

Chemo- und Biosensoren – Grundlagen und Anwendungen

Von Karl Cammann*, Udo Lemke, Anja Rohen, Jürgen Sander, Hildegard Wilken und Babette Winter

Chemie- und Umwelttechnik sowie Biotechnologie sind wie auch andere Fachgebiete durch eine ständige Zunahme des Automatisierungsgrades geprägt. Ist bei anderen Industriezweigen die einfache Rationalisierung der Grund, so sind es hier eher systemtheoretische Überlegungen oder Sicherheitsaspekte, die einen hohen Automatisierungsgrad verlangen. Entweder sind die Prozeßabläufe zu komplex und verlangen nach einer multifunktionellen Kontrolle mit rückgekoppelter Regelung, oder sicherheitsanalytische Überlegungen fordern eine gewisse Sicherheitsredundanz und den Ausschluß des Risikofaktors „menschliches Versagen“. In Zusammenhang mit Fragen der Qualitätssicherung lassen sich augenfällige Kosten/Nutzen-Analysen anstellen, die zur Vermeidung von Ausschußproduktion ebenfalls einen hohen und vor allem ausfallsicheren Automatisierungsgrad verlangen. Kernstück jeglicher Automatisierungstechnik ist die Meß- und Regeltechnik; dabei ist die schnelle, zuverlässige, manchmal auch kontinuierliche Messung und Erfassung bestimmter relevanter Prozeß- oder Regelgrößen von zentraler Bedeutung. Dazu dienen die verschiedensten Meßwertaufnehmer oder auch Sensoren, die ein möglichst unverfälschtes Bild vom Zustand des Systems liefern sollen. Es liegt auf der Hand, daß die Qualität der Regelung entscheidend von den Sensoren abhängt. Falsche Meßgrößen können sich bei der Regelgröße verstärken oder bei dynamischen Systemen zu unerwünschten Betriebszuständen führen. Gerade auch wegen der gewaltigen Fortschritte auf dem Gebiet der Mikroelektronik zählen die „intelligenten“ Sensoren, die sich selbst kalibrieren und kontrollieren, zu den Schlüsseltechnologien der neunziger Jahre. Ohne eine schnelle und direkte Information über den „Ist-Status“ sind regelnde Mikroprozessoren blind und anfällig gegenüber Eingabefehlern. Neue Erkenntnisse auf den Gebieten der elektronischen/elektrochemischen und optischen Transducer, der heterogenen Katalyse, supramolekularen Chemie und Oberflächenphysik sowie der Biochemie (Enzymologie und Immunologie) haben zu neuen Chemosensor-Prinzipien geführt. Erste Modelle sind derzeit in Erprobung, sie könnten vor allem die instrumentelle Molekülanalytik wegen des sehr günstigen Preis/Leistungsverhältnisses revolutionieren. Der vorliegende Beitrag versucht, einen aktuellen Überblick über den derzeitigen Stand der Technik zu geben. Gewichtet wurde nach der Bedeutung für die Analytik, nach dem Interesse des Chemikers an stofferkennenden Mechanismen und nach Entwicklungsrichtungen, die ein kritischer Analytiker als lohnenswerte Ziele betrachtet.

1. Einleitung^{1**}

1.1. Definitionen

Unter analytisch einsetzbaren Chemosensoren versteht man nach einem vorläufigen Nomenklaturvorschlag der zuständigen IUPAC-Kommission^[1] miniaturisierte Meßwertfühler, die chemische Verbindungen oder Ionen selektiv und reversibel erfassen und dabei konzentrationsabhängige elektrische Signale liefern. Streng genommen liegt nur dann ein echter Sensor vor, wenn Konzentrationsänderungen in beiden Richtungen erfaßt werden können. Diese Voraussetzungen erfüllen Prüfröhrchen und Teststreifen im allgemeinen nicht. Sie können auch kein kontinuierliches, konzentrationsproportionales Meßsignal liefern und werden nach einem weiteren vorläufigen IUPAC-Diskussionspapier^[2] bes-

ser als Dosimeter bezeichnet. Gleicherweise herrscht in den zuständigen IUPAC-Gremien Einigkeit darüber, daß ein instrumentell-analytisches Großgerät (z. B. Massenspektrometer) mit einer externen Meßsonde oder eine Fließinjektionsanalyse(FIA)-Anordnung nicht als Sensor aufgefaßt werden kann, wenn auch im Fall der integrierten Optik der Übergang zu einem echten Sensor fließend wird.

Laut dieser Nomenklaturvorschläge spricht man weiter von der Untergruppe Biosensoren, wenn bei Chemosensoren biologische Erkennungsmechanismen oder -prinzipien zur Stofferkennung angewendet werden. Einige aus natürlichen Systemen isolierte „Biomoleküle“ wie Enzyme, Antikörper oder Rezeptoren sind imstande, chemische Verbindungen mit hoher Spezifität zu erkennen und können zur Signallieferung herangezogen werden. Biosensoren sind weitaus selektiver als Chemosensoren. Sie wären die idealen Sensoren, wenn nicht Stabilitätsprobleme ihre Lebensdauer stark einschränken würden.

1.2. Historisches

Als um die Jahrhundertwende im Zusammenhang mit physiologischen Untersuchungen über die Eigenschaften dünnwandiger Membranen rein zufällig die pH-Sensitivität

[*] Prof. Dr. K. Cammann, Dipl.-Chem. U. Lemke, Dipl.-Chem. A. Rohen, Dipl.-Chem. J. Sander, Dipl.-Chem. H. Wilken, Dipl.-Chem. B. Winter
Lehrstuhl für Analytische Chemie/Institut für Chemo- und Biosensorik der Universität
Wilhelm-Klemm-Straße 8, D-4400 Münster

[**] Häufig verwendete Abkürzungen: ChemFET = Chemischer Feldeffekttransistor; ENFET = Enzymatisch modifizierter ionenselektiver Feldeffekttransistor; FET = Feldeffekttransistor; FIA = Fließinjektionsanalyse; ISE = Ionenselektive Elektrode; ISFET = Ionenselektiver Feldeffekttransistor; PZ = Piezoelektrischer Kristall; SAW = Surface Acoustic Wave.

bestimmter Glassorten entdeckt wurde^[3], war die Tragweite dieses Effektes für die Entwicklung von analytisch-chemisch einsetzbaren Sensoren noch nicht abzusehen. Mit geeignet konstruierten pH-Glasmembran-Elektroden war es in der Folgezeit erstmals möglich, die Wasserstoffionenkonzentrationen wässriger Lösungen mit hoher Selektivität und beachtlicher Genauigkeit zu bestimmen^[4], was zur Kontrolle der ersten Säure-Base-Theorien äußerst nützlich war. Aber erst 1935 vollzog sich durch die kommerzielle Verfügbarkeit erster Elektrometerverstärker für hochohmige Spannungsquellen (Gründung: Fa. Beckman Instruments von Prof. A. O. Beckman) ein größerer Wandel von den vorher verwendeten optischen pH-Indikatorverfahren zum vorteilhafteren potentiometrischen Meßverfahren, dessen theoretische Grundlagen *Nernst* schon 1889 mit der nach ihm benannten Gleichung erarbeitet hatte. Die elektrometrische pH-Wert-Messung^[5-7] wurde nicht zuletzt auch durch die weiteren Fortschritte der Meßtechnik inzwischen zur meistangewandten Analysentechnik überhaupt. Ein weiterer Durchbruch in der chemischen Sensortechnik gelang, als Calcium-, Fluorid-, Silber- und Sulfidionen-selektive Elektroden^[8, 9] sowie Kaliumionen-selektive Elektroden^[10, 11] entwickelt wurden, mit denen diese Ionen analog einer pH-Wert-Messung bestimmbar waren. Die bei der Entwicklung dieser ionenselektiven Elektroden (ISE) gewonnenen Erkenntnisse führten in den Folgejahren zur Entwicklung weiterer Elektroden für eine Vielzahl von Ionen^[12, 13], so daß heute ein Dutzend Kationen und Anionen direkt-potentiometrisch bestimmt werden können (vgl. hierzu Tabelle 1)^[14-16].

