

(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

23. März 2017 (23.03.2017)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer

WO 2017/046337 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:

G01N 15/02 (2006.01) G01N 15/10 (2006.01)

G01N 15/00 (2006.01) G01N 21/47 (2006.01)

G01N 15/06 (2006.01) G01N 21/53 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2016/071985

(22) Internationales Anmeldedatum:

16. September 2016 (16.09.2016)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:

10 2015 217 700.9

16. September 2015 (16.09.2015)

DE

(71) Anmelder: FRAUNHOFER-GESELLSCHAFT ZUR
FÖRDERUNG DER ANGEWANDTEN FORSCHUNG
E.V. [DE/DE]; Hansastraße 27c, 80686 München (DE).

(72) Erfinder: FRESE, Ines; Dietzestr. 21, 55120 Mainz (DE).

(74) Anwalt: PFENNING, MEINIG & PARTNER MBB;
Theresienhöhe 11a, 80339 München (DE).

(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, KW, 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).

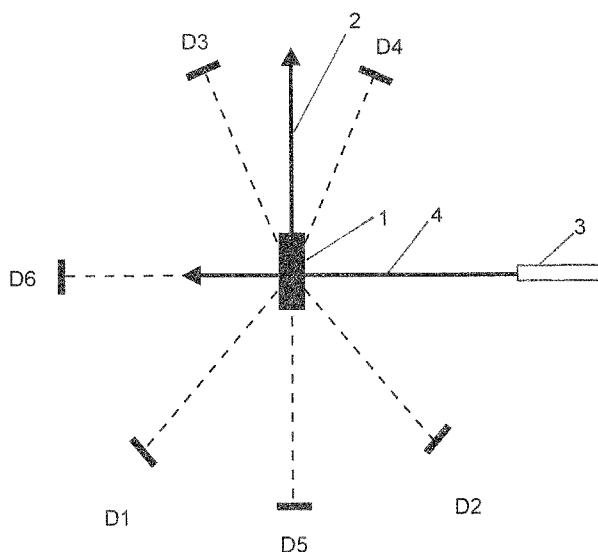
Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz
3)

(54) Title: METHOD FOR DETERMINING THE AVERAGE RADIUS OF GYRATION OF PARTICLES WITH A SIZE OF ≤ 1 MM IN A SUSPENSION, AND DEVICE FOR CARRYING OUT THE METHOD

(54) Bezeichnung : VERFAHREN ZUR BESTIMMUNG DES MITTLEREN TRÄGHEITSRADIUS VON PARTIKELN MIT EINER GRÖÖE VON $\leq 1 \mu\text{m}$ IN EINER SUSPENSION UND VORRICHTUNG ZUR DURCHFÜHRUNG DES VERFAHRENS

Figur 1



(57) Abstract: The invention relates to a method for determining the average radius of gyration (r_g) of particles with a size of $\leq 1 \mu\text{m}$ in a suspension, and to a device for carrying out the method according to the invention. The method is based on the scattering of linearly polarised electromagnetic radiation on nanoparticles, which, suspended in a solution, are moved through a through-flow cell. The irradiation is carried out perpendicular to the movement direction, wherein the scattering intensity is measured via at least four detectors that are arranged in a defined plane at defined angles. Alternatively, at least one mirror can be used in the position of at least one of the detectors, which deflects the radiation to at least one detector. Based on the scattering intensities, both the average radius of gyration (r_g) of the particles as well as the concentration thereof in the suspension can be determined.

(57) Zusammenfassung:

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]



Erfindungsgemäß wird ein Verfahren zur Bestimmung des mittleren Trägheitsradius (r_g) von Partikeln mit einer Größe von $\leq 1 \mu\text{m}$ in einer Suspension und eine Vorrichtung zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens bereitgestellt. Das Verfahren basiert auf der Streuung von linear polarisierter elektromagnetischer Strahlung an Nanopartikeln, die suspendiert in einer Lösung durch eine Durchflusszelle bewegt werden. Die Bestrahlung erfolgt senkrecht zur Bewegungsrichtung, wobei die Streuungsintensität über mindestens vier Detektoren gemessen wird, die in einer definierten Ebene in definierten Winkeln angeordnet werden bzw. sind. Alternativ kann an der Position von mindestens einem der Detektoren mindestens ein Spiegel verwendet werden, der die Strahlung auf mindestens einen Detektor ablenkt. Anhand der Streuungsintensitäten kann sowohl der mittlere Trägheitsradius (r_g) der Partikel als auch deren Konzentration in der Suspension bestimmt werden.

Verfahren zur Bestimmung des mittleren Trägheitsradius von Partikeln mit einer Größe von $\leq 1 \mu\text{m}$ in einer Suspension und Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens

- 5 Erfindungsgemäß wird ein Verfahren zur Bestimmung des mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ von Partikeln mit einer Größe von $\leq 1 \mu\text{m}$, bevorzugt $\leq 500 \text{ nm}$, besonders bevorzugt $\leq 200 \text{ nm}$, in einer Suspension und eine Vorrichtung zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens bereitgestellt. Das Verfahren basiert auf der Streuung von linear polarisierter elektromagnetischer
- 10 Strahlung an Nanopartikeln, die suspendiert in einer Lösung durch eine Durchflusszelle bewegt werden. Die Bestrahlung erfolgt senkrecht zur Bewegungsrichtung, wobei die Streuungsintensität über mindestens vier Detektoren gemessen wird, die in einer definierten Ebene in definierten Winkeln angeordnet werden bzw. sind. Alternativ kann an der Position von mindestens einem
- 15 der Detektoren mindestens ein Spiegel verwendet werden, der die Strahlung auf mindestens einen Detektor ablenkt. Anhand der Streuungsintensitäten

kann sowohl der mittlere Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ der Partikel als auch deren Konzentration in der Suspension bestimmt werden.

Es besteht der Verdacht, dass Nanopartikel (z.B. Größe < 200 nm) gesundheitliche Folgen bei Menschen und Tieren haben können und somit sicherheitsrelevant in Bezug auf den Umweltschutz sind. Deshalb gibt es eine dringende Notwendigkeit zur Überwachung von Herstellungsverfahren bestimmter Produkte, bei welchen Belastungen mit Nanopartikeln auftreten. Die Belastung kann während der Aufbereitung des Produkts, nach der Herstellung des Produkts oder auch erst bei der Verwendung des Produkts auftreten (z.B. durch Hydrolyse).

Die Notwendigkeit der Charakterisierung von industriellen Produkten ist nicht nur von der Wissenschaft und der Politik erkannt worden, sondern wird derzeit, auch durch die aktuellen Verschärfungen diesbezüglicher Regularien, von der Wirtschaft umgesetzt. Ähnlich wie bei der Partikelzählung in Luft entsprechend der ISO 11 057:2011 Norm soll eine optische Messung für Kolloide, basierend auf dem Tyndall-Effekt, entwickelt werden. Gerade zur Abschätzung von umweltrelevanten Expositionen in aquatischen Systemen fehlt derzeit noch eine spezifische Analytik. Entsprechende kommerzielle Geräte für die Durchführung einer Charakterisierung in einem Auftragslabor sind bislang nicht verfügbar.

Der Gehalt an schwerlöslichen Substanzen in Form von Feststoff-Nanopartikeln in aquatischen Systemen wurde bei der Risikoevaluierung häufig vernachlässigt bzw. nicht besonders berücksichtigt. Bei den meisten der derzeit zur Verfügung stehenden kommerziellen Geräten kann nur innerhalb eines kleinen Bereiches des Gesamtvolumens einer Probe bei relativ hohen Konzentrationen gemessen werden, was in der Regel nicht für die zu erwartende, durchschnittliche Partikelkonzentrationen einer nach OECD-105 präparierten Probe aus einem beispielsweise Silica-haltigen Material geeignet ist.

Viele der im Stand der Technik bekannten Geräte sind nicht sensitiv genug für Messungen an pyrogenen Kieselsäure-Kolloiden mit niedrigen Partikelkonzentrationen. Bei der Charakterisierung dieser Kolloide sind grund-

sätzlich zwei Aufgaben zu lösen, nämlich die Bestimmung der gemittelten Partikelgröße und die Ermittlung der Partikelkonzentration.

Einige wissenschaftliche Standardverfahren, wie die statische (SLS) und dynamische (DLS) Lichtstreuung, stehen für die Messung der Partikelgröße zur Verfügung und sind validiert. Allerdings ist die DLS zu arbeits- und zeitaufwendig für eine Anwendung bei der Produktcharakterisierung in der Industrie. Zudem erfordert sie ein hochqualifiziertes Personal für eine adäquate Interpretation der Messergebnisse. Seit den frühen 1950ern wurde die Partikelgröße über SLS mittels der Dissymmetrie-Methode bestimmt und anschließend die Konzentration aus der Streuintensität auf konventionelle Art und Weise berechnet.

Die Herausforderung einer möglichst exakten Bestimmung mit bekannten Verfahren liegt darin, dass in realen Kolloiden eine Wechselwirkung zwischen den Einzelpartikeln stattfindet. Dies beeinträchtigt eine Bestimmung der Partikelgröße gemäß dem Dissymmetrie-Verfahren. Die Wechselwirkung kann durch eine winkelabhängige Messung mehrerer Verdünnungen des Analyts und unter Anwendung der Zimm-Approximation auf Nullkonzentration und Nullwinkel herausgerechnet werden. Bei realen Proben ist diese Vorgehensweise problematisch, da die zu erwartenden Konzentrationen so niedrig sind, dass deren Detektion bereits unverdünnt eine Herausforderung darstellt. Zudem wächst die Intensität des Streulichts der Nanopartikel proportional zur sechsten Potenz der Partikelgröße. Deswegen beschränken natürlich vorkommende, schwache Verunreinigungen durch größere Partikel üblicherweise die Anwendung dieser Verfahren auf Partikel einer Größe von > 100 nm, die in hohen Konzentrationen vorliegen.

Ein weiteres Problem stellen die großen Abmessungen der konventionellen Messvorrichtungen dar. Dies wird hervorgerufen durch die Notwendigkeit, die Detektionszelle und die Detektoren räumlich voneinander zu trennen. Die Trennung ist erforderlich um zu vermeiden, dass störende Reflexionen an den transparenten Oberflächen die Detektoren erreichen, da diese Reflexionen üblicherweise viel stärker sind als das Streulicht. Solche Messvorrichtungen sind meistens auch sehr kostspielig, aufwendig in der Handhabung und lassen

sich nicht soweit miniaturisieren und automatisieren, dass sie für Messungen vor-Ort oder in einem Auftragslabor geeignet sind.

Ein weiterer Nachteil der bekannten Standardverfahren und Messvorrichtungen liegt darin, dass sie nicht gleichzeitig bzw. in einem Gerät die Partikelgröße und Konzentration von Nanopartikeln bestimmen können. Nur ein universelles Verfahren, das eine Bestimmung der Partikelgröße mit gleichzeitiger Berechnung der Konzentration sowie den Ausschluss des Einflusses der Verunreinigung durch größere Partikel ermöglicht und dabei ausreichend sensitiv ist, um geringe Konzentrationen von Nanopartikeln kosteneffizient zu bestimmen, kann den Bedarf der Industrie nach einer quantitativen Charakterisierung von Produkten in Bezug auf die Belastung mit Nanopartikeln decken.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass derzeit kein standardisiertes Verfahren zur Verfügung steht, mit dem Partikel einer Größe von < 200 nm auch bei geringen Partikelkonzentrationen bezüglich deren mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ und Konzentration charakterisiert werden können. Daher können zertifizierte Auftragslabore zurzeit keine Produkte auf Partikelbelastung in dem von der Industrie benötigten Umfang und zu konkurrenzfähigen Preisen prüfen.

Ausgehend hiervon war es die Aufgabe der vorliegenden Erfindung ein Verfahren und eine Vorrichtung bereitzustellen, mit dem/der auf einfache und sensitive Art und Weise der mittlere Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ und die Konzentration von Partikel mit einer Größe von $\leq 1 \mu\text{m}$, bevorzugt ≤ 500 nm, besonders bevorzugt ≤ 200 nm, in einer Suspension bestimmt werden können.

Die Aufgabe wird gelöst durch das Verfahren gemäß Anspruch 1 und die Vorrichtung gemäß Anspruch 18. Die abhängigen Ansprüche zeigen vorteilhafte Weiterbildungen auf.

