: Die Fluoreszenz der Indikatoren Chinin, Acridin und Harman wird in schwefelsaurer Lösung durch die Stoffe Chlorid, Bromid und Jodid in unterschiedlicher Weise gelöscht.

Die fluorimetrische Simultanbestimmung von drei Löschern wurde anhand von drei Kaliumhalogenidlösungen überprüft. Dazu ermittelte man zuerst die Löschkonstanten und überprüfte deren

additive Zusammensetzung zu einer Gesamtlöschkonstante. Tab. 2 gibt die Ergebnisse dieser Untersuchung wieder.

Tabelle 2

5 Ionenspezifische Löschkonstanten und Gesamtlöschkonstanten für in der Lösung gleichzeitig vorliegende Halogenide.

Indikator: Chininsulfat in 0.1 N H_2SO_4 .

10	Gesamtkonz. d. Halogenide mM	Halogenid	$k^a)$
	1	KCl	133
15	1	KBr	178
	1	KJ	243
	2	KCl+KBr	310
	2	KCl+KJ	377
	2	KBr+KJ	421
20	3	KCl+KBr+KJ	557

a) Die Gesamtlöschkonstanten beziehen sich auf gleiche Konzentrationen der vorliegenden Löscher.

Wie aus Tab. 2 ersichtlich, ist eine additive Zusammensetzung der Gesamtlöschkonstanten aus dem isoliert gemessenen ionenspezifischen Konstanten gegeben. Damit konnte bewiesen werden, daß die Löschbeiträge der einzelnen Ionen bzw. Stoffe unabhängig von der Anwesenheit anderer Löscher erfolgen bzw. sind.

Zur Simultanbestimmung der drei Halogenide wurden in drei 10 ml Maßkolben jedesmal je 1 ml einer $1.00 \cdot 10^{-2}$ molaren KCl-, KBr- und KJ-Lösung pipettiert. Von den Indikatoren Chininsulfat, Acridin und Harman wurden in 1 N Schwefelsäure Lösungen bereitet und in jeden Kolben 1 ml von einer der drei Indikatorlösungen gegeben. Nach dem Auffüllen der Maßkolben wurde die (relative) Fluoreszenzintensität F der Proben gegen die Fluoreszenzintensität F^0 der entsprechenden Standardlösungen (1 ml Indikatorlösung/10 ml Wasser) gemessen. Ihre Standardfluoreszenzintensität F^0 wurde dabei auf 100 eingestellt und nach jeder Messung überprüft. Die für die einzelnen Indikatoren bestimmten Löschkonstanten sind in Tab. 3 angeführt.

Tabelle 3

Löschkonstanten für die Simultanbestimmung von Chlorid, Bromid und Jodid in homogener wäßriger Lösung.

40	Indikator	Cl^-	Br^-	J^-
	Chininsulfat in 0.1 N H_2SO_4 (A)	133 (1k_A)	178 (2k_A)	243 (3k_A)
	Acridin in 0.1 N H_2SO_4 (B)	9.5 (1k_B)	304.1 (2k_B)	396.7 (3k_B)
45	Harman in 0.1 N H_2SO_4 (C)	0.2 (1k_C)	9.4 (2k_C)	212.4 (3k_C)

Die drei Meßwerte der relativen Fluoreszenzintensitäten F_A, F_B, F_C waren:

50 $F_A = 64.3, F_B = 58.4, F_C = 81.8$
 $F_A^0 = F_B^0 = F_C^0 = 100$ (Standardfluoreszenzintensitäten)
 $\alpha = (F_A^0/F_A) - 1 = 0.55521$
 $\beta = (F_B^0/F_B) - 1 = 0.71233$
 55 $\gamma = (F_C^0/F_C) - 1 = 0.22249$

Die Berechnung nach den Gleichungen 8 bis 10 ergibt:

Systemdeterminante = 7759322.2

Determinante 1 = 7762.839

Determinante 2 = 7786.451

Determinante 3 = 7776.161

Daraus ergeben sich die Konzentrationen der Halogenidlösungen zu:

$[Cl^-] = 1.000 \text{ mM}$

$[Br^-] = 1.003 \text{ mM}$

$[J^-] = 1.002 \text{ mM}$

Die ermittelten Konzentrationen stimmen mit den tatsächlichen einpipettierten (1.000 mM) sehr gut überein.