Im weiteren Verlauf waren Chemosensoren nicht nur auf die ionenselektive Potentiometrie und weitere elektrochemische Detektionsverfahren wie Polarographie, Voltammetrie oder Amperometrie beschränkt, die durch die Entwicklung der membranbedeckten O₂-Elektrode nach *Clark*^[17] besondere Bedeutung gewann; auf Halbleiterbasis arbeitende Systeme, z. B. mit SnO₂, das oxidierbare Gase anzeigen kann, wurden erstmals in den siebziger Jahren vorgestellt^[18]. Massensensitive Systeme auf der Basis von piezoelektrischen Kristallen (PZ, Schwingquarz-Systeme) und Surface-Acoustic-Wave(SAW)-Vorrichtungen wurden Mitte der sechziger Jahre als empfindliche Detektoren für Kohlenwasserstoffe in der Gaschromatographie eingeführt^[19]. Die ersten Arbeiten auf dem Gebiet der miniaturisierten faseroptischen Sensor-systeme (Optoden oder Optroden) erschienen 1975^[20, 21].

Enzymelektroden wurden erstmals 1962 beschrieben^[22]; hier wurde der enzymatische Abbau von Glucose selektivitätsgebend benutzt, um zu einer amperometrischen Elektro-

Tabelle 1. Ionenselektive Elektroden.

Elektrodenotyp	Gemessene Spezies
<i>Traditionelle Elektroden</i>	
Glas-Membran	H ⁺ , Na ⁺ , Ag ⁺ , Li ⁺ , Cs ⁺ , Rb ⁺ , NH ₄ ⁺ , K ⁺ , Ti ⁺
Flüssig-Membran	
Ionenaustrauscher	Cu ²⁺ , Cl ⁻ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , NO ₃ ⁻ , ClO ₄ ⁻ , UO ₂ ²⁺ organische Kationen und Anionen, einige Drogen
Neutrale Carrier	K ⁺ , Li ⁺ , H ⁺ , Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Na ⁺ , NH ₄ ⁺ , Sr ²⁺ , Ba ²⁺ , Cd ²⁺
Kristall-Membran	
Einkristall	F ⁻
Polykristall	S ²⁻ , Ag ⁺ , Hg ²⁺ , Cl ⁻ , Br ⁻
Mischkristall	Cl ⁻ , Br ⁻ , I ⁻ , CN ⁻ , SCN ⁻ , Cd ²⁺ , Pb ²⁺ , Cu ²⁺
Gas-Sensor auf ISE-Basis	CO ₂ , NH ₃ , H ₂ S, SO ₂ , HCN
<i>Nicht traditionelle Elektroden</i>	
ISFET	H ₂ , H ₂ S, H ⁺ , Li ⁺ , Na ⁺ , K ⁺ , NH ₄ ⁺ , Ca ²⁺ , Cl ⁻ , F ⁻
Coated wire	H ⁺ , Li ⁺ , Na ⁺ , K ⁺ , NH ₄ ⁺ , Ca ²⁺ , Fe ³⁺ , Cl ⁻ , Br ⁻ , I ⁻ , SCN ⁻ , SO ₄ ²⁻ , NO ₃ ⁻ , ClO ₄ ⁻ , organische Ionen, Aminosäuren, Drogen
Polymermatrix	Cu ²⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , Cs ⁺ , Li ⁺ , Na ⁺ , K ⁺ , NH ₄ ⁺ , Co ²⁺ , NO ₃ ⁻ , S ²⁻
Mikroelektroden	H ⁺ , K ⁺ , Na ⁺ , Li ⁺ , Ca ²⁺ , Mg ²⁺
Filmelektroden	H ⁺ , K ⁺ , Na ⁺ , Li ⁺ , Cl ⁻

denanordnung zu gelangen, mit der Glucose im physiologischen Bereich bestimbar war. Der Begriff Biosensor für enzymmodifizierte ionenselektive Elektroden taucht erstmals – im Sinne der aktuellen Definition – 1977 in der analytischen Literatur auf^[23]. Heute sind für eine Vielzahl von stark gefragten Substraten wie Glucose, Lactat, Harnstoff, Penicillin etc. Biosensoren kommerziell erhältlich.

1.3. Allgemeiner Aufbau von Chemo- und Biosensoren

Der prinzipielle Aufbau eines Chemo- oder Biosensors (Abb. 1) ist durch eine Dreiteilung charakterisiert. Das wichtigste Bauteil ist der Rezeptor (das Erkennungssystem), bei dem eine stoffspezifische energetische Wechselwirkung zur Stofferkennung führt. Hier ist vor allem der Chemiker oder Physikochemiker gefragt, wenn es um neue Erkennungsprinzipien oder Verbesserungen bekannter Prozesse geht. Verglichen mit dieser Herausforderung ist die „Weiterleitung“ des erzeugten spezifischen Signals oder die Transformation einer energetischen Größe in eine proportionale elektrische weniger schwierig. Dieser Schritt wird in der Regel mit einer Palette



Karl Cammann, 1939 in Düsseldorf geboren, studierte nach einer Ingenieurausbildung und Industrietätigkeit an der Technischen Universität München Chemie (Diplomarbeit bei H. Gerischer) und promovierte 1975 bei G. Ertl an der Universität München. Nach Postdoc-Aufenthalten bei G.A. Rechnitz (State University of New York at Buffalo) und S. Mazur (University of Chicago) folgte er 1979 einem Ruf an die Universität Ulm. 1986 wechselte er an die Technische Hochschule München, bevor er 1987 einen Ruf auf den Lehrstuhl für Analytische Chemie (Nachfolge F. Umland) an der Universität Münster annahm. Neben der Grundlagenforschung über Chemo- und Biosensoren beschäftigt er sich vorwiegend mit der apparativen Weiterentwicklung der instrumentellen Analytik. Cammann widmet sich speziell der Entwicklung selektiver Detektoren und Monitore für bestimmte chemische Verbindungen. Auf diesem Sektor erhielt er 1987 den Océ-van-der-Grinten-Umwelpreis sowie den Technologie-Transfer-Preis des Bundesministers für Bildung und Wissenschaft.

bekannter physikalischer Transducer durchgeführt, die das zweite Bauteil eines jeden Chemo-/Biosensors sind. Als drittes Bauteil wird häufig noch eine elektronische Vorrichtung (Vorverstärker, Impedanzwandler, Multiplexer, Analog-Digital-Wandler etc.) unmittelbar hinter dem Transducer plaziert, um Einflüsse störender elektrischer oder magnetischer Felder weitgehend auszuschalten oder die unterschiedlichen Signale mehrerer Erkennungssysteme simultan mit nur einer elektrischen Verbindung zur Auswerteinheit zu leiten.