Erfindungsgemäß wird ein Verfahren zur Bestimmung des mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ von Partikeln mit einer Größe von $\leq 1 \mu\text{m}$, bevorzugt ≤ 500 nm, besonders bevorzugt ≤ 200 nm, in einer Suspension bereitgestellt, umfassend die Schritte:

- a) Bewegen einer Suspension enthaltend Partikel einer Größe von $\leq 1 \mu\text{m}$, bevorzugt $\leq 500 \text{ nm}$, besonders bevorzugt $\leq 200 \text{ nm}$, durch eine Durchflusszelle mit einer bestimmten Flussgeschwindigkeit entlang einer Bewegungsgeraden;
- 5 b) Bestrahlen der Suspension in der Durchflusszelle mit linear polarisierter elektromagnetischer Strahlung einer Wellenlänge von $\leq 800 \text{ nm}$ über eine Strahlungsquelle entlang einer Bestrahlungsgeraden, wobei die Bestrahlungsgerade die Bewegungsgerade in einem Streuungspunkt schneidet; und
- 10 c) Detektion von mindestens zwei ersten Streuintensitäten der elektromagnetischen Strahlung über mindestens einen ersten und mindestens einen zweiten Detektor, wobei der mindestens eine erste Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem ersten Winkel θ_1 und der mindestens eine zweite Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem zweiten Winkel $180^\circ - \theta_1$ angeordnet ist;
- 15 d) Detektion von mindestens zwei weiteren Streuintensitäten der elektromagnetischen Strahlung über mindestens einen dritten und mindestens einen vierten Detektor, wobei der dritte Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem dritten Winkel θ_2 und der vierte Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem vierten Winkel $180^\circ - \theta_2$ angeordnet ist, wobei $\theta_2 \neq \theta_1$;
- 20 e) Wiederholung der Schritte a) bis d) mit einer Referenzflüssigkeit ohne Partikel anstelle der Suspension enthaltend Partikel;
- f) Bilden von mindestens vier Differenzen von Streuintensitäten, wobei jeweils die Streuintensitäten der Referenzflüssigkeit ohne Partikel von den Streuintensitäten der Suspension mit Partikel abgezogen werden;
- 25 g) Berechnung des mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ der Partikel aus den mindestens vier Differenzen von Streuintensitäten, dadurch gekennzeichnet, dass der mindestens eine erste, zweite, dritte und vierte Detektor in einer Ebene angeordnet ist oder wird, die parallel zur Bestrahlungsgeraden und senkrecht zur Bewegungsgeraden ist, wobei alternativ an der Position von mindestens einem der Detektoren mindestens ein Spiegel zur Ablenkung der elektromagnetischen Strahlung zu dem mindestens einen Detektor verwendet wird.
- 30
- 35 Das erfindungsgemäße Verfahren ermöglicht es, auf schnelle und einfache Art und Weise mit hoher Sensitivität und Genauigkeit den mittleren Trägheitsra-

dius $\langle r_g \rangle$ von Partikeln mit einer Größe von $\leq 1 \mu\text{m}$, bevorzugt $\leq 500 \text{ nm}$, besonders bevorzugt $\leq 200 \text{ nm}$, in einer Suspension zu bestimmen. Die Bestimmung des mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ ist auch für Partikel möglich, die eine Größe von mehr als 200 nm aufweisen (z.B. Partikel mit einer Größe von $\leq 1 \mu\text{m}$), da die Winkelabhängigkeit der Streuintensität auch für Partikel mit einer Größe von mehr als 200 nm im Zusammenhang mit der Größe, Form und Material charakteristisch ist. Das erfindungsgemäße Verfahren gleicht den Einfluss der chemischen Wechselwirkung in kolloiden Suspensionen aus und erlaubt somit bei der Anwendung der Dissymmetrie-Methode für die Bestimmung der Partikelgröße diese Wechselwirkung zu vernachlässigen.

In der alternativen Lösung der erfindungsgemäßen Aufgabe wird an der Position von mindestens einem der Detektoren (bevorzugt von allen Detektoren) ein Spiegel eingesetzt, der die elektromagnetische Strahlung auf einen Detektor (z.B. einen unterhalb des mindestens einen Spiegels angeordneten CCD-Detektor) ablenkt. Wird ein flächiger Detektor eingesetzt, so kann dieser orts- bzw. winkelaufgelöst ausgelesen werden. Die Alternativlösung bewirkt, dass die Detektoren nicht zwingend in der Ebene angeordnet werden müssen, welche die Durchflusszelle schneidet. Mit anderen Worten können die Detektoren in einer Ebene unterhalb oder oberhalb der Durchflusszelle angeordnet sein oder werden. Dies ermöglicht den Einsatz von planaren Detektoren bzw. planaren Detektorarrays anstelle von kreisförmig um die Durchflusszelle angeordneten Detektoren bzw. Detektorarrays. Gegebenenfalls kann auch ein Einwegchip eingesetzt werden.

Wird in dem Verfahren Licht einer Wellenlänge von $\leq 480 \text{ nm}$ verwendet (z.B. blaues Licht) erhöht dies die Streuintensität der Kleinstpartikel erhöht damit die Sensitivität deren Messung.

Die Durchflusszelle weist vorteilhafterweise ein kleines zu analysierendes Volumen, von beispielsweise $10\text{-}15 \mu\text{L}$, auf, wobei zu jedem Zeitpunkt der komplette Querschnitt über die gesamte Strahlhöhe der Detektionszelle ausgelesen wird. Dies ermöglicht bei einer Detektion im Durchflussmodus eine automatisierte komplette Charakterisierung größerer Probenvolumina von z.B. $20\text{-}50 \text{ mL}$ innerhalb wenigen Stunden.

In dem erfindungsgemäßen Verfahren kann der erste Winkel θ_1 von 45° bis 55° , bevorzugt 50° , zur Strahlrichtung betragen und/oder $\theta_1 \pm 4^\circ \leq \theta_2 \leq \theta_1 \pm 20^\circ$ gilt.

- 5 Die Anzahl der Detektionswinkeln zwischen 40° und 90° zur Strahlrichtung kann ≥ 2 sein.

Bevorzugt umfasst die Berechnung des mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ der Partikel die folgenden Schritte:

- 10 a) Berechnen eines Werts Z_1 aus den mindestens zwei ersten Streuintensitäten gemäß der Formel

$$Z_1 = \frac{I_{\theta_1}}{I_{180^\circ - \theta_1}} = \frac{P_{\theta_1}}{P_{180^\circ - \theta_1}} \left[1 - \frac{2A_2 M_p c_p Y}{(1 + 2A_2 M_p c_p P(q)_\theta)} (P_{\theta_1} - P_{180^\circ - \theta_1}) \right]$$

wobei

I_{θ_1} : Streuintensität beim ersten Winkel θ_1 ;

$I_{180^\circ - \theta_1}$: Streuintensität beim zweiten Winkel $180^\circ - \theta_1$;

- 15 $P(\theta_1)/P(180^\circ - \theta_1)$: Quotient der Formfaktoren, der sich aus Form und Größe der Partikel ergibt;

M_p : gemittelte Molekularmasse der NP;

c_p : Konzentration,

A_2 : zweiter Virialkoeffizient; und

- 20 b) Berechnen eines Werts Z_2 aus den mindestens zwei weiteren Streuintensitäten gemäß der Formel

$$Z_2 = \frac{I_{\theta_2}}{I_{180^\circ - \theta_2}} = \frac{P_{\theta_2}}{P_{180^\circ - \theta_2}} \left[1 - \frac{2A_2 M_p c_p Y}{(1 + 2A_2 M_p c_p P(q)_\theta)} (P_{\theta_2} - P_{180^\circ - \theta_2}) \right]$$

wobei

- 25 I_{θ_2} : Streuintensität beim dritten Winkel θ_2 ;

$I_{180^\circ - \theta_2}$: Streuintensität beim vierten Winkel $180^\circ - \theta_2$;

$P(\theta_2)/P(180^\circ - \theta_2)$: Quotient der Formfaktoren, der sich aus Form und Größe der Partikel ergibt;

M_p : gemittelte Molekularmasse der NP;

- 30 c_p : Konzentration,

A_2 : zweite Virialkoeffizient; und

- c) Numerische Bestimmung des mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ anhand einer für die Partikel gemäß der folgenden Formel berechnete Kalibrationskurve:

$$F(\langle r_g \rangle) = 0,5 \cdot [Z_1 - Z_2 + (Z_1/Z_2 - 1)].$$

5

In einem weiteren Schritt des Verfahrens kann die Konzentration der Partikel in der Suspension bestimmt werden, wobei die Bestimmung der Konzentration die folgenden Schritte umfasst:

- 10 a) Detektion von einer Streuintensität 90° zur Bestrahlungsrichtung der elektromagnetischen Strahlung über einen fünften Detektor und Detektion der Einstrahlintensität I_0 über einen sechsten Detektor, wobei der fünfte Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem fünften Winkel von 90° und der sechste Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem sechsten
- 15 Winkel von 180° angeordnet wird oder ist;
- b) Berechnung von $R(\theta_l)$, $R(\theta_m)$ eines beliebigen Paares aus den fünf Streuintensitäten I_l , I_m bei der Einstrahlungsintensität I_0 wobei
- $$R(\theta_i) = \frac{I_{\theta_i}}{I_0} \frac{r^2}{V \cos \theta_i} : \text{Rayleigh-Verhältnis unter dem Winkel } \theta_i;$$
- 20 V: Streuvolumen und
- r^2 : Quadrat des Abstands zwischen dem Zentrum des Streuvolumens und dem entsprechenden Detektor;
- c) Paarweise Kombination der mindestens beim ersten, zweiten, dritten, vierten und fünften Winkel detektierten Streuintensitäten untereinander
- 25 und Berechnen von mindestens 10 unabhängigen Konzentrationen c_i gemäß der Formel
- $$c_i = 1/(M_p \cdot K) \cdot [1/P(\theta_l) - 1/P(\theta_m)] / [1/R(\theta_l) - 1/R(\theta_m)]$$
- wobei
- M_p : Molekulargewicht der Partikel;
- 30 K: auf Material und Konzentration bezogener Kontrastfaktor zur Charakterisierung des Streuvermögens der Partikel;
- $P(\theta_l), P(\theta_m)$: Formfaktoren für Streusignale eines beliebigen Paares aus den fünf Streuintensitäten;
- $R(\theta_l), R(\theta_m)$: von Material und Partikelgröße abhängige Rayleigh-
- 35 Verhältnisse eines beliebigen Paares aus den fünf Streuintensitäten; und

- d) Berechnen des Mittelwerts der mindestens 10 unabhängigen Konzentrationen c_i und Berechnen der Standardabweichung.

5 Die paarweise Kombination der mindestens beim ersten, zweiten, dritten, vierten und fünften Winkel detektierten Streuintensitäten untereinander (in Schritt b)) ergibt nach kombinatorischen Regeln die folgenden 10 Kombinationen ohne Wiederholung:

1. Winkel – 2. Winkel;
 1. Winkel – 3. Winkel;
 10 1. Winkel – 4. Winkel;
 1. Winkel – 5. Winkel;
 2. Winkel – 3. Winkel;
 2. Winkel – 4. Winkel;
 2. Winkel – 5. Winkel;
 15 3. Winkel – 4. Winkel;
 3. Winkel – 5. Winkel; und
 4. Winkel – 5. Winkel.

20 Der mindestens eine erste und mindestens eine zweite, sowie der mindestens eine dritte und mindestens eine vierte Detektor, können, paarweise untereinander, symmetrisch zu der 90°-Achse angeordnet werden oder sein.

25 Die Detektoren können jeweils eine Eingangsfläche oder Eingangsöffnung enthalten, die zumindest bereichsweise an einer Durchflusszellenoberfläche angeordnet ist oder angrenzt oder zumindest bereichsweise mit dieser identisch ist, wobei die Eingangsfläche oder Eingangsöffnung ein für die elektromagnetische Strahlung transparenter flacher Hohlraum, optional ein Luft-
 30 raum, oder eine für elektromagnetische Strahlung transparente Fensterfläche ist und bevorzugt einen Brechungsindex aufweist, der im Wesentlichen ähnlich zum Brechungsindex der Durchflusszellenoberfläche ist, besonders bevorzugt einen Brechungsindex, der vom Brechungsindex der Durchflusszellenoberfläche um $\leq 0,1$, bevorzugt $\leq 0,05$, abweicht.

Die Durchflusszelle kann

- 35 a) ein Volumen von 1 bis 450 μl , bevorzugt 2 bis 300 μl , besonders bevorzugt 5 bis 240 μl , insbesondere 10 bis 180 μl , aufweisen;

- b) im Querschnitt, also senkrecht zur Durchflussrichtung der Suspension, kreisförmig, rechteckig oder Polygon-förmig ausgestaltet sein und die Durchflusszelle bevorzugt entlang der Bewegungsrichtung in Form eines geraden Kreiszylinders ausgestaltet sein;
- 5 c) Glas und/oder ein Polymer enthalten oder daraus bestehen; und/oder
- d) auf einer Berührungsoberfläche mit der Suspension einen Brechungsindex aufweisen, der im Wesentlichen dem Brechungsindex der Suspension entspricht, bevorzugt einen Brechungsindex, der vom Brechungsindex der Suspension um $\leq 0,1$, bevorzugt $\leq 0,05$, abweicht.

10

Die Suspension kann mit einer Durchflussrate von 0,02 bis 2 mL/min, bevorzugt 0,04 bis 1 mL/min, besonders bevorzugt 0,1 bis 0,5 mL/min, insbesondere 0,2 bis 0,3 mL/min durch die Durchflusszelle bewegt werden, bevorzugt in einem laminaren Strömungsprofil. Kleine Durchflussraten ermöglichen es, mit

15 einer zeitaufgelösten Datenaufnahme in einer längeren Zeitspanne größere Partikel als einen zeitaufgelösten Zusatzpeak zu identifizieren, während diese den Streuungspunkt passieren.

15

Die Detektoren können vor der Detektion der Streuintensität in dem Verfahren kalibriert werden, wobei bevorzugt durch die Kalibration die Abweichung der tatsächlichen Position der Detektoren von der Idealposition der Detektoren ausgeglichen wird.