3. Beispiel:

Gleichzeitige kontinuierliche Bestimmung von Sauerstoff und Halothan in einem Anästhesiegas

Prinzip: Die Fluoreszenz gewisser aromatischer Kohlenwasserstoffe wird durch Sauerstoff und Halothan (ein Anästhesiegas) gelöscht.

In einer Meßanordnung, wie sie in vereinfachter Form in der Fig. 2 schematisch dargestellt ist, wurde die Fluoreszenzlöschung durch ein Gas gemessen, welches 20 % Sauerstoff und 4,4 % Halothan enthielt. Die Fluoreszenzindikatoren der Sensorelemente (21 A) und (21 B) enthielten Lösungen von Decacyclen bzw. Benzo(ghi)perylene oder heterocyclischen Verbindungen in quervernetzten Silikonen bzw. Polyvinylchlorid mit hohem Weichmacheranteil. In Vorversuchen wurden, wie Fig. 4 zeigt, die Löschkonstanten 1k_A (Löschung des Fluoreszenzindikators im Sensorelement (21 A) durch den ersten Löscher O_2), 2k_A (Löschung des Indikators durch den zweiten Löscher Halothan), 1k_B (Löschung des Indikators im Sensorelement (21 B) durch O_2) und 2k_B (Löschung desselben Indikators durch Halothan) experimentell bestimmt, und zwar nach Gleichung (1). In Fig. 4 sind auf der Abszisse die O_2 - bzw. Halothankonzentrationen $[Q_1]$ $[Q_2]$ und auf der Ordinate der um 1 verminderte Quotient der Standard- und relativen Fluoreszenzintensität aufgetragen. Die Anstiege der gezeichneten Geraden entsprechen den Löschkonstanten des ersten Indikators für O_2 bzw. Halothan.

Die Löschkonstanten des ersten und zweiten Indikators sind in Tab. 4 zusammengestellt.

Tabelle 4

Löschkonstanten von Fluoreszenzindikatoren mit aromatischen Kohlenwasserstoffen durch Sauerstoff und Halothan

Sensor 1	$^1k_A = 0.202$	$^2k_A = 0.811$
Sensor 2	$^1k_B = 0.771$	$^2k_B = 0.643$

Folgende Meßwerte wurden erhalten: $F_A^0/F_A = 1073$; daher ist α gleich 0.073. $F_B^0/F_B = 1.180$; daher ist β gleich 0.180.

Setzt man α , β und die Löschkonstanten der Tab. 4 in die Gleichungen (6) und (7) ein, so resultieren für die Konzentrationen von O_2 $[Q_1]$ und Halothan $[Q_2]$ die Werte 0.1999 bzw. 0.043, entsprechend einem Prozentsatz von 19.99 und 4.3 %. Dies steht in hervorragender Übereinstimmung mit dem tatsächlichen Sauerstoff- bzw. Halothangehalt.

PATENTANSPRÜCHE

5

1. Verfahren zur fluorimetrischen Bestimmung der Konzentration von in einer Substanz enthaltenen Stoffen, z. B. Gasen, Flüssigkeiten, mit Fluoreszenzindikatoren, deren Fluoreszenzintensität von den zu bestimmenden Stoffen gemindert bzw. gelöscht wird, **dadurch gekennzeichnet**, daß zur insbesondere gleichzeitigen Bestimmung der Konzentrationen von zumindest zwei Stoffen an der die Stoffe enthaltenden Substanz eine der Anzahl der zu bestimmenden Stoffkonzentrationen entsprechende Anzahl von Messungen der Fluoreszenzintensität vorgenommen wird, wobei zumindest ein in bezug auf zumindest einen der zu bestimmenden Stoffe nicht spezifischer bzw. ein von mehr als einem der Stoffe löschbarer Fluoreszenzindikator eingesetzt wird, der in bezug auf die ihn jeweils in seinen Intensitäten löschenden Stoffe (Löcher) verschiedene Löschkonstanten aufweist und daß aus den bekannten, ungelöschten Fluoreszenzintensitäten der eingesetzten Fluoreszenzindikatoren, den gemessenen gelöschten bzw. geminderten Fluoreszenzintensitäten und den bekannten bzw. vorab, z. B. graphisch oder rechnerisch, ermittelten Löschkonstanten die Konzentrationen der einzelnen Stoffe und/oder das Verhältnis von Stoffkonzentrationen, bestimmt werden.