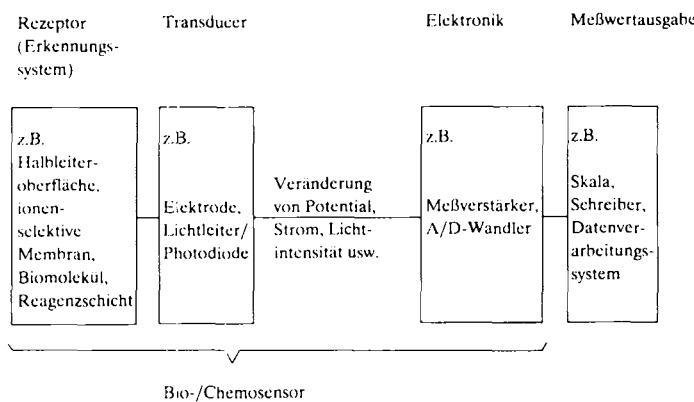


Abb. 1. Schematischer Aufbau einer Chemo- und Biosensoreinheit.

Die Chemo-/Biosensoren können nach der Art ihres stofferkennenden Sensorelementen oder nach der Art des Transducers klassifiziert werden. Steht die analytisch-chemische Selektivität im Vordergrund, so ist das stofferkennende Sensor- element der entscheidende Teil. Geht es um die Nachweisgrenze oder das Signal/Rauschverhältnis, dürfte der physikalische oder elektronische Transducer (siehe Tabelle 2) entscheidend sein.

Tabelle 2. Klassifikation der Chemo- und Biosensoren.

Art des Transducers	Meßprinzip/Meßgröße
1. Elektro- chemisch	1.1 Potentiometrie 1.2 Amperometrie 1.3 Voltammetrie 1.4 Feldeffekt (ChemFET, ISFET)
2. Elektrisch	2.1 Oberflächenleitfähigkeit (MOS) 2.2 Elektrolytleitfähigkeit
3. Optisch	3.1 Fluoreszenz 3.2 Absorption 3.3 Reflexion 3.4 Lumineszenz 3.5 Brechungsindex 3.6 Lichtstreuung
4. Magnetisch	4.1 Paramagnetismus
5. Massen- sensitiv	5.1 Resonanzfrequenz eines piezoelektrischen Kristalls (PZ) 5.2 Surface Acoustic Wave (SAW)
6. Thermisch	6.1 Reaktionswärme 6.2 Adsorptionswärme

Alle Chemo- und Biosensoren können direkt zur Analyse von Gasen und Flüssigkeiten (letztere auch in Form von Suspensionen oder Pasten) auf bestimmte Ionen oder Moleküle zwischen ppb- und Prozent-Konzentrationen eingesetzt werden. Da bei hinreichend selektiven Chemo-/Biosensoren die Probenvorbereitung minimal ist und die Sensoren preis-

wert angeboten werden, sagen alle Marktstudien hohe Zuwachsraten voraus. Bei weniger selektiven Sensoren kann in vielen Fällen durch eine automatische Probenvorbereitung mit einer Selektivitätsgebenden chemischen Vorreaktion oder Trennung etwa durch die Technik der Fließinjektionsanalyse^[24] ein relativ preisgünstiges Meßgerät aufgebaut werden.

2. Chemosensoren

2.1. Elektrochemische Sensoren

2.1.1. Ionenselektive Elektroden

Bis vor wenigen Jahren, als die Lambda-Sonde zur Regelung des Drei-Wege-Katalysators wegen fehlender gesetzlicher Verordnungen noch nicht in den heutigen Stückzahlen produziert wurde, bildeten die ionenselektiven Elektroden (einschließlich der pH-Glaselektrode) die wirtschaftlich bedeutsamste Chemosensor-Klasse. Die ionenselektive Potentiometrie wird mit einer von Nicolsky et al. stammenden, empirisch erweiterten Nernst-Gleichung^[25] ausgewertet, die einen Zusammenhang zwischen der zu bestimmenden Ionen-Spezies in der Probe und der gemessenen Meßkettenspannung unter dem Einfluß aller störenden Komponenten herstellt [Gl. (a)].

$$U = U^0 + \frac{R \cdot T}{z_M \cdot F} \ln [a_M + \sum_i K_{M-i} \cdot a_i^{z_M z_i}] \quad (a)$$

U	Meßkettenspannung
U^0	Meßkettenspannung bei $\ln 1 = 0$
R	allgemeine Gaskonstante
T	absolute Temperatur
F	Faraday-Konstante
a_M	Meßionenaktivität
z_M	Ladung des Meßions (mit entsprechendem Vorzeichen)
K_{M-i}	Selektivitätskoeffizient (Meßion-Störion)
a_i	Störionenaktivität
z_i	Ladung des Störions (mit entsprechendem Vorzeichen)

Die Quantifizierung der Selektivität erfolgt durch den Selektivitätskoeffizienten K_{M-i} , der leider keine Konstante ist, da er von der Bestimmungsmethode sowie den Konzentrationen aller störenden Substanzen abhängt. Er liegt bei guten ionenselektiven Elektroden in der Größenordnung von 10^{-4} , d.h. ein 10^4 -facher Störionenüberschuß ergibt einen Faktor 2 in der Anzeige (= 100% Fehler).

Zum Mechanismus der Selektivität der Potentialeinstellung an der Phasengrenze zwischen ionenselektiver Membran und Meßmedium wurde in den letzten Jahren^[26-30] eine neue theoretische Betrachtungsweise entwickelt. Sie basiert auf den Arbeiten von Koryta und anderen über das elektrochemische Verhalten an der Grenzfläche zweier nicht mischbarer Elektrolyte^[31] und berücksichtigt dabei die Erkenntnisse der modernen Korrosionsforschung bezüglich konkurrierender Elektrodenreaktionen.

Grundlage der ionenselektiven Potentiometrie ist eine ionenselektive Spannungsänderung an der betrachteten Phasengrenze. Voraussetzung dazu ist wiederum eine ionenselektive Ladungsänderung (oder -verschiebung) an dieser Phasengrenze, d.h. nur der jeweiligen Meßionensorte sollte ein nennenswerter Phasentransfer ermöglicht werden. Dazu

müssen energetische und geometrische Parameter zusammen optimiert werden.