20

In einer bevorzugten Ausführungsform ist mindestens ein Strahlungsweg vom Streuungspunkt zu mindestens einem Detektor gegenüber einem Strahlungsweg vom Streuungspunkt zu mindestens einem benachbarten Detektor optisch isoliert, bevorzugt durch eine für die elektromagnetische Strahlung intransparente Abschirmung entlang des Strahlungswegs, wobei die Abschirmung besonders bevorzugt eine Antireflex-Oberflächenbeschaffenheit aufweist, insbesondere eine Antireflex-Oberfläche, die ein schwarzes Gel oder einen schwarzen Tafellack enthält oder daraus besteht. Dadurch kann eine Totalreflexion an Lichtwellenleiterwänden entlang des Strahlungswegs unterdrückt werden, so dass nur die gewünschten Streuphotonen zu dem entsprechenden Detektor gelangen.

25

30

35

Das Verfahren kann dadurch gekennzeichnet sein, dass folgende Schritte durchgeführt werden:

- a) Bewegen der Suspension mit den Partikel durch die Durchflusszelle;
- b) Detektion der Streuintensitäten der elektromagnetischen Strahlung der Suspension in der Durchflusszelle;
- c) Bewegen von Luft oder einem anderen geeigneten Trennmedium durch die Durchflusszelle zur räumlichen Trennung der Suspension und der Referenzlösung;
- d) Bewegen einer Referenzlösung, die aus der Suspension ohne Partikel besteht, durch die Durchflusszelle;
- e) Detektion der Streuintensitäten der elektromagnetischen Strahlung der Referenzlösung in der Durchflusszelle; und
- f) Abzug der für die Referenzlösung gemessenen Streuintensität von der für die Suspension ermittelten Streuintensität;

wobei bevorzugt die Schritte a) bis f) mehrmals wiederholt werden.

Bei den Detektoren kann es sich um Si-Detektoren und/oder CCD-Sensoren handeln, bevorzugt Si-Detektoren, Avalanche-Photodioden und/oder Avalanche-Photodiodenarrays mit oder ohne nachgeschalteten Impedanzverstärker.

In einer bevorzugten Ausführungsform wird die detektierte Streuintensität mit einem elektronischen Datenfilter, bevorzugt einem Histogrammfilter, korrigiert, der die Streuintensität besonders bevorzugt in Bezug auf Signale von Partikeln einer Größe von > 100 nm korrigiert, insbesondere durch Subtraktion dieser Signale. Die elektronische Datenvorfiltration ermöglicht den Beitrag der größeren Partikel in der Lösung bei der Auswertung herauszurechnen und dadurch die kleine Partikel trotz der Anwesenheit der großen „sichtbar“ zu machen. Dadurch ist die Empfindlichkeit der Messung gegenüber den Kleinstpartikeln erhöht.

Die elektromagnetische Strahlung kann

- a) eine Wellenlänge im Bereich von 250 nm bis 800 nm, bevorzugt 320 nm bis 500 nm, besonders bevorzugt 360 nm bis 450 nm, insbesondere 380 nm bis 420 nm, aufweisen; und/oder
- b) monochromatisch sein;

- c) parallel oder senkrecht zur Bewegungsgeraden linear polarisiert sein; und/oder
- d) über eine Laserlichtquelle, bevorzugt eine Laserdiode, erzeugt werden.

5 Die mittlere Größe der Partikel kann basierend auf dem Tyndall-Effekt bestimmt werden.

10 In einem Schritt vor Schritt a) des erfindungsgemäßen Verfahrens, d.h. vor dem Bewegen der Partikel durch die Durchflusszelle, kann eine Suspension enthaltend eine Flüssigkeit und Partikel einer Größe von $\leq 1 \mu\text{m}$, bevorzugt $\leq 500 \text{ nm}$, besonders bevorzugt $\leq 200 \text{ nm}$, optional $\leq 100 \text{ nm}$, und Partikel einer Größe von $> 1 \mu\text{m}$, bevorzugt $> 500 \text{ nm}$, besonders bevorzugt $> 200 \text{ nm}$, optional $> 100 \text{ nm}$, durch eine Membran filtriert werden, wobei die Partikel einer Größe von $> 1 \mu\text{m}$, bevorzugt $> 500 \text{ nm}$, besonders bevorzugt $> 200 \text{ nm}$, optional $> 100 \text{ nm}$, von der Suspension abgetrennt werden.

Die Strahlungsquelle kann

- i) entlang der Bestrahlungsgerade angeordnet werden oder sein; oder
- 20 ii) die Bestrahlungsquelle in einem Winkel zur Bestrahlungsgeraden angeordnet werden oder sein und die elektromagnetischen Strahlung über mindestens einen Spiegel auf die Bestrahlungsgerade abgelenkt werden.

25 Der Vorteil an der Anordnung mindestens eines Spiegel an der Stelle der Strahlungsquelle ist, dass die Strahlungsquelle nicht in der Ebene angeordnet werden muss, welche die Durchflusszelle (genauer: den Streuungspunkt) schneidet. Als Folge hiervon ist die Anordnung der Strahlungsquelle flexibel d.h. die Strahlungsquelle kann beispielsweise unterhalb oder oberhalb der Durchflusszelle angeordnet werden oder sein.

30 Ferner wird eine Vorrichtung zur Bestimmung des mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ von Partikeln mit einer Größe von $\leq 1 \mu\text{m}$, bevorzugt $\leq 500 \text{ nm}$, besonders bevorzugt $\leq 200 \text{ nm}$, in einer Suspension bereitgestellt, enthaltend

- a) eine Durchflusszelle, optional mit einer Pumpvorrichtung zur Bewegung einer Suspension enthaltend Partikel einer Größe von $\leq 1 \mu\text{m}$, bevorzugt

35 $\leq 500 \text{ nm}$, besonders bevorzugt $\leq 200 \text{ nm}$, und/oder einer Referenzflüs-

sigkeit ohne Partikel mit einer bestimmten Flussgeschwindigkeit entlang einer Bewegungsgeraden;

b) eine Strahlungsquelle zur Bestrahlung der Suspension in der Durchflusszelle mit linear polarisierter elektromagnetischer Strahlung einer Wellenlänge von ≤ 800 nm entlang einer Bestrahlungsgeraden, wobei die Bestrahlungsgerade die Bewegungsgerade in einem Streuungspunkt schneidet; und

c) mindestens einen ersten und zweiten Detektor zur Detektion von mindestens zwei ersten Streuintensitäten der elektromagnetischen Strahlung, wobei der mindestens eine erste Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem ersten Winkel θ_1 und der mindestens eine zweite Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem zweiten Winkel $180^\circ - \theta_1$ angeordnet ist;

d) mindestens einen dritten und vierten Detektor zur Detektion von mindestens zwei weiteren Streuintensitäten der elektromagnetischen Strahlung, wobei der mindestens eine dritte Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem dritten Winkel θ_2 und der mindestens eine vierte Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem vierten Winkel $180^\circ - \theta_2$ angeordnet ist; und

e) eine Recheneinheit, die dazu konfiguriert ist, mindestens die am ersten, zweiten, dritten und vierten Detektor detektierten Streuintensitäten einer Referenzlösung ohne Partikel von den jeweils dort detektierten Streuintensitäten einer Suspension enthaltend Partikel abzuziehen und aus den mindestens vier Differenzen den mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ der Partikel zu berechnen,

dadurch gekennzeichnet, dass der mindestens eine erste, zweite, dritte und vierte Detektor in einer Ebene angeordnet sind, die parallel zur Bestrahlungsgeraden und senkrecht zur Bewegungsgeraden ist, wobei alternativ an der Position von mindestens einem der Detektoren mindestens ein Spiegel zur Ablenkung der elektromagnetischen Strahlung zu dem mindestens einen Detektor angeordnet ist.

In der alternativen Lösung der erfindungsgemäßen Aufgabe enthält die Vorrichtung an der Position von mindestens einem der Detektoren (bevorzugt von allen Detektoren) einen Spiegel. Dabei kann mindestens ein Detektor (bevorzugt alle Detektoren, optional in Form eines CCD-Arrays)) entweder unterhalb oder oberhalb des mindestens einen Spiegels angeordnet sein.

Die Vorrichtung kann dadurch gekennzeichnet sein, dass der erste Winkel θ_1 von 45° bis 55° , bevorzugt 50° , zur Strahlrichtung beträgt und/oder $\theta_1 \pm 4^\circ \leq \theta_2 \leq \theta_1 \pm 20^\circ$ gilt.

- 5 Die Anzahl der Detektionswinkeln zwischen 40° und 90° zur Strahlrichtung kann ≥ 2 sein.

Die Recheneinheit kann darauf eingestellt sein (z.B. programmiert sein), den mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ der Partikel über folgende Schritte zu ermitteln:

- 10 a) Berechnen eines Werts Z_1 aus den beiden ersten Streuintensitäten gemäß der Formel

$$Z_1 = \frac{I_{\theta_1}}{I_{180^\circ - \theta_1}} = \frac{P_{\theta_1}}{P_{180^\circ - \theta_1}} \left[1 - \frac{2A_2 M_p c_p Y}{(1 + 2A_2 M_p c_p P(q)_\theta)} (P_{\theta_1} - P_{180^\circ - \theta_1}) \right]$$

wobei

I_{θ_1} : Streuintensität beim ersten Winkel θ_1 ;

$I_{180^\circ - \theta_1}$: Streuintensität beim zweiten Winkel $180^\circ - \theta_1$;

- 15 $P(\theta_1)/P(180^\circ - \theta_1)$: Quotient der Formfaktoren, der sich aus Form und Größe der Partikel ergibt;

M_p : gemittelte Molekularmasse der NP;

c_p : Konzentration,

A_2 : zweiter Virialkoeffizient; und

- 20 b) Berechnen eines Werts Z_2 aus den beiden weiteren Streuintensitäten gemäß der Formel

$$Z_2 = \frac{I_{\theta_2}}{I_{180^\circ - \theta_2}} = \frac{P_{\theta_2}}{P_{180^\circ - \theta_2}} \left[1 - \frac{2A_2 M_p c_p Y}{(1 + 2A_2 M_p c_p P(q)_\theta)} (P_{\theta_2} - P_{180^\circ - \theta_2}) \right]$$

wobei

I_{θ_2} : Streuintensität beim dritten Winkel θ_2 ;

- 25 $I_{180^\circ - \theta_2}$: Streuintensität beim vierten Winkel $180^\circ - \theta_2$;

$P(\theta_2)/P(180^\circ - \theta_2)$: Quotient der Formfaktoren, der sich aus Form und Größe der Partikel ergibt;

M_p : gemittelte Molekularmasse der NP;

c_p : Konzentration,

- 30 A_2 : zweiter Virialkoeffizient; und

- c) Numerische Bestimmung des mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ anhand einer für eine konkrete Art der Partikel gemäß der folgenden Formel berechnete Kalibrationskurve:

$$F(\langle r_g \rangle) = 0,5 \cdot [Z_1 - Z_2 + (Z_1/Z_2 - 1)].$$

5

Ferner kann die Recheneinheit darauf eingestellt sein, die Konzentration der Partikel in der Suspension zu bestimmen, wobei die Bestimmung der Konzentration folgende Schritte umfasst:

- 10 a) Detektion von zwei weiteren Streuintensitäten der elektromagnetischen Strahlung über einen fünften und sechsten Detektor, wobei der fünfte Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem fünften Winkel von 90° und der sechste Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem sechsten Winkel von 180° angeordnet ist;
- 15 b) Berechnung von $R(\theta_l), R(\theta_m)$: von Material und Partikelgröße abhängige Rayleigh-Verhältnisse eines beliebigen Paares aus den fünf Streuintensitäten I_l, I_m bei der Einstrahlungsintensität I_0
wobei

$$R(\theta_i) = \frac{I_{\theta_i}}{I_0} \frac{r^2}{V \cos \theta_i} : \text{Rayleigh-Verhältniss unter dem Winkel } \theta_i;$$
- 20 V : Streuvolumen und
 r^2 : Quadrat des Abstands zwischen dem Zentrum des Streuvolumens und dem entsprechenden Detektor;
- c) Paarweise Kombination der mindestens beim ersten, zweiten, dritten, vierten und fünften Winkel detektierten Streuintensitäten untereinander und
 25 Berechnen von mindestens 10 unabhängigen Konzentrationen c_i gemäß der Formel

$$c_i = 1/(M_p \cdot K) \cdot [1/P(\theta_l) - 1/P(\theta_m)] / [1/R(\theta_l) - 1/R(\theta_m)]$$

 wobei
 M_p : Molekulargewicht der Partikel;
 30 K : auf Material und Konzentration bezogener Kontrastfaktor zur Charakterisierung des Streuvermögens der Partikel;
 $P(\theta_l), P(\theta_m)$: Formfaktoren für Streusignale eines beliebigen Paares aus den fünf Streuintensitäten;
 $R(\theta_l), R(\theta_m)$: von Material und Partikelgröße abhängige Rayleigh-
 35 Verhältnisse eines beliebigen Paares aus den fünf Streuintensitäten; und

- d) Berechnen des Mittelwerts der mindestens 10 unabhängigen Konzentrationen c_i und Berechnen der Standardabweichung.