2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß zur Bestimmung der Konzentration von einem Stoff oder der Konzentrationen von mehreren Stoffen in Gegenwart von zumindest einem weiteren nicht interessierenden bzw. störenden Stoff, welcher die Fluoreszenzintensität(en) des bzw. der auf den bzw. auf die zu bestimmenden Stoff(e) ansprechenden Fluoreszenzindikator(en)s ebenfalls löscht, sowohl die Fluoreszenzintensität(en) bezüglich des zu bestimmenden Stoffes bzw. der zu bestimmenden Stoffe als auch bezüglich des störenden Stoffes bestimmt wird bzw. werden und die gemessenen Fluoreszenzintensitäten zur Ermittlung der Konzentration(en) des bzw. der zu bestimmenden Stoffe(s) herangezogen wird bzw. werden.

3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Fluoreszenzindikatoren gleichzeitig den zu bestimmenden Stoffen bzw. der diese enthaltenden Substanz zugegeben und ggf. vermischt werden oder auf mehrere Stofflösungen oder Indikatormembranen verteilt eingesetzt werden.

4. Anordnung zur Durchführung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 3, bei der die die zu bestimmenden Stoffe enthaltende Substanz in einem Probenraum angeordnet ist und mit den Fluoreszenzindikatoren der Sensorelemente zusammenwirkt, wobei die Fluoreszenzintensität der von einer Lichtquelle in den Fluoreszenzindikatoren angeregten Fluoreszenzstrahlung durch die zu bestimmenden Stoffe verringer- bzw. löschar ist, **dadurch gekennzeichnet**, daß eine der Anzahl der gleichzeitig zu bestimmenden Konzentrationen der Stoffe entsprechende Anzahl von Fluoreszenzindikatoren in den Sensorelementen (21 A, 21 B, 21 C, ...) vorgesehen ist, welche zumindest mittelbar an den Probenraum (20) angrenzen, daß zumindest einer der Fluoreszenzindikatoren ein in bezug auf zumindest einen der zu bestimmenden Stoffe nicht spezifisch ansprechender bzw. von mehr als einem Stoff löschbarer Fluoreszenzindikator ist, daß die Löschkonstanten dieses Fluoreszenzindikators für die ihn löschenden Stoffe jeweils unterschiedlich sind und daß die verringerten bzw. gelöschten Fluoreszenzintensitäten der einzelnen Fluoreszenzindikatoren von Lichtdetektoren (23 A, 23 B, 23 C, ...) gemessen werden, die gegebenenfalls über einen Verstärker (28) mit einer Auswerteeinheit (29) verbunden sind, sodaß die von den Detektoren (23 A, 23 B, 23 C, ...) empfangenen Signale dieser Auswerteeinheit (29) zur Ermittlung der Konzentrationen und/oder des Verhältnisses der Stoffkonzentrationen der einzelnen zu bestimmenden Stoffe zuführbar sind.

5. Anordnung nach Anspruch 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß zumindest ein Teil der Sensorelemente (21 A, 21 B, 21 C, ...) eine Indikatorsubstanz enthält, die bei den einzelnen Sensorelementen in jeweils verschiedener Umgebung bzw. Lösung oder Bindung vorliegt und in verschiedener Lösung bzw. Bindung gegenüber den sie löschenden Stoffen unterschiedliche Löschkonstanten besitzt.

6. Anordnung nach einem der Ansprüche 4 oder 5, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Fluoreszenzindikatoren bzw. -substanzen auf mehrere Stofflösungen oder auf mehrere Sensorelemente (21 A, 21 B, 21 C, ...) verteilt sind.

7. Anordnung nach einem der Ansprüche 4 bis 6, **dadurch gekennzeichnet**, daß zwischen dem Probenraum (20) und den Sensorelementen (21 A, 21 B, 21 C, ...) Reaktionsräume vorgesehen sind, in welchen durch chemische Reaktion löschende Stoffe in nichtlöschende oder in denen nichtlöschende Stoffe in löschende umwandelbar sind.