Wird eine der Elektroneutralitätsbedingung gehorchende, ungeladene, ionenselektive Membranelektrode in eine Elektrolytlösung getaucht, so kommt es zu Phasenübergängen von Ladungsträgern, deren Richtung (Membran \rightarrow Lösung oder umgekehrt) vom Gradienten des jeweiligen chemischen Potentials abhängt. Wenn bevorzugt nur eine einzige Ionenart selektiv übertreten soll (z. B. durch spezifische Komplexbildung in Flüssig- oder PVC-Membranen oder Gitterplatzgrößenbedingt bei Membranen aus poly- oder einkristallinem Material), so kommt es durch diesen selektiven Phasenübergang von Ladungsträgern zu einer zunehmenden Aufladung der Phasengrenze. Durch das Auftreten des dazugehörigen ionenselektiven elektrischen Feldes wird der anfänglich energetisch begünstigte Ionenübergang gebremst, so daß am Ende infolge der elektrostatischen Abstoßungskräfte zwischen gleichgeladenen Teilchen und der Anziehung durch die zurückbleibenden Gegenladungsträger der weitere Übergang von Ladungsträgern gestoppt und die Rückreaktion gefördert wird. Im Gleichgewichtsfall halten sich dann die mikroskopischen Ionenströme, die in beiden Richtungen die Phasengrenze durchwandern, die Waage, und die sich einstellende ionenselektive Potentialdifferenz ist konstant und meßbar. Nach außen herrscht Stromlosigkeit (Bedingung der Potentiometrie).

Dem Transport von Ladungsträgern über die Phasengrenze zwischen Elektrode oder ionenselektiver Membran und Meßlösung hinweg entspricht nach den Gesichtspunkten der elektrochemischen Kinetik definitionsgemäß ein gerichteter elektrischer Strom (je nach Richtung: Membran \rightarrow Lösung oder umgekehrt) \bar{i} oder \bar{i} . Im Gleichgewichtsfall gilt $\bar{i} = \bar{i} = i_0$. Die Stromdichte i_0 ($= i_0/A$, A = Fläche) wird Austauschstromdichte genannt (siehe Abb. 2). Die beiden entgegengesetzten

heitsladungen pro Sekunde, je nach Verstärker, nicht vermieden werden. Die so durch selektive Ladungstrennung erzeugte ionenselektive elektrische Spannung an der Phasengrenze eines solchen Ionensorsors hängt natürlich von der Konzentration der durchtrittsfähigen (potentialbestimmenden) Ionen ab. Der Zusammenhang zwischen der Ionenkonzentration und dem Grenzflächenpotential wurde in genialer Weise schon 1889 von *Nernst* in der nach ihm benannten Gleichung theoretisch hergeleitet. Mit Hilfe der experimentell bestimmmbaren Austauschstromdichte j_0 läßt sich nach dieser Theorie die Selektivität von potentiometrischen Sensoren vorhersagen: Potentialbestimmend ist stets die Ionenart, die die größte Austauschstromdichte aufweist.

Die gegenseitige Beeinflussung parallel ablaufender Phasengrenzreaktionen (neben den Meßionen befinden sich in realen Meßlösungen in der Regel noch Störionen) bewirkt, daß sich die thermodynamischen Gleichgewichtspotentiale der einzelnen Elektrodenreaktionen (hier: paralleler Übergang von Meß- und Störionen an der Phasengrenzfläche zweier Ionenleiter) wie bei korrodierenden Metallektroden nicht völlig einstellen können, so daß Abweichungen vom Nernst-Verhalten auftreten können. Zur Erzielung einer hohen Austauschstromdichte und damit zur Einstellung einer gewünschten Selektivität können thermodynamische wie kinetische Faktoren gezielt verändert werden. So bewirkt das Einbringen eines Ionophors in die Membran für eine bestimmte Ionensorte eine Vergrößerung der Austauschstromdichte und somit eine Selektivitätssteigerung. Die so erzeugte Selektivität muß wohl einer Ion-Dipol-Fernwirkung zwischen dieser bestimmten Ionensorte in der Lösung und dem Ionophor in der Membranoberfläche zugeschrieben werden. Es wäre vorstellbar, daß es speziell für das potentialbestimmende Ion durch Überschreiten beteiligter Energiebarrieren zu einer Senkung der effektiven Aktivierungsenergie für den Ionentransfer über den gesamten Phasengrenzbereich kommt. Die Aktivierungsenergie kann auch elektrochemisch durch einen Transferwiderstand ausgedrückt werden. Dieser wiederum ist umgekehrt proportional zur Austauschstromdichte und kann unter anderem aus Impedanzspektren erhalten werden^[32, 33].

Die Selektivität aller ionenselektiven Membranen, die rasche Potentialeinstellung auch bei dicken Membranen sowie das gelegentliche Auftreten von Übersteilheiten (mehr als der Nernst-Faktor vor dem Logarithmus der Meßionenaktivität voraussagt) läßt sich mit dieser Theorie, die auch kinetische Parameter verwendet, befriedigend erklären. In unserem Arbeitskreis sind seit 1975 viele Grundlagenuntersuchungen durchgeführt worden, um festzustellen, welche Voraussetzungen erfüllt sein müssen, damit ein bestimmtes Ion potentialbestimmend (also selektiv nachweisbar) ist. Entscheidend war bei allen Elektrodenarten das Verhältnis der Austauschstromdichte des Meßions zu der des betreffenden Störions. Der daraus gebildete Quotient war in allen Fällen gleich dem potentiometrisch gemessenen Selektivitätskoeffizienten in der erweiterten Nernst-Gleichung (a).

Vergleicht man gute ionenselektive Elektroden hinsichtlich gemeinsamer Merkmale, die offensichtlich eine potentialbestimmende Meßionenaustauschstromdichte an der Phasengrenze zwischen ionenselektiver Membran und Meßlösung nach sich ziehen, so ist es bei Festkörpermembranen die bevorzugte Ionenleitfähigkeit in oberflächennahen Bereichen (Ag_2S = guter Ag^+ -Ionenleiter; Eu^{2+} -dotiertes LaF_3

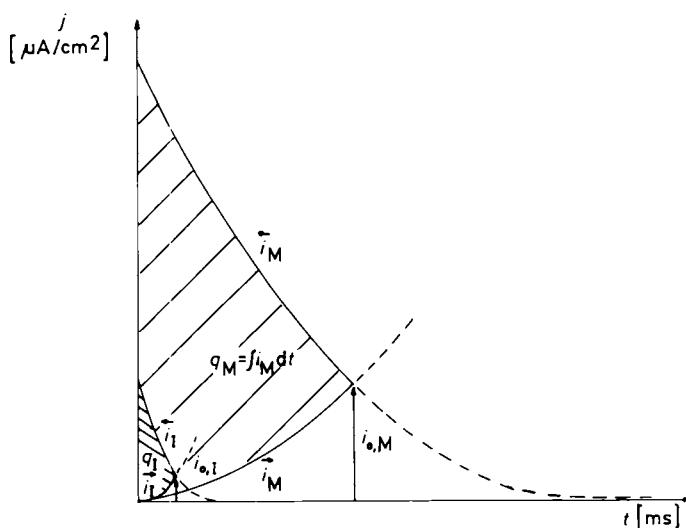


Abb. 2. Schematische Darstellung der gerichteten Ionenströme i und \bar{i} über die Phasengrenze hinweg; die Selektivität ist durch das Verhältnis der Meßionenladungsmenge q_M zur Ladungsmenge q_I der Störionen gegeben (siehe Text).