5 In einer bevorzugten Ausgestaltungsform ist das Paar aus mindestens einem ersten und mindestens einem zweiten Detektor und/oder das Paar aus mindestens einem dritten und mindestens einem vierten Detektor symmetrisch zu der 90°-Achse angeordnet.

10 Die Detektoren können jeweils eine Eingangsfläche oder Eingangsöffnung enthalten, die zumindest bereichsweise an einer Durchflusszellenoberfläche angeordnet ist oder angrenzt oder zumindest bereichsweise mit dieser identisch ist, wobei die Eingangsfläche oder Eingangsöffnung ein für die elektromagnetische Strahlung transparenter flacher Hohlraum, optional ein Luft-
15 raum, oder eine für elektromagnetische Strahlung transparente Fensterfläche ist und bevorzugt einen Brechungsindex aufweist, der im Wesentlichen ähnlich zum Brechungsindex der Durchflusszellenoberfläche ist, besonders bevorzugt einen Brechungsindex, der vom Brechungsindex der Durchflusszellenoberfläche um $\leq 0,1$, bevorzugt $\leq 0,05$, abweicht.

20 Die Durchflusszelle kann

- a) ein Volumen von 1 bis 450 μm , bevorzugt 2 bis 300 μm , besonders bevorzugt 5 bis 240 μl , insbesondere 10 bis 180 μl , aufweisen;
- b) im Querschnitt, also senkrecht zur Durchflussrichtung der Suspension, kreisförmig, rechteckig oder Polygon-förmig ausgestaltet sein, wobei die
25 Durchflusszelle bevorzugt entlang der Bewegungsrichtung in Form eines geraden Kreiszylinders ausgestaltet ist;
- c) Glas und/oder ein Polymer enthalten oder daraus bestehen; und/oder
- d) auf einer Berührungsoberfläche mit der Suspension einen Brechungsindex aufweisen, der im Wesentlichen dem Brechungsindex der Suspension
30 entspricht, bevorzugt einen Brechungsindex, der vom Brechungsindex der Suspension um $\leq 0,1$, bevorzugt $\leq 0,05$, abweicht.

35 Die Durchflusszelle kann wie die in der WO 2007/074038 A1 beschriebene Messzelle ausgestaltet sein und kann auch ein Teil des in der WO 2007/074038 A1 beschriebenen Messchips sein. Dies hat den Vorteil, dass der

Weg zwischen dem Streuvolumen und dem Detektor reduziert wird (Reflexreduktion) und damit die Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens klein und platzsparend gebaut werden kann (Miniaturisierung). Zusätzlich kann hier die gestreute elektromagnetische Strahlung in Form von Stegen in Richtung der verschiedenen Streuwinkel getrennt durch einen mit Luft oder einem Licht absorbierenden Medium gefüllten Zwischenraum geleitet werden.

Bevorzugt ist die Antriebsvorrichtung dazu geeignet, die Suspension mit einer Durchflussrate von 0,02 bis 2 mL/min, bevorzugt 0,04 bis 1 mL/min, besonders bevorzugt 0,1 bis 0,5 mL/min, insbesondere 0,2 bis 0,3 mL/min, durch die Durchflusszelle zu bewegen, bevorzugt in einem laminaren Strömungsprofil. Durchflusszelle mit kleinen Durchflussraten mit zeitaufgelösten Datenaufnahme in einer längeren Zeitspanne ermöglicht es, größere Partikel als einen zeitaufgelösten Zusatzpeak zu identifizieren, während diese den Lichtstrahl überqueren.

Die Recheneinheit kann dazu geeignet sein, die Detektoren vor der Detektion der Streuintensität zu kalibrieren, wobei bevorzugt durch die Kalibration die Abweichung der tatsächlichen Position der Detektoren von der Idealposition der Detektoren ausgeglichen wird. Durch diese Eignung der Recheneinheit können Fertigungstoleranzen der Vorrichtung korrigiert werden, wodurch sich die Genauigkeit des Messverfahrens steigert.

In einer bevorzugten Ausgestaltungsform ist mindestens ein Strahlungsweg vom Streuungspunkt zu mindestens einem Detektor gegenüber einem Strahlungsweg vom Streuungspunkt zu mindestens einem benachbarten Detektor optisch isoliert, bevorzugt durch eine für die elektromagnetische Strahlung intransparente Abschirmung entlang des Strahlungswegs, wobei die Abschirmung besonders bevorzugt eine Antireflex-Oberfläche aufweist, insbesondere eine Antireflex-Oberfläche, die ein schwarzes Gel oder einen schwarzen Tafellack enthält oder daraus besteht. Dadurch kann eine Totalreflexion an Lichtwellenleiterwänden entlang des Strahlungswegs unterdrückt werden, so dass nur Streuphotonen zu dem entsprechenden Detektor gelangen, die sich geradeaus unter dem gewünschten Streuwinkel bewegen.

Die Vorrichtung kann dazu geeignet sein, die folgenden Schritte durchzuführen:

- a) Bewegen der Suspension durch die Durchflusszelle;
- b) Detektion der Streuintensitäten der elektromagnetischen Strahlung der Suspension in der Durchflusszelle;
- c) Bewegen von Luft oder einem anderen geeigneten Trennmedium durch die Durchflusszelle zur räumlichen Trennung der Suspension und der Referenzlösung;
- d) Bewegen einer Referenzlösung, die aus der Suspension ohne Partikel besteht, durch die Durchflusszelle;
- e) Detektion der Streuintensitäten der elektromagnetischen Strahlung der Referenzlösung in der Durchflusszelle; und
- f) Abzug der für die Referenzlösung gemessenen Streuintensität von der für die Suspension ermittelten Streuintensität;

wobei bevorzugt die Schritte a) bis f), mehrmals wiederholt werden.

Bei den Detektoren kann es sich um Si-Detektoren und/oder CCD-Sensoren handeln, bevorzugt Si-Detektoren, Avalanche-Photodioden und/oder Avalanche-Photodiodenarrays mit oder ohne nachgeschalteten Impedanzverstärker.

Die Vorrichtung kann dazu geeignet sein, die detektierte Streuintensität mit einem elektronischen Datenfilter zu korrigieren, bevorzugt einem Histogrammfilter, der die Streuintensität besonders bevorzugt in Bezug auf Signale von Partikeln einer Größe von > 100 nm korrigiert, insbesondere durch Subtraktion dieser Signale.

Die Strahlungsquelle kann

- a) dazu geeignet sein, eine Wellenlänge im Bereich von 250 nm bis 800 nm, bevorzugt 320 nm bis 500 nm, besonders bevorzugt 360 nm bis 450 nm, insbesondere 380 nm bis 420 nm, zu emittieren und/oder
- b) dazu geeignet sein, monochromatische elektromagnetische Strahlung zu emittieren;
- c) dazu geeignet sein, parallel oder senkrecht zur Bewegungsgeraden linear polarisiertes Licht zu emittieren; und/oder

- d) eine Laserlichtquelle, bevorzugt eine Laserdiode, enthalten oder daraus zu bestehen.

5 Die Recheneinheit kann dazu konfiguriert sein, die mittlere Größe der Partikel basierend auf dem Tyndall-Effekt zu bestimmen.

10 Die Vorrichtung kann ferner eine Membran enthalten zur Abtrennung von Partikeln einer Größe von $> 1 \mu\text{m}$, bevorzugt $> 500 \text{ nm}$, besonders bevorzugt $> 200 \text{ nm}$, optional $> 100 \text{ nm}$, von einer Suspension enthaltend eine Flüssigkeit und Partikel einer Größe von $\leq 1 \mu\text{m}$, bevorzugt $\leq 500 \text{ nm}$, besonders bevorzugt $\leq 200 \text{ nm}$, optional $\leq 100 \text{ nm}$, und Partikel einer Größe von $> 1 \mu\text{m}$, bevorzugt $> 500 \text{ nm}$, besonders bevorzugt $> 200 \text{ nm}$, optional $> 100 \text{ nm}$. Hierbei gelangt eine vorfiltrierte Suspension (z.B. mit Porengröße von 200 nm bzw. 100 nm) in die Durchflussszelle, wodurch sich die Sensitivität der Messung be-

15 züglich Partikel kleinen Durchmessers weiter verbessert.

Die Strahlungsquelle kann

- 20 i) entlang der Bestrahlungsgerade angeordnet sein; oder
ii) in einem Winkel zur Bestrahlungsgeraden angeordnet sein und die Anordnung mindestens einen Spiegel enthalten, der so angeordnet ist, dass er die elektromagnetische Strahlung der Strahlungsquelle auf die Bestrahlungsgerade ablenkt.

25 Der Vorteil an der Anordnung mit Spiegel ist, dass die Strahlungsquelle nicht in der Ebene angeordnet werden muss, welche die Durchflussszelle schneidet. Folglich kann die Strahlungsquelle auch unterhalb oder oberhalb der Durchflussszelle angeordnet sein, was aus eine kompaktere Bauweise der Vorrichtung ermöglicht.

30 Anhand der nachfolgenden Figuren und Beispiele soll der erfindungsgemäße Gegenstand näher erläutert werden, ohne diesen auf die hier dargestellten spezifischen Ausführungsformen einschränken zu wollen.

35 Figur 1 zeigt eine schematische Darstellung der geometrischen Anordnung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung. Aus der Darstellung geht die Durchflussszelle 1, die Strahlungsquelle 3 und die einzelnen Detektoren D1, D2, D3,

D4, D5, D6, die in dem erfindungsgemäßen Verfahren bzw. der erfindungsgemäßen Vorrichtung verwendet werden hervor. Über eine Strahlungsquelle 3 wird linear polarisierte elektromagnetische Strahlung entlang einer Bestrahlungsgeraden 4 auf eine Durchflussszelle 1 gerichtet. Durch die Durchflussszelle wird eine Suspension mit den zu messenden Partikeln entlang einer Bewegungsgeraden 2 geleitet, wobei die Bewegungsgerade 2 senkrecht auf der Bestrahlungsgeraden 4 steht. In einer Ebene um die Durchflussszelle 1, die parallel zur Bestrahlungsgeraden 4 und senkrecht zur Bewegungsgeraden 2 ist, ist ein erster Detektor D1, ein zweiter Detektor D2, ein dritter Detektor D3, ein vierter Detektor D4, ein fünfter Detektor D5 und ein sechster Detektor D6 angeordnet, die jeweils die Streuintensitäten bei einem ersten, zweiten, dritten, vierten, fünften sowie die Einstrahlungsintensität bei einem sechsten Winkel messen. Aus den Streuintensitäten beim ersten bis vierten Winkel wird erfindungsgemäß der mittlere Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ bestimmt. Für die Bestimmung der Konzentration der Partikel in der Suspension wird zudem die Streuintensität beim fünften Winkel (90° zur Bestrahlungsgeraden 4), sowie zusätzlich Einstrahlungsintensität beim sechsten Winkel (180° zur Bestrahlungsgeraden 4), berücksichtigt.

Figur 2 zeigt eine schematische Darstellung der geometrischen Anordnung einer weiteren erfindungsgemäßen Vorrichtung. Die Anordnung der Durchflussszelle 1, der Strahlungsquelle 3 und der einzelnen, hier 20 Detektoren D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, D9, D10, D11, D12, D13, D14, D15, D16, D17, D18, D19, D20 ist dargestellt. Wertepaare für einen bestimmten Winkel θ_1 und seinen dazugehörigen Winkel $180^\circ - \theta_1$ bilden jeweils die Detektoren D1 und D2, D3 und D4, D5 und D6, D7 und D8, D9 und D10, D11 und D12, D13 und D14, D15 und D16, D17 und D18, D19 und D20. Über eine Strahlungsquelle 3 wird linear polarisierte elektromagnetische Strahlung entlang einer Bestrahlungsgeraden 4 auf eine Durchflussszelle 1 gerichtet. Durch die Durchflussszelle wird eine Suspension auch hier mit den zu messenden Partikeln entlang einer Bewegungsgeraden 2 geleitet, wobei die Bewegungsgerade 2 senkrecht auf der Bestrahlungsgeraden 4 steht. In einer Ebene um die Durchflussszelle 1, die parallel zur Bestrahlungsgeraden 4 und senkrecht zur Bewegungsgeraden 2 ist, sind die insgesamt 20 Detektoren D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, D9, D10, D11, D12, D13, D14, D15, D16, D17, D18, D19, D20 angeordnet, die jeweils die Streuintensitäten bei einem ersten bis zwanzigsten Winkel messen. Ein ei-

nundzwanzigster Detektor $D(0^\circ)$ misst die Einstrahlungsintensität und ein zweiundzwanzigster Detektor $D(90^\circ)$ misst die 90° -Streuintensität. Aus den Streuintensitäten beim ersten bis zwanzigsten Winkel wird der mittlere Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ bestimmt. Für die Bestimmung der Konzentration der Partikel in der Suspension wird zudem die Streuintensität beim zweiundzwanzigsten Winkel (90° zur Bestrahlungsgeraden 4), sowie zusätzlich Einstrahlungsintensität beim einundzwanzigsten Winkel (180° zur Bestrahlungsgeraden 4), berücksichtigt.

Beispiel 1 – Berechnung des mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$

Der mittlere Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ wird aus den gemittelten und auf größere Partikel korrigierten Intensitätswerten entsprechend der Dissymmetriemethode aus den Daten für zwei entsprechende, symmetrisch zu der Bewegungsgeraden gesetzten Messwinkeln berechnet.