8. Anordnung nach einem der Ansprüche 4 bis 6, **dadurch gekennzeichnet**, daß zwischen dem Probenraum (20) und den Sensorelementen (21 A, 21 B, 21 C, ...) permeationsselektive Membranen angeordnet sind.
- 5 9. Anordnung nach einem der Ansprüche 4 bis 8, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Sensorelemente (21 A, 21 B, 21 C, ...) in der Spitze einer optischen Meßsonde angeordnet sind, die in die die Stoffe enthaltende Substanz eintauchbar ist.
- 10 10. Anordnung nach einem der Ansprüche 4 bis 9, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Sensorelemente (21 A, 21 B, 21 C, ...) und/oder die Reaktionsräume und/oder die permeationsselektiven Membranen für die Fluoreszenzindikatoren in Reihe nebeneinander oder schichtförmig übereinander angeordnet sind.
- 15 11. Anordnung nach einem der Ansprüche 4 bis 10, **dadurch gekennzeichnet**, daß zur Steigerung der optischen Selektivität und zur Rauschunterdrückung Lichtfilter (26, 27) in dem Strahlengang zwischen der Lichtquelle (22) und dem Probenraum (20) und/oder zwischen dem Probenraum (20) und den Sensorelementen (21 A, 21 B, 21 C, ...) vorgesehen sind.
- 20 12. Anordnung nach einem der Ansprüche 4 bis 11, **dadurch gekennzeichnet**, daß den Sensorelementen (21 A, 21 B, 21 C, ...) zur Ausschaltung von Lichtquellenintensitätsschwankungen eine Referenzlichtmeßzelle (33) bzw. ein Referenzindikator zugeordnet ist, die bzw. der gegebenenfalls über einen Verstärker (28) an die Recheneinheit (29) angeschlossen ist.