setzen Stromdichten \bar{i} und i sorgen dafür, daß die ionenselektive Aufladung an einer Phasengrenze aufrecht erhalten wird. Sie ermöglichen darüber hinaus sogar erst ihre Meßbarkeit, denn in der Praxis kann ein Meßkreisstromfluß von 10^{-10} bis 10^{-14} A, d. h. ein Nettofluß von 10^9 bis 10^5 Ein-

= guter F^- -Ionenleiter); bei den PVC-Membranen mit selektiven Ionencarriern werden vorzugsweise nur Ionen-Dipol-Wechselwirkungen genutzt, wie ein Blick auf die Palette der sogenannten elektroaktiven Verbindungen^[34] verdeutlicht. Es scheint so, als ob der Verlauf der Aktivierungsenergieschwelle für den Ionentransfer Membranphase \rightarrow Lösung den Schnittpunkt (= effektive Aktivierungsenthalpie für den Phasenübergang des betreffenden Ions) mit dem bei einem bestimmten Lösungsmittel gegebenen unveränderbaren Verlauf der Aktivierungsenergie-Abstands-Kurve für die Desolvatation bestimmt.

Die rein kinetische Bevorzugung des Meßions ist zwar eine hinreichende, jedoch keine ausreichende Bedingung für einen guten, selektiven und vor allem langzeitstabilen Nernst-Sensor. Es muß auch ein gewisser Grad an Nichtpolarisierbarkeit vorliegen. Unter dieser Größe versteht der Elektrochemiker vereinfachend ausgedrückt die Eigenschaft einer elektrochemischen Halbzelle, ihr Potential ohne Rücksicht auf die aktuell vorhandene Stromstärke konstant zu halten. Gute ionenselektive Elektroden weisen, wie gute Bezugselektroden, für das Meßion eine relativ steile Strom-Spannungs-Kennlinie auf. Die Störionen zeichnen sich bei dieser Betrachtungsweise durch eine weniger steile Kennlinie aus. Liegen sie zusammen mit den Meßionen in einer Lösung vor, so muß sich nach unseren derzeitigen Kenntnissen, wie im Falle korrodierender Metallektroden, ein Mischpotential einstellen. Hierbei dominiert stets das Gleichgewichtspotential derjenigen Elektrodenreaktion (Phasentransfer von Ionen), die die steilste Kennlinie hat. Zur Erzielung einer vorteilhaften Strom-Spannungs-Kennlinie über einen möglichst großen Überspannungsbereich sind auch Konzentrationspolarisationen zu berücksichtigen. Höhere Meßionenkonzentrationen in der Membranphase, die durch Komplexierung und Gegenionenladungen an einer Diffusion in die Lösung mit daraus resultierenden schlechten Nachweisgrenzen gehindert sind, erweisen sich hier als günstig, ebenso die daraus folgende höhere Pufferkapazität für das chemische Potential der Meßionen in der Membranphase. Hierzu gibt es eine ausführliche Abhandlung^[35].

Ionenselektive Elektroden ermöglichen als elektrochemische Halbzellen in Verbindung mit einer geeigneten, potentialkonstanten Bezugselektrode die Bestimmung einer Vielzahl von Stoffen (vgl. Tabelle 1). Je nach den verwendeten Membrantypen unterscheidet man zwischen Glas-, Festkörper-, Flüssig- und PVC-Membran-Elektroden^[36, 37]. Die Lebenszeit der robusten Glas- und Festkörpermembran-Elektroden liegt mit mehreren Jahren deutlich über der von Flüssig- oder PVC-Membran-Elektroden, die je nach Anwendungsgebiet nur ca. sechs Monate einsetzbar sind, will man nicht größere Einbußen an Empfindlichkeit und Selektivität hinnehmen. Mit der Einführung der Modulbauweise bei dieser Elektrodenart durch einige Hersteller wird jedoch ein schnelles und problemloses Auswechseln der sensiblen Elektrodenelemente ermöglicht. Die wichtigsten, von der Arbeitsgruppe *Simon* (Zürich) entwickelten und zur Eigenfertigung von selektiven PVC-Membranen benötigten Ionomophore werden kommerziell vertrieben^[38], wobei auch Herstellungsvorschriften mitgeliefert werden.

2.1.2. Ionenselektive Feldeffekttransistoren (ISFETs)

Lange Zeit glaubte man mit den 1970 von *Bergveld*^[39, 40] erstmals beschriebenen ionenselektiven Feldeffekttransisto-

ren eine neue Generation von Sensoren geschaffen zu haben, die den Forderungen nach Miniaturisierbarkeit, Mikroelektronik-Kompatibilität, Massenproduktionsfähigkeit und damit Kostensparnis entsprach. Infolge der bekannten mikroelektronischen Herstellungsprozesse lag es auf der Hand, Chemosensoren als wegwerfbare Massenartikel anzustreben. Die anfängliche Euphorie ist inzwischen einer realistischen Einschätzung gewichen, da immer noch Schwierigkeiten bezüglich Langzeitstabilität sowie Bezugselektroden-Integration bei diesen Sensoren existieren. Dennoch ist es interessant, auf diese Sensorklasse im folgenden etwas näher einzugehen, weil sich hier die Disziplinen Chemie, Elektronik und Dünnschichttechnologie begegnen und ISFETs die Grundlage der Biochips bilden sollen.

Ein ISFET kann allgemein als eine sehr stark miniaturisierte Ausführung einer ionenselektiven Halbkette mit integrierter Impedanzwandlung betrachtet werden. Hiermit läßt sich sowohl die Aktivität einzelner Ionen bestimmen, für die es auch ionenselektive Mikroelektroden gibt, als auch – in Form enzymbeschichteter ISFETs (Biochips) – eine Vielzahl von Substraten messen. Die verwendeten Transistoren können in der Regel sehr klein ausgelegt werden, so daß auf einem Chip von nur wenigen mm^2 mehrere sensitive Flächen für verschiedene Ionen oder Substrate aufgebracht werden können. Auf demselben Chip kann außerdem die gesamte Steuerelektronik inklusive der Temperaturkompensation Platz finden.

Den Grundbaustein aller ISFETs bildet ein Feldeffekttransistor (FET), bei dem das Metallgate durch eine isolierende und eine darüber befindliche ionenselektive Schicht ersetzt wurde. Die Größe des Gatepotentials, das den Stromfluß zwischen Source und Drain steuert, wird durch die Aktivität der zu messenden Ionen bestimmt, weil eine ionenselektive Oberflächenschicht vorhanden ist. Der prinzipielle Aufbau eines ISFETs ist in Abbildung 3 in einer vorteilhaften Ausführung gezeigt. Häufig wird aber aus Gründen ei-

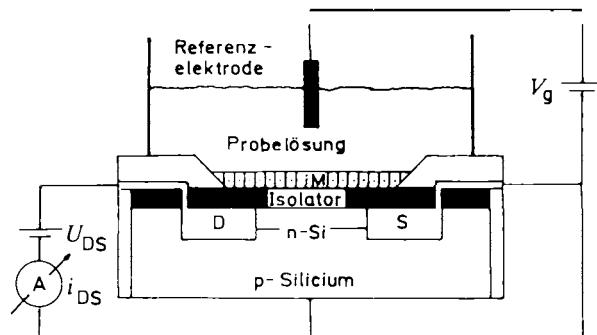


Abb. 3. Funktionsprinzip eines ISFETs: die Größe des Gatepotentials V_g steuert den Stromfluß i_{DS} zwischen Source S und Drain D.

nes optimalen Arbeitspunktes nicht die Abhängigkeit des Source-Drain-Stroms von der Meßionenaktivität gemessen, sondern die Regelspannung, die man über eine Bezugselektrode einspeisen muß, um diese Stromstärke konstant zu halten.