Es gilt:

$$Z_i = I_{\theta_i} / I_{180^\circ - \theta_i} = P(\theta_i) / P(180^\circ - \theta_i),$$

wobei

$I_{\theta_i} / I_{180^\circ - \theta_i}$: Quotient der unter den entsprechenden Winkel gemessenen Intensitäten;

$P(\theta_i) / P(180^\circ - \theta_i)$: ein den Winkeln θ_i und $180^\circ - \theta_i$ entsprechender Quotient der Formfaktoren, der von der Form der Partikel und ihrer Größe abhängt und woraus der mittlere Trägheitsradius berechnet werden kann.

Die Berechnung des mittleren Trägheitsradius anhand von $P(\theta_i) / P(180^\circ - \theta_i)$ funktioniert, falls die Wechselwirkung zwischen den Partikeln und Wasser sowie den Partikeln untereinander vernachlässigbar klein ist.

Ansonsten gilt:

$$I_{\theta_i} / I_{180^\circ - \theta_i} = P(\theta_i) / P(180^\circ - \theta_i) \cdot [1 - f(A_2, c, M_p) \cdot (P(\theta_i) / P(180^\circ - \theta_i))],$$

wobei

$$f(A_2, c, M_p) > 0;$$

A_2 : zweiter Virialkoeffizient (verantwortlich für die Wechselwirkung);

c : Konzentration der Partikel;

M_p : Molekulargewicht der Partikel.

Üblicherweise wird dies nach der Zimm-Methode rausgerechnet. Erfindungsgemäß wird die Wechselwirkung aus der winkelabhängigen Messung der Quotient aus θ_i und $180^\circ - \theta_i$ für zwei Winkelpaare Z_1 und Z_2 berechnet. Aus Z_1 und Z_2 wird die Differenz $(Z_1 - Z_2)$, der Wert $(Z_1/Z_2 - 1)$ und der Mittelwert aus Z_1 und Z_2 bestimmt.

Für kleine Partikelgrößen ($d/\lambda < 0,25$, wobei d : Partikeldurchmesser und λ : Wellenlänge) gilt:

$$\begin{aligned} Z_1 &= P(\theta_1)/P(180^\circ - \theta_1) \cdot [1 - f(A_2, c, M_p) \cdot (P(\theta_1)/P(180^\circ - \theta_1))]; \\ Z_2 &= P(\theta_2)/P(180^\circ - \theta_2) \cdot [1 - f(A_2, c, M_p) \cdot (P(\theta_2)/P(180^\circ - \theta_2))]; \\ \Delta Z &= P(\theta_1)/P(180^\circ - \theta_1) - P(\theta_2)/P(180^\circ - \theta_2) - f(A_2, c, M_p) \cdot [(P(\theta_1)/P(180^\circ - \theta_1)) - (P(\theta_2)/P(180^\circ - \theta_2))]; \end{aligned}$$

Für den Fall, dass θ_1 und θ_2 relativ nah beinander liegen, gilt:

$$[P(\theta_1) - P(180^\circ - \theta_1)] - [P(\theta_2) - P(180^\circ - \theta_2)] \ll P(\theta_1) - P(180^\circ - \theta_1); \text{ und}$$

$$[P(\theta_1) - P(180^\circ - \theta_1)] - [P(\theta_2) - P(180^\circ - \theta_2)] \ll P(\theta_2) - P(180^\circ - \theta_2); \text{ und damit}$$

$$\Delta Z \approx P(\theta_1)/P(180^\circ - \theta_1) - P(\theta_2)/P(180^\circ - \theta_2) - \text{Differenz der Quotienten im Fall einer Wechselwirkung der Partikel untereinander} \rightarrow 0).$$

Für den Quotient gilt dann:

$$\begin{aligned} Z_1/Z_2 &= P(\theta_1)/P(\theta_2) \cdot P(180^\circ - \theta_2)/P(180^\circ - \theta_1) \cdot [(1 - f(A_2, c, M_p) \cdot (P(\theta_1) - P(180^\circ - \theta_1))) / [(1 - f(A_2, c, M_p) \cdot (P(\theta_2) - P(180^\circ - \theta_2)))] - 1; \end{aligned}$$

wobei

$$(1 - f(A_2, c, M_p) \cdot (P(\theta_1) - P(180^\circ - \theta_1))) \approx (1 - f(A_2, c, M_p) \cdot (P(\theta_2) - P(180^\circ - \theta_2))); \text{ und}$$

$$Z_1/Z_2 - 1 = P(\theta_1)/P(\theta_2) \cdot P(180^\circ - \theta_2)/P(180^\circ - \theta_1) - 1 < 1, \text{ mit dem Verhältnis der Quotienten } Z_1 \text{ und } Z_2 \text{ im Fall einer Wechselwirkung der Partikel untereinander} \rightarrow 0).$$

Für den Idealfall und $d/\lambda < 0,25$ gilt somit:

$$\Delta Z \approx Z_1/Z_2 - 1;$$

Da der Einfluss von $f(A_2, c, M_p)$ durch die Bildung von ΔZ und $(Z_1/Z_2 - 1)$ auf einen vernachlässigbaren kleinen Wert reduziert ist kann aus dem Mittelwert

der beiden gemessenen Z die Partikelgröße berechnet werden. Dies erfolgt gemäß folgendem Zusammenhang:

$$[\Delta Z + Z_1/Z_2 - 1] / 2$$

5

Beispiel 2 – Berechnung der Partikelkonzentration

Die Konzentration kann dann aus den winkelabhängig gemessenen Intensitäten berechnet werden. Um Fertigungs- und Positionierungsfehler auszugleichen wird die bei mindestens fünf (optional auch sechs) Streuwinkel gemessene Intensität herangezogen.

10

Es gilt:

$$K / R(\theta_1) = 1 / (M_p \cdot P(\theta_1) \cdot c) + 2A_{21}/P/V;$$

15

$$K / R(\theta_2) = 1 / (M_p \cdot P(\theta_2) \cdot c) + 2A_{22}/P/V;$$

wobei

$K = \text{const.};$

$$P = (1 + \cos^2 \theta_i) / 2r^2;$$

20

$r = \text{Abstand von Detektionszelle zum Detektor bzw. Spiegel};$

$$R(\theta_i) = [(I_{\text{Analyt}} - I_{\text{Ref}})/I_0]_{\theta_i};$$

$V = \text{Streuolumen.}$

Ferner gilt:

25

$$K/R(\theta_1) - K / R(\theta_2) = 1 / (M_p \cdot c) \cdot [1/P(\theta_1) - 1/P(\theta_2)];$$

$$c = 1/(M_p \cdot K) \cdot [1/P(\theta_1) - 1/P(\theta_2)] / [1/R(\theta_1) - 1/R(\theta_2)]; \text{ und}$$

$$2A_2 = (K/R(90^\circ) - (1/(c \cdot M_p \cdot P(90^\circ))));$$

Aus den fünf Winkeln entstehen dann zehn Werte für die Konzentration, die gemittelt werden und im Anschluss die Standardabweichung berechnet wird. Die Standardabweichung liefert ein Maß für die Genauigkeit des Verfahrens, wobei somit auf eine systembedingte Ungenauigkeit der erfindungsgemäßen Vorrichtung geschlossen werden kann (z.B. eine konstruktionsbedingte, leichte Abweichung der Detektoren bzw. Spiegel vom Idealwinkel), die über eine entsprechende Kalibration ausgeglichen werden kann.

30

35

Patentansprüche

5

1. Verfahren zur Bestimmung des mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ von Partikeln mit einer Größe von $\leq 1 \mu\text{m}$, bevorzugt $\leq 500 \text{ nm}$, besonders bevorzugt $\leq 200 \text{ nm}$, in einer Suspension, umfassend die Schritte:

10

- a) Bewegen einer Suspension enthaltend Partikel einer Größe von $\leq 1 \mu\text{m}$, bevorzugt $\leq 500 \text{ nm}$, besonders bevorzugt $\leq 200 \text{ nm}$, durch eine Durchflusszelle mit einer bestimmten Flussgeschwindigkeit entlang einer Bewegungsgeraden;

15

- b) Bestrahlen der Suspension in der Durchflusszelle mit linear polarisierter elektromagnetischer Strahlung einer Wellenlänge von $\leq 800 \text{ nm}$ über eine Strahlungsquelle entlang einer Bestrahlungsgeraden, wobei die Bestrahlungsgerade die Bewegungsgerade in einem Streuungspunkt schneidet; und

20

- c) Detektion von mindestens zwei ersten Streuintensitäten der elektromagnetischen Strahlung über mindestens einen ersten und mindestens einen zweiten Detektor, wobei der mindestens eine erste Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem ersten Winkel θ_1 und der mindestens eine zweite Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem zweiten Winkel $180^\circ - \theta_1$ angeordnet ist;

25

- d) Detektion von mindestens zwei weiteren Streuintensitäten der elektromagnetischen Strahlung über mindestens einen dritten und mindestens einen vierten Detektor, wobei der mindestens eine dritte Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem dritten Winkel θ_2 und der mindestens eine vierte Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem vierten Winkel $180^\circ - \theta_2$ angeordnet ist, wobei $\theta_2 \neq \theta_1$;

30

- e) Wiederholung der Schritte a) bis d) mit einer Referenzflüssigkeit enthaltend keine Partikel anstelle der Suspension enthaltend Partikel;

f) Bilden von mindestens vier Differenzen von Streuintensitäten, wobei jeweils die Streuintensitäten der Referenzflüssigkeit ohne Partikel von den Streuintensitäten der Suspension mit Partikel abgezogen werden; und

5 g) Berechnung des mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ der Partikel aus den mindestens vier Differenzen von Streuintensitäten,

dadurch gekennzeichnet, dass der mindestens eine erste, zweite, dritte und vierte Detektor in einer Ebene angeordnet ist oder wird, die parallel zur Bestrahlungsgeraden und senkrecht zur Bewegungsgeraden ist, wobei alternativ an der Position von mindestens einem der Detektoren mindestens ein Spiegel zur Ablenkung der elektromagnetischen Strahlung zu dem mindestens einen Detektor verwendet wird.

10 2. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der erste Winkel θ_1 von 45° bis 55° , bevorzugt 50° , zur Strahlrichtung beträgt und/oder $\theta_1 \pm 4^\circ \leq \theta_2 \leq \theta_1 \pm 20^\circ$ gilt.

3. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Anzahl der Detektionswinkeln zwischen 40° und 90° zur Strahlrichtung ≥ 2 ist.

20 4. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Berechnung des mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ der Partikel die folgenden Schritte umfasst:

a) Berechnen eines Werts Z_1 aus den mindestens zwei ersten Streuintensitäten gemäß der Formel

$$Z_1 = \frac{I_{\theta_1}}{I_{180^\circ - \theta_1}} = \frac{P_{\theta_1}}{P_{180^\circ - \theta_1}} \left[1 - \frac{2A_2 M_p c_P Y}{(1 + 2A_2 M_p c_P P(q)_\theta)} (P_{\theta_1} - P_{180^\circ - \theta_1}) \right]$$

25 wobei

I_{θ_1} : Streuintensität beim ersten Winkel θ_1 ;

$I_{180^\circ - \theta_1}$: Streuintensität beim zweiten Winkel $180^\circ - \theta_1$;

$P(\theta_1)/P(180^\circ - \theta_1)$: Quotient der Formfaktoren, der sich aus Form und Größe der Partikel ergibt;

M_p : gemittelte Molekularmasse der NP;

c_p : Konzentration,

A_2 : zweiter Virialkoeffizient; und

- 5 b) Berechnen eines Werts Z_2 aus den mindestens zwei weiteren Streuintensitäten gemäß der Formel

$$Z_2 = \frac{I_{\theta_2}}{I_{180^\circ-\theta_2}} = \frac{P_{\theta_2}}{P_{180^\circ-\theta_2}} \left[1 - \frac{2A_2 M_p c_p Y}{(1+2A_2 M_p c_p P(q)_\theta)} (P_{\theta_2} - P_{180^\circ-\theta_2}) \right]$$

wobei

I_{θ_2} : Streuintensität beim dritten Winkel θ_2 ;

10 $I_{180^\circ-\theta_2}$: Streuintensität beim vierten Winkel $180^\circ-\theta_2$;

$P(\theta_2)/P(180^\circ-\theta_2)$: Quotient der Formfaktoren, der sich aus Form und Größe der Partikel ergibt;

M_p : gemittelte Molekularmasse der NP;

c_p : Konzentration,

15 A_2 : zweiter Virialkoeffizient; und

- c) Numerische Bestimmung des mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ anhand einer für die Partikel gemäß der folgenden Formel berechnete Kalibrationskurve:

$$F(\langle r_g \rangle) = 0,5 \cdot [Z_1 - Z_2 + (Z_1/Z_2 - 1)].$$

- 20 5. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass in einem weiteren Schritt die Konzentration der Partikel in der Suspension bestimmt wird, wobei die Bestimmung der Konzentration die folgenden Schritte umfasst:

- 25 a) Detektion von einer Streuintensität 90° zur Bestrahlungsrichtung der elektromagnetischen Strahlung über einen fünften Detektor und Detektion der Einstrahlintensität I_0 über einen sechsten Detektor, wobei der fünfte Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem fünften Winkel von 90° und der sechste Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem sechsten Winkel von 180° angeordnet wird oder ist;
- 30

- b) Berechnung von $R(\theta_l)$, $R(\theta_m)$ eines beliebigen Paares aus den fünf Streuintensitäten I_l , I_m bei der Einstrahlungsintensität I_0

wobei

$$R(\theta_i) = \frac{I_{\theta_i}}{I_0} \frac{r^2}{V \cos \theta_i} : \text{Rayleigh-Verhältnis unter dem Winkel } \theta_i;$$

V: Streuvolumen und

r^2 : Quadrat des Abstands zwischen dem Zentrum des Streuvolumens und dem entsprechenden Detektor;

5

- c) Paarweise Kombination der mindestens beim ersten, zweiten, dritten, vierten und fünften Winkel detektierten Streuintensitäten untereinander und Berechnen von mindestens 10 unabhängigen Konzentrationen c_i gemäß der Formel

10

$$c_i = 1/(M_p * K) * [1/P(\theta_l) - 1/P(\theta_m)] / [1/R(\theta_l) - 1/R(\theta_m)]$$

wobei

M_p : Molekulargewicht der Partikel;

K: auf Material und Konzentration bezogener Kontrastfaktor zur Charakterisierung des Streuvermögens der Partikel;

15

$P(\theta_l), P(\theta_m)$: Formfaktoren für Streusignale eines beliebigen Paares aus den fünf Streuintensitäten;

$R(\theta_l), R(\theta_m)$: von Material und Partikelgröße abhängige Rayleigh-Verhältnisse eines beliebigen Paares aus den fünf Streuintensitäten; und

20

- d) Berechnen des Mittelwerts der mindestens 10 unabhängigen Konzentrationen c_i und Berechnen der Standardabweichung.

6. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Paar des mindestens einen ersten und mindestens einen zweiten Detektors und/oder das Paar des mindestens einen dritten und mindestens einen vierten Detektors symmetrisch zu der 90°-Achse angeordnet werden oder sind.

25

7. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Detektoren jeweils eine Eingangsfläche oder Eingangsöffnung enthalten, die zumindest bereichsweise an einer Durchflusszellenoberfläche angeordnet ist oder angrenzt oder zumindest bereichsweise mit dieser identisch ist, wobei die Eingangsfläche oder Eingangsöffnung ein für die elektromagnetische Strahlung trans-

30

- parenter flacher Hohlraum, optional ein Luftraum, oder eine für elektromagnetische Strahlung transparente Fensterfläche ist, und bevorzugt einen Brechungsindex aufweist, der im Wesentlichen ähnlich zum Brechungsindex der Durchflusszellenoberfläche ist, besonders bevorzugt einen Brechungsindex, der vom Brechungsindex der Durchflusszellenoberfläche um $\leq 0,1$, bevorzugt $\leq 0,05$, abweicht.
- 5
8. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Durchflusszelle
- 10
- a) ein Volumen von 1 bis 450 μl , bevorzugt 2 bis 300 μl , besonders bevorzugt 5 bis 240 μl , insbesondere 10 bis 180 μl , aufweist;
- b) im Querschnitt, also senkrecht zur Durchflussrichtung der Suspension, kreisförmig, rechteckig oder Polygon-förmig ausgestaltet ist und die Durchflusszelle bevorzugt entlang der Bewegungsrichtung in Form eines geraden Kreiszylinders ausgestaltet ist;
- 15
- c) Glas und/oder ein Polymer enthält oder daraus besteht; und/oder
- d) auf einer Berührungsoberfläche mit der Suspension einen Brechungsindex aufweist, der im Wesentlichen dem Brechungsindex der Suspension entspricht, bevorzugt einen Brechungsindex, der vom Brechungsindex der Suspension um $\leq 0,1$, bevorzugt $\leq 0,05$,
- 20
- abweicht.
9. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Suspension mit einer Durchflussrate von 0,02 bis 2 mL/min, bevorzugt 0,04 bis 1 mL/min, besonders bevorzugt 0,1 bis 0,5 mL/min, insbesondere 0,2 bis 0,3 mL/min durch die Durchflusszelle bewegt wird, bevorzugt in einem laminaren Strömungsprofil.
- 25
10. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Detektoren vor der Detektion der Streuintensität kalibriert werden, wobei bevorzugt durch die Kalibration die Abweichung der tatsächlichen Position der Detektoren von der Idealposition der Detektoren ausgeglichen wird.
- 30

11. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass ein Strahlungsweg vom Streuungspunkt zu einem Detektor gegenüber einem Strahlungsweg vom Streuungspunkt zu einem benachbarten Detektor optisch isoliert ist, bevorzugt durch eine für die elektromagnetische Strahlung intransparente Abschirmung entlang des Strahlungswegs, wobei die Abschirmung besonders bevorzugt eine Antireflex-Oberflächenbeschaffenheit aufweist, insbesondere eine Antireflex-Oberfläche, die ein schwarzes Gel oder einen schwarzen Tafellack enthält oder daraus besteht.
12. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass folgende Schritte durchgeführt werden:
- a) Bewegen der Suspension mit den Partikeln durch die Durchflusszelle;
 - b) Detektion der Streuintensitäten der elektromagnetischen Strahlung der Suspension in der Durchflusszelle;
 - c) Bewegen von Luft oder einem anderen geeigneten Trennmedium durch die Durchflusszelle zur räumlichen Trennung der Suspension und der Referenzlösung;
 - d) Bewegen einer Referenzlösung, die aus der Suspension ohne Partikel besteht, durch die Durchflusszelle;
 - e) Detektion der Streuintensitäten der elektromagnetischen Strahlung der Referenzlösung in der Durchflusszelle; und
 - f) Abzug der für die Referenzlösung gemessenen Streuintensität von der für die Suspension ermittelten Streuintensität;
- wobei bevorzugt die Schritte a) bis f) mehrmals wiederholt werden.
13. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den Detektoren um Si-Detektoren und/oder CCD-Sensoren handelt, bevorzugt Si-Detektoren, Avalanche-Photodioden und/oder Avalanche-Photodiodenarrays mit oder ohne nachgeschalteten Impedanzverstärker.

14. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die detektierte Streuintensität mit einem elektronischen Datenfilter, bevorzugt einem Histogrammfilter, korrigiert wird, der die Streuintensität besonders bevorzugt in Bezug auf Signale von Partikeln einer Größe von > 100 nm korrigiert, insbesondere durch Subtraktion dieser Signale.
15. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die elektromagnetische Strahlung
- a) eine Wellenlänge im Bereich von 250 nm bis 800 nm, bevorzugt 320 nm bis 500 nm, besonders bevorzugt 360 nm bis 450 nm, insbesondere 380 nm bis 420 nm, aufweist; und/oder
 - b) monochromatisch ist;
 - c) parallel oder senkrecht zur Bewegungsgeraden linear polarisiert ist; und/oder
 - d) über eine Laserlichtquelle, bevorzugt eine Laserdiode, erzeugt wird.
16. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass in einem Schritt vor Schritt a) eine Suspension enthaltend eine Flüssigkeit und Partikel einer Größe von ≤ 1 μ m, bevorzugt ≤ 500 nm, besonders bevorzugt ≤ 200 nm, optional ≤ 100 nm, und Partikel einer Größe von > 1 μ m, bevorzugt > 500 nm, besonders bevorzugt > 200 nm, optional > 100 nm, durch eine Membran filtriert wird, wobei die Partikel einer Größe von > 1 μ m, bevorzugt > 500 nm, besonders bevorzugt > 200 nm, optional > 100 nm, von der Suspension abgetrennt werden.
17. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Strahlungsquelle
- i) entlang der Bestrahlungsgerade angeordnet wird oder ist; oder
 - ii) die Bestrahlungsquelle in einem Winkel zur Bestrahlungsgeraden angeordnet wird oder ist und die elektromagnetischen Strahlung

über mindestens einen Spiegel auf die Bestrahlungsgerade abgelenkt wird.

18. Vorrichtung zur Bestimmung des mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ von Partikeln mit einer Größe von $\leq 1 \mu\text{m}$, bevorzugt $\leq 500 \text{ nm}$, besonders bevorzugt $\leq 200 \text{ nm}$, in einer Suspension, enthaltend

- a) eine Durchflusszelle, optional mit einer Pumpvorrichtung zur Bewegung einer Suspension enthaltend Partikel einer Größe von $\leq 1 \mu\text{m}$, bevorzugt $\leq 500 \text{ nm}$, besonders bevorzugt $\leq 200 \text{ nm}$, mit einer bestimmten Flussgeschwindigkeit entlang einer Bewegungsgeraden;
- b) eine Strahlungsquelle zur Bestrahlung der Suspension in der Durchflusszelle mit linear polarisierter elektromagnetischer Strahlung einer Wellenlänge von $\leq 800 \text{ nm}$ entlang einer Bestrahlungsgeraden, wobei die Bestrahlungsgerade die Bewegungsgerade in einem Streuungspunkt schneidet;
- c) mindestens einen ersten und zweiten Detektor zur Detektion von mindestens zwei ersten Streuintensitäten der elektromagnetischen Strahlung, wobei der mindestens eine erste Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem ersten Winkel θ_1 und der mindestens eine zweite Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem zweiten Winkel $180^\circ - \theta_1$ angeordnet ist;
- d) mindestens einen dritten und vierten Detektor zur Detektion von mindestens zwei weiteren Streuintensitäten der elektromagnetischen Strahlung, wobei der mindestens eine dritte Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem dritten Winkel θ_2 und der mindestens eine vierte Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem vierten Winkel $180^\circ - \theta_2$ angeordnet ist; und
- e) eine Recheneinheit, die dazu konfiguriert ist, mindestens die am ersten, zweiten, dritten und vierten Detektor detektierten Streuintensitäten einer Referenzlösung ohne Partikel von den jeweils dort detektierten Streuintensitäten einer Suspension enthaltend Parti-

kel abzuziehen und aus den mindestens vier Differenzen den mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ der Partikel zu berechnen,

dadurch gekennzeichnet, dass der mindestens eine erste, zweite, dritte und vierte Detektor in einer Ebene angeordnet sind, die parallel zur Bestrahlungsgeraden und senkrecht zur Bewegungsgeraden ist, wobei alternativ an der Position von mindestens einem der Detektoren mindestens ein Spiegel zur Ablenkung der elektromagnetischen Strahlung zu dem mindestens einen Detektor angeordnet ist.

19. Vorrichtung gemäß Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass der erste Winkel θ_1 von 45° bis 55° , bevorzugt 50° , zur Strahlrichtung beträgt und/oder $\theta_1 \pm 4^\circ \leq \theta_2 \leq \theta_1 \pm 20^\circ$ gilt.

20. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 18 oder 19, dadurch gekennzeichnet, dass die Anzahl der Detektionswinkeln zwischen 40° und 90° zur Strahlrichtung ≥ 2 ist.

21. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 18 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass die Recheneinheit darauf eingestellt ist, den mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ der Partikel über folgende Schritte zu ermitteln:

a) Berechnen eines Werts Z_1 aus den beiden ersten Streuintensitäten gemäß der Formel

$$Z_1 = \frac{I_{\theta_1}}{I_{180^\circ - \theta_1}} = \frac{P_{\theta_1}}{P_{180^\circ - \theta_1}} \left[1 - \frac{2A_2 M_p c_P Y}{(1 + 2A_2 M_p c_P P(q)_\theta)} (P_{\theta_1} - P_{180^\circ - \theta_1}) \right]$$

wobei

I_{θ_1} : Streuintensität beim ersten Winkel θ_1 ;

$I_{180^\circ - \theta_1}$: Streuintensität beim zweiten Winkel $180^\circ - \theta_1$;

$P(\theta_1)/P(180^\circ - \theta_1)$: Quotient der Formfaktoren, der sich aus Form und Größe der Partikel;

M_p : gemittelte Molekularmasse der NP;

c_P : Konzentration,

A_2 : zweite Virialkoeffizient ergibt; und

- b) Berechnen eines Werts Z_2 aus den beiden weiteren Streuintensitäten gemäß der Formel

$$Z_2 = \frac{I_{\theta_2}}{I_{180^\circ-\theta_2}} = \frac{P_{\theta_2}}{P_{180^\circ-\theta_2}} \left[1 - \frac{2A_2 M_p c_P Y}{(1+2A_2 M_p c_P P(q)_\theta)} (P_{\theta_2} - P_{180^\circ-\theta_2}) \right]$$

5

wobei

I_{θ_2} : Streuintensität beim dritten Winkel θ_2 ;

$I_{180^\circ-\theta_2}$: Streuintensität beim vierten Winkel $180^\circ-\theta_2$;

$P(\theta_2)/P(180^\circ-\theta_2)$: Quotient der Formfaktoren, der sich aus Form und Größe der Partikel ergibt;

10

M_p : gemittelte Molekularmasse der NP;

c_P : Konzentration,

A_2 : zweiter Virialkoeffizient; und

- c) Numerische Bestimmung des mittleren Trägheitsradius $\langle r_g \rangle$ anhand einer für eine konkrete Art der Partikel gemäß der folgenden Formel berechnete Kalibrationskurve:

15

$$F(\langle r_g \rangle) = 0,5 \cdot [Z_1 - Z_2 + (Z_1/Z_2 - 1)].$$

22. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 18 bis 21, dadurch gekennzeichnet, dass die Recheneinheit darauf eingestellt ist, die Konzentration der Partikel in der Suspension zu bestimmen, wobei die Bestimmung der Konzentration folgende Schritte umfasst:

20

- a) Detektion von zwei weiteren Streuintensitäten der elektromagnetischen Strahlung über einen fünften und sechsten Detektor, wobei der fünfte Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem fünften Winkel von 90° und der sechste Detektor zur Bestrahlungsgeraden in einem sechsten Winkel von 180° angeordnet ist;

25

- b) Berechnung von $R(\theta_l), R(\theta_m)$: von Material und Partikelgröße abhängige Rayleigh-Verhältnisse eines beliebigen Paares aus den fünf Streuintensitäten I_l, I_m bei der Einstrahlungsintensität I_0

wobei

30

$$R(\theta_i) = \frac{I_{\theta_i}}{I_0} \frac{r^2}{V \cos \theta_i} : \text{Rayleigh-Verhältniss unter dem Winkel } \theta_i;$$

V : Streuvolumen und

r^2 : Quadrat des Abstands zwischen dem Zentrum des Streuvolumens und dem entsprechenden Detektor;

- 5 c) Paarweise Kombination der mindestens beim ersten, zweiten, dritten, vierten und fünften Winkel detektierten Streuintensitäten untereinander und Berechnen von mindestens 10 unabhängigen Konzentrationen c_i gemäß der Formel

$$c_i = 1/(M_p * K) * [1/P(\theta_l) - 1/P(\theta_m)] / [1/R(\theta_l) - 1/R(\theta_m)]$$

wobei

10 M_p : Molekulargewicht der Partikel;

K: auf Material und Konzentration bezogener Kontrastfaktor zur Charakterisierung des Streuvermögens der Partikel;

$P(\theta_l), P(\theta_m)$: Formfaktoren für Streusignale eines beliebigen Paares aus den fünf Streuintensitäten;

15 $R(\theta_l), R(\theta_m)$: von Material und Partikelgröße abhängige Rayleigh-Verhältnisse eines beliebigen Paares aus den fünf Streuintensitäten; und

- d) Berechnen des Mittelwerts der mindestens 10 unabhängigen Konzentrationen c_i und Berechnen der Standardabweichung.

20 23. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 18 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass das Paar aus mindestens einem ersten und mindestens einem zweiten Detektor und/oder das Paar aus mindestens einem dritten und mindestens einem vierten Detektor symmetrisch zu der 90°-Achse angeordnet ist.

25 24. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 18 bis 23, dadurch gekennzeichnet, dass die Detektoren jeweils eine Eingangsfläche oder Eingangsöffnung enthalten, die zumindest bereichsweise an einer Durchflusszellenoberfläche angeordnet ist oder angrenzt oder zumindest bereichsweise mit dieser identisch ist, wobei die Eingangsfläche oder Eingangsöffnung ein für die elektromagnetische Strahlung transparenter flacher Hohlraum, optional ein Luftraum, oder eine für elektromagnetische Strahlung transparente Fensterfläche ist und bevorzugt einen Brechungsindex aufweist, der im Wesentlichen ähnlich zum Bre-

30

chungsindex der Durchflusszellenoberfläche ist, besonders bevorzugt einen Brechungsindex, der vom Brechungsindex der Durchflusszellenoberfläche um $\leq 0,1$, bevorzugt $\leq 0,05$, abweicht.

- 5 25. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 18 bis 24, dadurch gekennzeichnet, dass die Durchflusszelle
- 10 a) ein Volumen von 1 bis 450 μm , bevorzugt 2 bis 300 μm , besonders bevorzugt 5 bis 240 μl , insbesondere 10 bis 180 μl , aufweist;
- b) im Querschnitt, also senkrecht zur Durchflussrichtung der Suspension, kreisförmig, rechteckig oder Polygon-förmig ausgestaltet ist und die Durchflusszelle bevorzugt entlang der Bewegungsrichtung in Form eines geraden Kreiszylinders ausgestaltet ist;
- 15 c) Glas und/oder ein Polymer enthält oder daraus besteht; und/oder
- d) auf einer Berührungsoberfläche mit der Suspension einen Brechungsindex aufweist, der im Wesentlichen dem Brechungsindex der Suspension entspricht, bevorzugt einen Brechungsindex, der vom Brechungsindex der Suspension um $\leq 0,1$, bevorzugt $\leq 0,05$, abweicht.
- 20 26. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 18 bis 25, dadurch gekennzeichnet, dass die Antriebsvorrichtung dazu geeignet ist, die Suspension mit einer Durchflussrate von 0,02 bis 2 mL/min, bevorzugt 0,04 bis 1 mL/min, besonders bevorzugt 0,1 bis 0,5 mL/min, insbesondere 0,2 bis 0,3 mL/min, durch die Durchflusszelle zu bewegen, bevorzugt in einem laminaren Strömungsprofil.
- 25 27. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 18 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass die Recheneinheit dazu geeignet ist, die Detektoren vor der Detektion der Streuintensität zu kalibrieren, wobei bevorzugt durch die Kalibration die Abweichung der tatsächlichen Position der Detektoren von der Idealposition der Detektoren ausgeglichen wird.
- 30 28. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 18 bis 27, dadurch gekennzeichnet, dass ein Strahlungsweg vom Streuungspunkt zu einem Detek-

tor gegenüber einem Strahlungsweg vom Streuungspunkt zu einem benachbarten Detektor optisch isoliert ist, bevorzugt durch eine für die elektromagnetische Strahlung intransparente Abschirmung entlang des Strahlungswegs, wobei die Abschirmung besonders bevorzugt eine Antireflex-Oberfläche aufweist, insbesondere eine Antireflex-Oberfläche, die ein schwarzes Gel oder einen schwarzen Tafellack enthält oder daraus besteht.

29. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 18 bis 28, dadurch gekennzeichnet, dass folgende Schritte durchgeführt werden:

- a) Bewegen der Suspension durch die Durchflusszelle;
- b) Detektion der Streuintensitäten der elektromagnetischen Strahlung der Suspension in der Durchflusszelle;
- c) Bewegen von Luft oder einem anderen geeigneten Trennmedium durch die Durchflusszelle zur räumlichen Trennung der Suspension und der Referenzlösung;
- d) Bewegen einer Referenzlösung, die aus der Suspension ohne Partikel besteht, durch die Durchflusszelle;
- e) Detektion der Streuintensitäten der elektromagnetischen Strahlung der Referenzlösung in der Durchflusszelle; und
- f) Abzug der für die Referenzlösung gemessenen Streuintensität von der für die Suspension ermittelten Streuintensität;

wobei bevorzugt die Schritte a) bis f), mehrmals wiederholt werden.

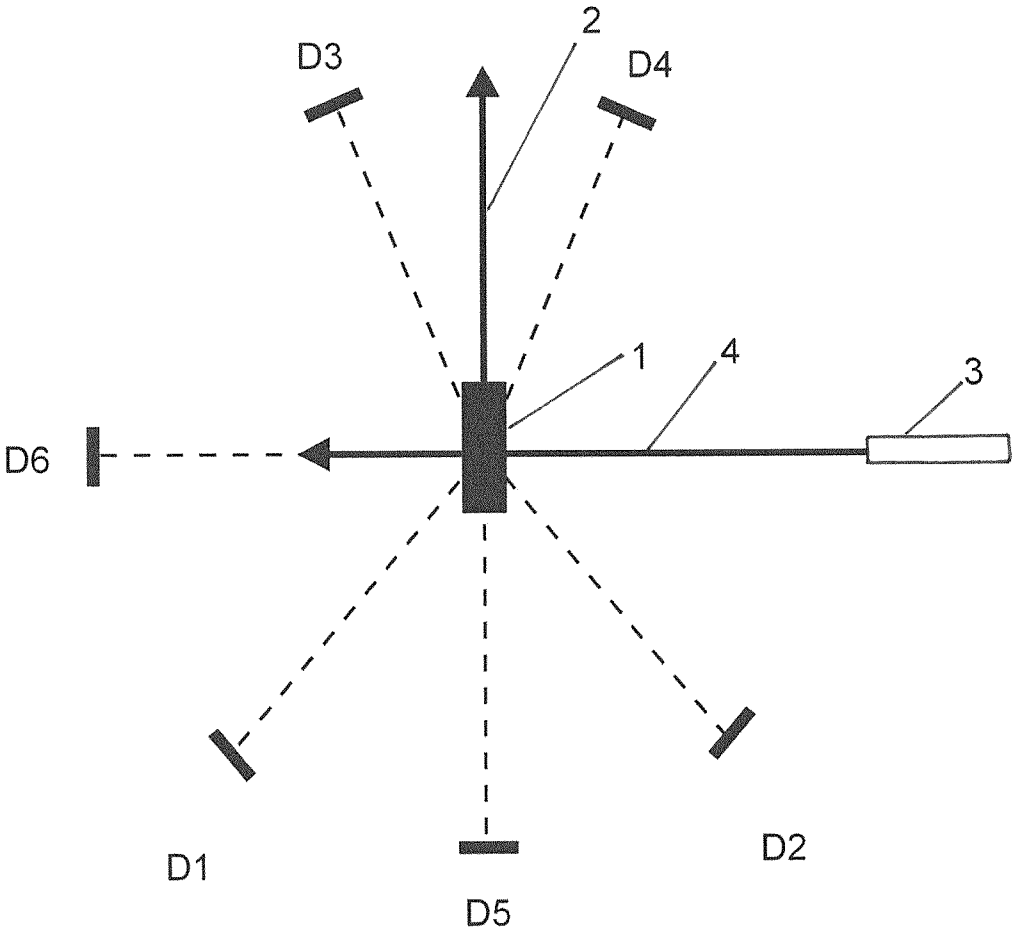
30. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 18 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den Detektoren um Si-Detektoren und/oder CCD-Sensoren handelt, bevorzugt Si-Detektoren, Avalanche-Photodioden und/oder Avalanche-Photodiodenarrays mit oder ohne nachgeschalteten Impedanzverstärker.

31. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 18 bis 30, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung dazu geeignet ist, die detektierte Streuintensität mit einem elektronischen Datenfilter zu korrigieren, bevor-

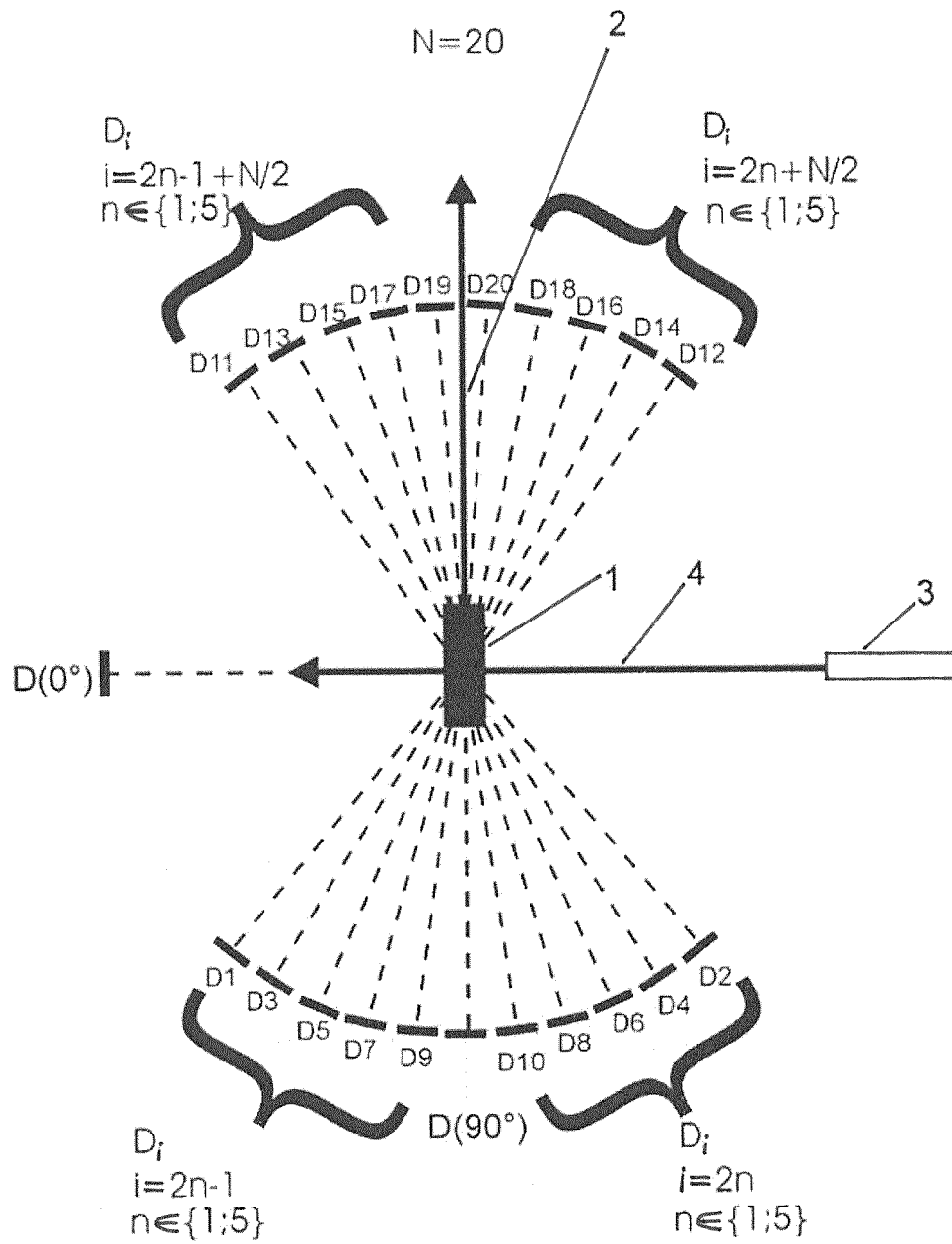
zugt einem Histogrammfilter, der die Streuintensität besonders bevorzugt in Bezug auf Signale von Partikeln einer Größe von > 100 nm korrigiert, insbesondere durch Subtraktion dieser Signale.