25

Hiezu 2 Blatt Zeichnungen

FIG. 1

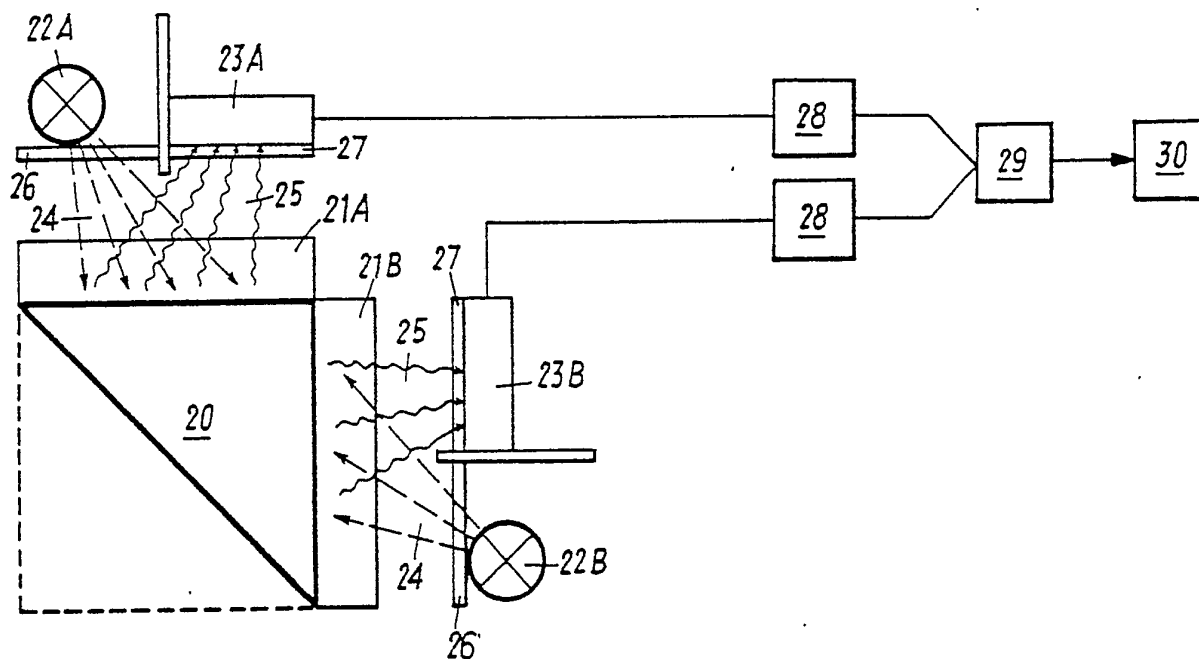


FIG. 2

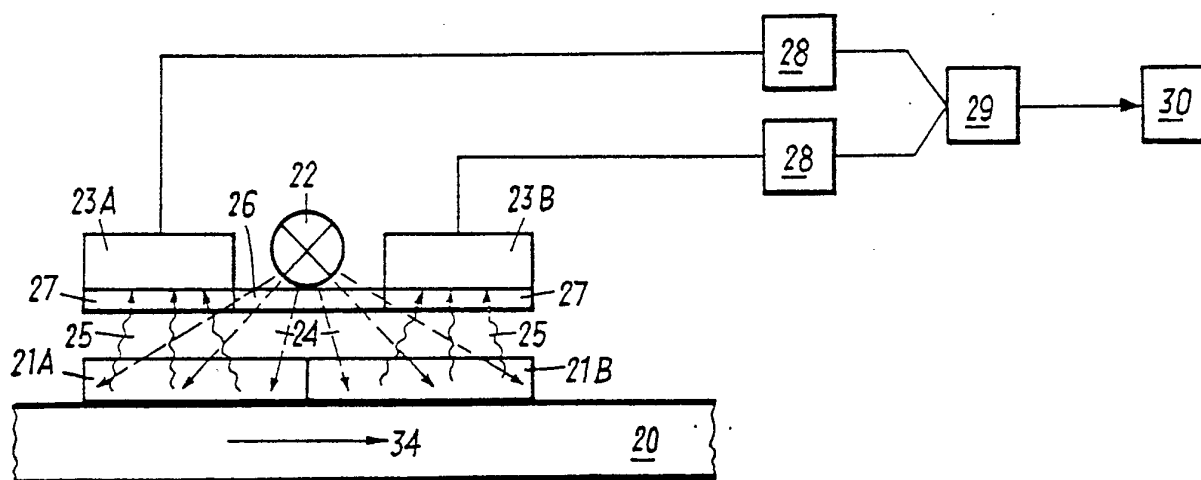


FIG.3

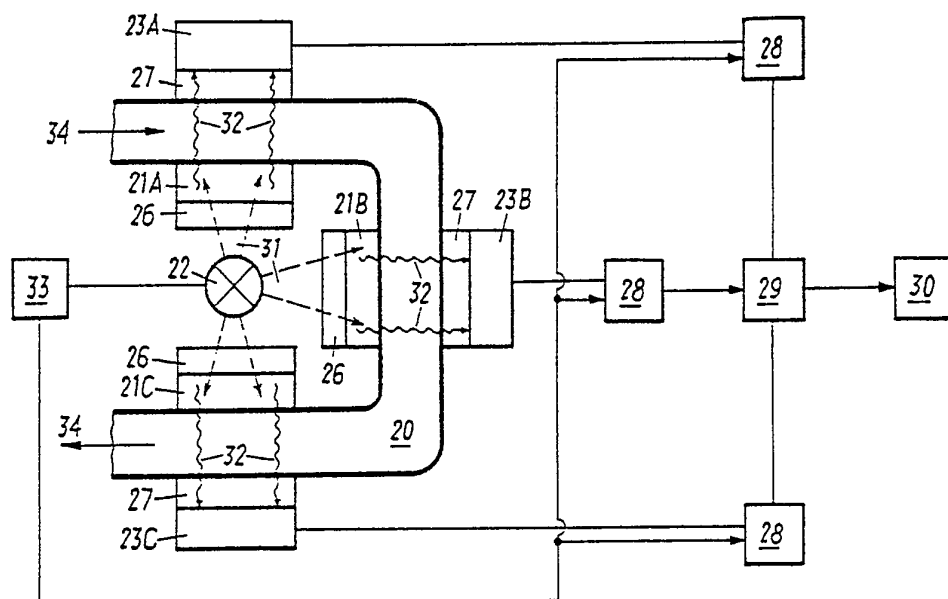


FIG.4