Bei einem ISFET dient häufig eine ionenselektive PVC-Membran, die durch Spin-Coating auf der Gatefläche aufgebracht wird, als stofferkennendes Sensorelement. Mit den bekannten elektroaktiven Verbindungen lassen sich auf diese

Weise alle ionenselektiven PVC-Membran-Elektroden auch als ISFET verwirklichen. Haftungsprobleme der Kunststoffmembranen auf der Gate-Oberfläche führen jedoch in der Regel schon nach einigen Wochen zu einem Ablösen der selektivitätsgebenden Membran. Bei einem pH-ISFET^[41-44] stellen Protonen an einer dünnen aufgewachsenen SiO_2 -, Si_3N_4 -, Al_2O_3 - oder Ta_2O_5 -Schicht ein H^+ -konzentrations-abhängiges Feld ein. Ein entscheidender Nachteil dieser Materialien liegt in der zum Teil noch vorhandenen Lichtempfindlichkeit. Die Diffusion von Verunreinigungen in tiefere Halbleiterschichten, die bekanntlich darauf empfindlich reagieren, führt im allgemeinen noch zu einem langsamem Driften der Meßsignale im Bereich von wenigen mV pro Tag.

Die genannten Nachteile sowie das grundsätzliche Problem der Leckbildung bei der Isolation der übrigen Transistorflächen – was ebenfalls vor der endgültigen Zerstörung der Funktionsfähigkeit zu driftenden Anzeigen führt – haben bisher ihrem kommerziellen Erfolg im Wege gestanden. Neuere Entwicklungen auf dem Gebiet der elektrolytischen Verglasung lassen aber auf Verbesserungen hoffen^[45]. Die ISFET-Entwicklung beschäftigte sich auch schon mit Multisensor-Arrays^[46, 47], bei denen mehrere unterschiedliche ionenselektive Sensorelemente vor verschiedenen Gates auf einem einzigen Chip integriert sind. Hier stieß man aber auf Grenzen der Miniaturisierungstechnik. Eng benachbarte Flächen unter 1 mm^2 konnten nicht separat durch die Spin-Coating-Technik beschichtet werden. Die nachträgliche lokale Dosierung einer alle Gates bedeckenden gemeinsamen PVC-Weichmacher-Membran mit mehreren elektroaktiven Verbindungen oberhalb der betreffenden Gate-Oberflächen war auch problematisch, da Ionencarrier-Diffusionsvorgänge innerhalb der Membran die elektroaktiven Verbindungen vermischten.

Neben der Beseitigung der weiter oben erwähnten Nachteile ist es aber auch notwendig, eine miniaturisierte und langzeitstabile Bezugselektrode auf dem ISFET zu integrieren, um die Vorteile als miniaturisierter Chemosensor voll nutzen zu können. Kann die integrierte Bezugselektrode infolge der zu geringen Stromschlüsselabmessungen das Eindringen potentialverfälschender Substanzen nur für kurze Zeit aufhalten, lassen sich nur Wegwerf-Sensoren verwirklichen. Hier wäre aber kritisch zu prüfen, ob ein klassischer Elektrodenaufbau in Dickfilmtechnik nicht kostengünstiger ist.

Eine interessante Alternative zu den ISFETs sind in diesem Zusammenhang die in Planartechnologie gefertigten Filmelektroden^[48]. Auch hier genießt man den Vorzug eines miniaturisierten Sensors, der kostengünstig als Massenartikel produziert werden kann. Ein kommerziell erhältliches System^[49, 50] basiert auf der Nullpunktspotentiometrie. Meß- und Referenzsystem des Einmal-Sensors sind gleich und haben aufgrund identischer Herstellung bei gleichen Lösungen vor den betreffenden Membranen einen Potentialunterschied von Null. Wird auf die eine Sensoroberfläche nun eine Lösung bekannter Konzentration (Referenz) und auf die andere Sensoroberfläche die Probelösung aufgebracht (siehe Abb. 4), so ist die beobachtete Potentialdifferenz nach Nernst direkt und allein vom Konzentrationsunterschied des betreffenden Meßions zwischen beiden Lösungen abhängig (Konzentrationsketten-Aufbau). Der bei solchen Differenzmeßmethoden (= Meßkette ohne Überführung) auftretende Fehler ist sehr gering, da die Probleme mit traditionellen Bezugselektroden (Diffusionspotentialvariationen) sowie

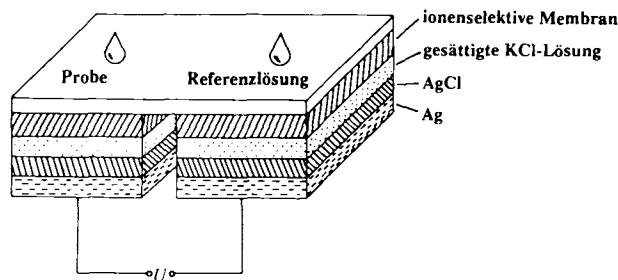


Abb. 4. Aufbau eines Filmsensors (Kodak), der nach dem Prinzip der Nullpunktspotentiometrie arbeitet.

Alterungerscheinungen und Elektrodenvergiftungen entfallen. Kontinuierliche Messungen sind hiermit jedoch nicht möglich.

2.1.3. Ionenleitende Festkörperelektrolyt-Sensoren

Die durch den Drei-Wege-Katalysator bekannt gewordene Lambda-Sonde ist zur Zeit der populärste elektrochemische Sensor. Er ermöglicht die Messung des Restsauerstoffgehaltes in der Abluft von Verbrennungsmotoren. Hier wird die selektive Ionenleitfähigkeit des O^{2-} -Ions in über 400 °C heißem, yttriumdotiertem ZrO_2 ausgenutzt. Nach Reaktion (1) lässt sich eine potentiometrisch arbeitende O_2 -Meßkette aufbauen, wobei der gasförmige Sauerstoff mit dem im Festkörperelektrolyt befindlichen Gitter-Sauerstoff im Gleichgewicht steht.