- 5 32. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 18 bis 31, dadurch gekennzeichnet, dass die Strahlungsquelle
- a) dazu geeignet ist, eine Wellenlänge im Bereich von 250 nm bis 800 nm, bevorzugt 320 nm bis 500 nm, besonders bevorzugt 360 nm bis 450 nm, insbesondere 380 nm bis 420 nm, zu emittieren und/oder
- 10 b) dazu geeignet ist, monochromatische elektromagnetische Strahlung zu emittieren;
- c) dazu geeignet ist, parallel oder senkrecht zur Bewegungsgeraden linear polarisiertes Licht zu emittieren; und/oder
- 15 d) eine Laserlichtquelle, bevorzugt eine Laserdiode, enthält oder daraus besteht.
- 20 33. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 18 bis 32, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung eine Membran enthält zur Abtrennung von Partikeln einer Größe von $> 1 \mu\text{m}$, bevorzugt > 500 nm, besonders bevorzugt > 200 nm, optional > 100 nm, von einer Suspension enthaltend eine Flüssigkeit und Partikel einer Größe von $\leq 1 \mu\text{m}$, bevorzugt ≤ 500 nm, besonders bevorzugt ≤ 200 nm, optional ≤ 100 nm, und Partikel einer Größe von $> 1 \mu\text{m}$, bevorzugt > 500 nm, besonders bevorzugt > 200 nm, optional > 100 nm.
- 25 34. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 18 bis 33, dadurch gekennzeichnet, dass die Strahlungsquelle
- i) entlang der Bestrahlungsgerade angeordnet ist; oder
- 30 ii) in einem Winkel zur Bestrahlungsgeraden angeordnet ist und die Anordnung mindestens einen Spiegel enthält, der so angeordnet ist, dass er die elektromagnetische Strahlung der Strahlungsquelle auf die Bestrahlungsgerade ablenkt.

Figur 1



Figur 2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2016/071985

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. G01N15/02

ADD. G01N15/00 G01N15/06 G01N15/10 G01N21/47 G01N21/53

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	THIERKING H ET AL: "ON-LINE COUPLING OF FLOW FIELD-FLOW FRACTIONATION AND MULTIANGLE LASER LIGHT SCATTERING FOR THE CHARACTERIZATION OF POLYSTYRENE PARTICLES", ANALYTICAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, vol. 67, no. 18, 15 September 1995 (1995-09-15), pages 3229-3233, XP000532344, ISSN: 0003-2700, DOI: 10.1021/AC00114A020	1,7-18, 24-34
Y	page 3229, column 1, paragraph 1 figures 1,2 page 3231, column 1, paragraphs 3,5-6 Experimental Section; page 3230, column 2 ----- -/--	2,3,6, 19,20,23



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

1 December 2016

Date of mailing of the international search report

08/12/2016

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

Böhler, Robert

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2016/071985

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	TENG Y ET AL: "OPTICAL SIZING OF AGGREGATED COMBUSTION PARTICLES: COMPUTATIONAL DEVELOPMENT OF A TWO-ANGLE LASER SCATTERING TECHNIQUE", APPLIED OPTICS, OPTICAL SOCIETY OF AMERICA, WASHINGTON, DC; US, vol. 45, no. 18, 20 June 2006 (2006-06-20), pages 4396-4403, XP001243221, ISSN: 0003-6935, DOI: 10.1364/AO.45.004396 C. Dissymmetry Ratio; page 4400	2,3,6, 19,20,23
A	----- WO 2007/074038 A1 (INST MIKROTECHNIK MAINZ GMBH [DE]; DRESE KLAUS-STEFAN [DE]; NAHRSTEDT) 5 July 2007 (2007-07-05) cited in the application page 7	1,7-9, 11, 24-26,28
A	----- EP 0 102 726 A1 (WYATT TECHNOLOGY [US]) 14 March 1984 (1984-03-14) pages 12-14	1-3, 6-20, 23-34
A	----- EP 1 176 414 A2 (BASF AG [DE]) 30 January 2002 (2002-01-30) paragraph [0015] -----	1-3, 6-20, 23-34

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2016/071985

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: 4, 5, 21, 22
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

see the supplemental sheet

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Continuation of Box II.2

Claims: 4, 5, 21, 22

It is not clear how a radius of gyration and a concentration can be calculated from claims 4 and 5.

Claim 4 defines two dissymmetry relations which are calculated in a function $F(\langle rg \rangle)$, but it is not explained in detail how a radius of gyration rg is determined. The description merely repeats the wording of the claim, and no further indications are given even in the example provided in the description.

The equation for calculating the relations includes a variable "Y", which is not defined. Even with expert knowledge this variable cannot be clearly determined because it is not stated where the equations are derived from.

It is not clear what the form factors are or what assumptions have been made for them and for the derivation of the other equations.

The function $F(\langle rg \rangle)$ covers only the dissymmetry relations that represent a real number in a measurement, and therefore it is not clear what the function of rg depends on or how rg can be calculated from it if the previous equations for the dissymmetry relations " $Z_{1/2}$ " are used.

The example calculation given mentions a calculation based on "the mean of the two measured Z_s " for the particle size. It is not clear how this is related to the function $F(\langle rg \rangle)$.

In claim 5 a concentration is calculated on the basis of the form factors, which also depend (as is known) on the radius of gyration rg . It is not clear how a concentration can be calculated without determining the radius in this context.

The applicant is advised that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established cannot normally be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subject matter that has not been searched. This also applies in cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II. However, after entry into the regional phase before the EPO, an additional search may be carried out in the course of the examination (cf. EPO Guidelines, C-IV, 7.2) if the defects that led to the declaration under PCT Article 17(2) have been corrected.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2016/071985

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007074038	A1	05-07-2007	DE 102005062174 B3	31-05-2007
			EP 1963821 A1	03-09-2008
			US 2009161108 A1	25-06-2009
			WO 2007074038 A1	05-07-2007

EP 0102726	A1	14-03-1984	DE 3377013 D1	14-07-1988
			EP 0102726 A1	14-03-1984
			US 4541719 A	17-09-1985

EP 1176414	A2	30-01-2002	AT 310946 T	15-12-2005
			DE 10036860 A1	07-02-2002
			DE 50108140 D1	29-12-2005
			EP 1176414 A2	30-01-2002
			NO 20013718 A	29-01-2002
			US 2002018204 A1	14-02-2002

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES INV. G01N15/02 ADD. G01N15/00 G01N15/06 G01N15/10 G01N21/47 G01N21/53		
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	THIERKING H ET AL: "ON-LINE COUPLING OF FLOW FIELD-FLOW FRACTIONATION AND MULTIANGLE LASER LIGHT SCATTERING FOR THE CHARACTERIZATION OF POLYSTYRENE PARTICLES", ANALYTICAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, Bd. 67, Nr. 18, 15. September 1995 (1995-09-15), Seiten 3229-3233, XP000532344, ISSN: 0003-2700, DOI: 10.1021/AC00114A020	1,7-18, 24-34
Y	Seite 3229, Spalte 1, Absatz 1 Abbildungen 1,2 Seite 3231, Spalte 1, Absätze 3,5-6 Experimental Section; Seite 3230, Spalte 2 ----- -/-	2,3,6, 19,20,23
☒ 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		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
1. Dezember 2016		08/12/2016
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 Böhler, Robert

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	TENG Y ET AL: "OPTICAL SIZING OF AGGREGATED COMBUSTION PARTICLES: COMPUTATIONAL DEVELOPMENT OF A TWO-ANGLE LASER SCATTERING TECHNIQUE", APPLIED OPTICS, OPTICAL SOCIETY OF AMERICA, WASHINGTON, DC; US, Bd. 45, Nr. 18, 20. Juni 2006 (2006-06-20), Seiten 4396-4403, XP001243221, ISSN: 0003-6935, DOI: 10.1364/AO.45.004396 C. Dissymmetry Ratio; Seite 4400	2,3,6, 19,20,23
A	----- WO 2007/074038 A1 (INST MIKROTECHNIK MAINZ GMBH [DE]; DRESE KLAUS-STEFAN [DE]; NAHRSTEDT) 5. Juli 2007 (2007-07-05) in der Anmeldung erwähnt Seite 7	1,7-9, 11, 24-26,28
A	----- EP 0 102 726 A1 (WYATT TECHNOLOGY [US]) 14. März 1984 (1984-03-14) Seiten 12-14	1-3, 6-20, 23-34
A	----- EP 1 176 414 A2 (BASF AG [DE]) 30. Januar 2002 (2002-01-30) Absatz [0015] -----	1-3, 6-20, 23-34

Feld Nr. II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein internationaler Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche diese Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
2. ☒ Ansprüche Nr. 4, 5, 21, 22
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, dass eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
siehe BEIBLATT PCT/ISA/210
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefasst sind.

Feld Nr. III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Diese Internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, dass diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung solcher Gebühren aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Dieser internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfasst:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Der Anmelder hat die zusätzlichen Recherchegebühren unter Widerspruch entrichtet und die gegebenenfalls erforderliche Widerspruchsgebühr gezahlt.
- ☐ Die zusätzlichen Recherchegebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt, jedoch wurde die entsprechende Widerspruchsgebühr nicht innerhalb der in der Aufforderung angegebenen Frist entrichtet.
- ☐ Die Zahlung der zusätzlichen Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld II.2

Ansprüche Nr.: 4, 5, 21, 22

Es ist nicht klar, wie aus Ansprüchen 4 und 5 ein Trägheitsradius bzw. eine Konzentration berechnet werden kann.

Anspruch 4 definiert 2

Dissymmetrie-Verhältnisse, die in einer Funktion $F(<r\ g\ >)$ verrechnet werden. Es wird jedoch nicht beschrieben wie ein Trägheitsradius rg im Detail bestimmt wird. Die Beschreibung wiederholt hierbei nur den Text des Anspruchs. Auch das angeführte Beispiel in der Beschreibung gibt dabei keine weiteren Hinweise.

In der Gleichung zur Berechnung der Verhältnisse ist eine Variable "Y" gegeben, die nicht weiter definiert wird. Auch mit fachkundigen Kenntnissen ist eine klare Bestimmung dieser Variable nicht möglich, da keine Herleitung der Gleichungen für die Verhältnisse gegeben ist.

Es ist nicht klar wie die Formfaktoren aussehen und welche Annahmen für diese und die Herleitung der weiteren Gleichung gemacht wurden.

Die Funktion $F(<r\ g\ >)$ umfasst nur die Dissymmetrie-Verhältnisse, welche in einer Messung eine reelle Zahl darstellt, wodurch es nicht klar erscheint, wie die Funktion von rg abhängig ist und wie im Umkehrschluss rg berechnet werden kann, falls die vorhergehenden Gleichungen für die Dissymmetrie-Verhältnisse " $Z_{1/2}$ " eingesetzt würden.

In der angeführten Beispielrechnung wird eine Berechnung aus "dem Mittelwert der beiden gemessenen Z" für die Partikelgröße erwähnt. Es ist nicht ersichtlich wie diese mit der Funktion $F(<r\ g\ >)$ im Zusammenhang steht.

In Anspruch 5 wird eine Konzentration in Abhängigkeit der Formfaktoren berechnet, welche bekannterweise auch von dem Trägheitsradius rg abhängen. Es ist nicht ersichtlich wie, ohne eine Bestimmung dieses Radius in diesem Zusammenhang, eine Konzentration berechnet werden kann.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, dass Patentansprüche auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, dass die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, dass der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäss Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt. Nach Eintritt in die regionale Phase vor dem EPA kann jedoch im Zuge der Prüfung eine weitere Recherche durchgeführt werden (Vgl. EPA-Richtlinien C-IV, 7.2), sollten die Mängel behoben sein, die zu der Erklärung gemäss Art. 17 (2) PCT geführt haben.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2016/071985

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 2007074038 A1	05-07-2007	DE 102005062174 B3	31-05-2007
		EP 1963821 A1	03-09-2008
		US 2009161108 A1	25-06-2009
		WO 2007074038 A1	05-07-2007

EP 0102726 A1	14-03-1984	DE 3377013 D1	14-07-1988
		EP 0102726 A1	14-03-1984
		US 4541719 A	17-09-1985

EP 1176414 A2	30-01-2002	AT 310946 T	15-12-2005
		DE 10036860 A1	07-02-2002
		DE 50108140 D1	29-12-2005
		EP 1176414 A2	30-01-2002
		NO 20013718 A	29-01-2002
		US 2002018204 A1	14-02-2002