Befindet sich auf einer Seite der ZrO_2 -Membran eine höhere Sauerstoffkonzentration, d. h. ein höherer O_2 -Partialdruck ($p_{\text{O}_2}^{\text{Ref}}$ z. B. in Außenluft, Referenzgas) als auf der anderen ($p_{\text{O}_2}^{\text{Meß}}$ z. B. in Abgas, Meßmedium), so stellt sich entsprechend der Nernst-Gleichung für Konzentrationsketten eine Spannung ein, die logarithmisch dem Quotienten beider Sauerstoff-Drücke folgt [Gl. (b)].

$$U = \frac{R \cdot T}{4 \cdot F} \ln \frac{p_{\text{O}_2}^{\text{Ref}}}{p_{\text{O}_2}^{\text{Meß}}} \quad (b)$$

Die Selektivität ergibt sich bei diesem Sensor dadurch, daß in ZrO_2 eine selektive O^{2-} -Ionenleitfähigkeit (ähnlich wie im LaF_3 -Einkristall für F^- -Ionen) auch die Oberflächenreaktion bestimmt. Abbildung 5 zeigt den schematischen Aufbau einer potentiometrisch arbeitenden Lambda-Sonde^[51, 52].

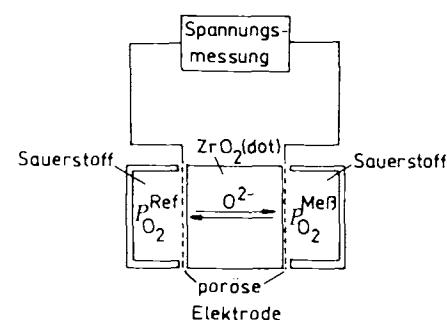
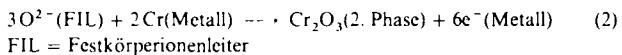


Abb. 5. Schematische Darstellung einer Lambda-Sonde als potentiometrischer Sensor.

Bezüglich der weiteren analytischen Eigenschaften gelten ähnliche Überlegungen wie bei den ionenselektiven Membran-elektroden. Der erfaßbare Konzentrationsbereich ist enorm (>10 Dekaden), vorausgesetzt der Meßkreisstromfluß ist wesentlich kleiner als die Austauschstromdichte der Redox-reaktion (1) an den Platinableitelektroden. Die Ablesegenauigkeit wird auch hier 0.1 mV nicht übersteigen, woraus sich bei Temperaturkonstanz Konzentrationsmeßgenauigkeiten von ca. 2% rel. ergeben. Diese Genauigkeit reicht für die typische Anwendung beim Drei-Wege-Katalysator völlig aus, da bei Änderung von $\lambda = 1.0$ aufgrund des logarithmischen Zusammenhangs große Spannungsänderungen resultieren.

Als Festkörperelektrolyt zur Bestimmung von O_2 , der schon bei Raumtemperatur eine Ionenleitfähigkeit aufweist, eignet sich LaF_3 ^[53]. An diesem wird durch intermediär gebildete OH^- - und HO_2^- -Ionen eine Potentialänderung hervorgerufen, mit der indirekt die O_2 -Konzentration gemessen werden kann^[54].

Der Einsatz von Hochtemperatur-Festkörperelektrolyten mit O^{2-} -Leitfähigkeit kann bei konstanter Sauerstoffkonzentration auch zur Detektion oxidierbarer Stoffe ausgenutzt werden, indem eine zweite an der Elektrode ablaufende Reaktion ausgenutzt wird. Dies geschieht z. B. bei der katalytischen Oxidation von NH_3 und bei der Bestimmung von Chrom in geschmolzenem Stahl^[55] [Reaktion (2)].



Die sich im Festkörperelektrolyt bewegenden O^{2-} -Ionen oxidieren das Chrom unter Abgabe von Elektronen; die Potentialänderung kann gemessen werden. Nach einer ähnlichen Methode gelang auch die Analyse von Silicium mit $ZrSiO_4$ als Festkörperionenleiter^[56]. Für Anwendungen bei solch hohen Temperaturen (über 1600°C) wurde inzwischen ein sehr kompakter Sensor entwickelt, der bis zu zehn Stunden in geschmolzenem Stahl eingesetzt werden kann^[57]. Zur Bestimmung von Sauerstoff in flüssigem Natrium, das in Reaktoren vom Typ des schnellen Brüters verwendet wird, wurden ebenfalls spezielle Sensoren konstruiert^[58, 59]. Zusätzlich zur thermischen und mechanischen Belastbarkeit müssen solche Sensoren auch noch gegen Strahlung und Natriumkorrosion beständig sein.

Außer für Sauerstoff wurden bisher insbesondere zur SO_2 / SO_3^- - und CO_2 -Bestimmung Festkörperelektrolyt-Sensoren entwickelt^[60], die z. B. aus $Li_2SO_4 + Ag_2SO_4$ ^[57, 61-64] bestehen und bei einer Betriebstemperatur von ca. 400°C arbeiten. Die Empfindlichkeit solcher Sensoren liegt im Bereich von 3 bis 10^4 ppm und ihre Verwendung in der Abgasüberwachung wird zur Zeit geprüft. Auch zur Messung von Cl_2 lassen sich oberflächenmodifizierte Festkörperelektrolyte verwenden. Hierzu wird z. B. $LiAlCl_4$ als Ionenleiter mit einer dünnen $LiCl$ - oder $AlCl_3$ -Oberflächenschicht überzogen. Die vom Chlorpartialdruck abhängige Zellspannung gehorcht der Nernst-Gleichung^[65, 66].

2.1.4. Amperometrische Meßzellen

Um die Anforderungen bezüglich Temperaturkonstanz der Lambda-Sonde zu verringern sowie um von der loga-

rithmischen Signal/Konzentrations-Abhängigkeit zu einer linearen zu gelangen, die auch genaue Messungen mit Sauerstoffüberschuß ($\lambda > 1$, Mager-Mix-Prinzip) ermöglicht, kann der Sensor auch als Grenzstrom-Sonde konstruiert werden^[67, 68]. Bei dieser Anordnung, die außerdem auch unterhalb 400°C betrieben werden kann, fließt im Gegensatz zur potentiometrisch arbeitenden Lambda-Sonde infolge des Anlegens einer äußeren Spannung („Pumpspannung“) durch die O_2 -Konzentrationskette ein Strom, wodurch Sauerstoff von einer auf die andere Seite der Kette transportiert wird („Sauerstoffpumpe“). Vor der Kathode befindet sich eine Diffusionsbarriere (z. B. poröse Keramikschicht), die der Sauerstoff überwinden muß, bevor er reduziert und im ZrO_2 zur Anode transportiert wird (Abb. 6). Ist die angelegte Spannung so gewählt, daß jedes ankommende Sauerstoffmolekül sofort an der Kathode reduziert wird, so erhält man wie bei der Polarographie einen spannungsunabhängigen Grenzstrombereich. Der dort fließende Strom ist direkt proportional der zu messenden O_2 -Konzentration, und der Temperaturkoeffizient wird nicht länger durch den Nernst-Faktor gegeben, sondern durch die Eigenschaften der Diffusionsbarriere kontrolliert^[69].

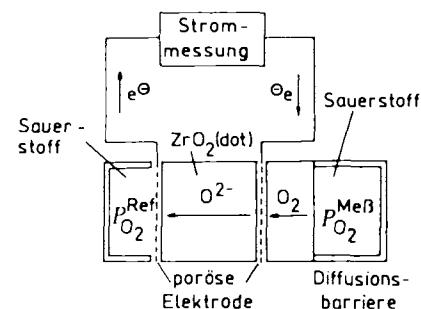


Abb. 6. Schematische Darstellung einer Lambda-Sonde als Grenzstromsensor.

Das amperometrische Meßprinzip wird sonst vorzugsweise bei industriellen Chemosensoren für Gase verwirklicht. Klassisches Beispiel ist der Sauerstoffsensor nach *Clark*^[17]. Der zu bestimmende Sauerstoff diffundiert durch eine gasdurchlässige Membran von 10 bis 50 Mikrometer Dicke aus Polytetrafluorethylen (Teflon) oder einem Copolymer aus Tetrafluorethylen und Hexafluorpropylen (FEP) mit besonders hoher Sauerstoffpermeabilität. Dahinter befindet sich eine chloridhaltige Elektrolytlösung, in welche eine Platin- oder Goldkathode als Arbeitselektrode und eine $Ag/AgCl$ -Anode als potentialkonstante Gegenelektrode eintauchen (vgl. Abb. 14). Sauerstoff wird bei einem Arbeitselektrodenpotential von ca. -0.8 V gegen die $Ag/AgCl$ -Elektrode reduziert. Der langsamste Schritt ist die Diffusion des Sauerstoffs durch die gasdurchlässige Membran, wobei die Menge von seinem Partialdruckgradienten über die Membran abhängt. Der Stromfluß wird daher primär vom O_2 -Partialdruck bestimmt. Da die Membran keine Flüssigkeiten und Elektrolyte durchläßt, kann auch der in Flüssigkeiten gelöste Sauerstoff gemessen werden, wobei die Partialdruckabhängigkeit zu beachten ist. Der Sensor zeigt an Luft und in luftgesättigten Flüssigkeiten den gleichen Wert! Für eine Anzeige des gelösten Sauerstoffs in mg L^{-1} ist eine Kalibrierung erforderlich.

Ein Nachteil der meisten O_2 -Elektroden auf dieser Grundlage liegt im hohen Sauerstoffumsatz, so daß bei einem Ein-

satz in unbewegten Flüssigkeiten nicht genügend O_2 nachgeliefert werden kann (O_2 -Verarmungsschicht wächst mit einer \sqrt{t} -Gesetzmäßigkeit in die Flüssigkeit) und es zu Mindeoranzeigen kommt. Die Meßlösung muß infolgedessen gerührt werden, wobei gleichzeitig eine gewisse Abhängigkeit des gemessenen Signals von der Konvektion entsteht. Man versucht, diesen Nachteil durch Verkleinerung der Arbeits-elektrodenfläche zu verringern, wobei aber Probleme infolge des sehr geringen Stromflusses entstehen. Eine vorteilhafte Lösung wird derzeit durch Anwendung eines Mikroelektroden-Arrays (siehe Abb. 7) angestrebt. Bei Einzelelektroden-

zu bestimmenden Stoffes einstellen läßt, ist zur Analyse unbekannter Flüssigkeiten in der Regel zu gering. Wird aber eine gaspermeable Membran vorgeschaltet, so verringern sich die Störungsmöglichkeiten nur auf gleich gut permeierende Gase, die ebenfalls unter diesen Bedingungen elektrochemisch umgesetzt werden. Im Falle des O_2 -Sensors nach *Clark* sind dies beispielsweise Chlor und einige Haloforme. Durch geschickte Auswahl des Membranmaterials sowie des Elektrolyten lassen sich diese Störungen weiter verkleinern. Gelegentlich wird auch eine unterschiedliche elektrochemische Reversibilität selektivitätssteigernd ausgenutzt, wobei

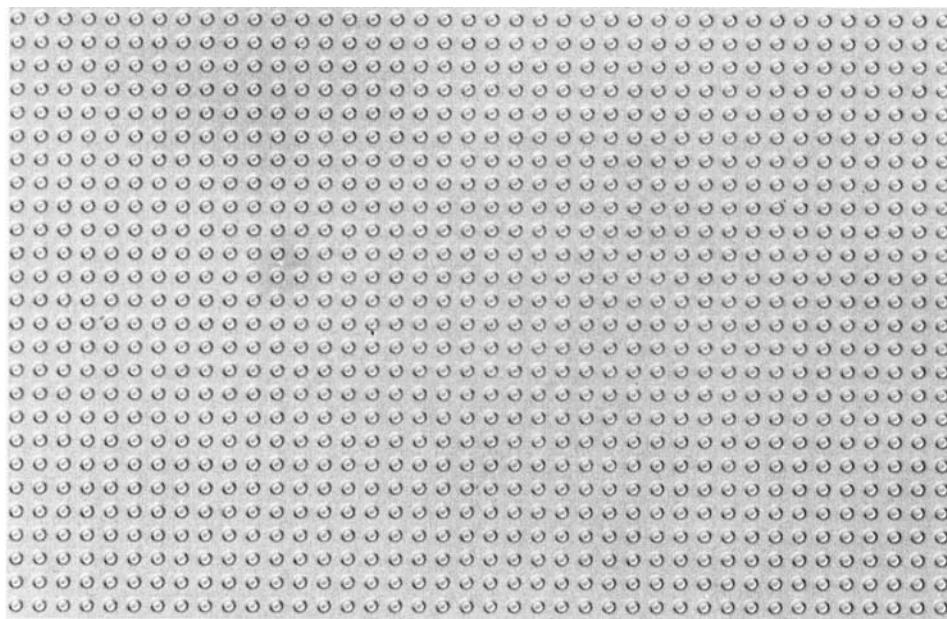


Abb. 7. Mikroelektroden-Array zur amperometrischen O_2 -Bestimmung. 1040 Pt-Mikroelektroden auf einem 2×3 mm Si-Chip; Durchmesser der Pt-Mikroelektroden: $1.5 \mu\text{m}$; Durchmesser der umgebenden $\text{SiO}_2\text{-Si}_3\text{N}_4$ -Isolationsschicht: $20 \mu\text{m}$. Die umgebende, graue Ag-Fläche dient als Ag/AgCl-Referenzelektrode. Mit freundlicher Genehmigung des Instituts für Medizintechnik (IMT), Münster.

durchmessern von nur $1 \mu\text{m}$ (!) gelangt man zu Umsatzraten, die so gering sind, daß die Brownsche Molekularbewegung in einer sphärischen Schicht zur Nachlieferung ausreicht. Derartige Sensortechnologien sind allerdings nur mit modernsten Fabrikationsprozessen der Halbleitertechnologie zu verwirklichen. Eine weite Verbreitung finden die amperometrisch arbeitenden Sauerstoff-Elektroden als Transducer für viele Biosensoren (siehe Tabelle 7).

Nach einem ähnlichen Prinzip funktionieren auch viele SO_2 -, CO - und NO -Gassensoren. Die Meßmethode basiert auf der elektrochemischen Oxidation der einzelnen Gase in dem durch eine Gasmembran abgetrennten Zwischenraum.

Die Selektivität amperometrischer Sensoren läßt sich gezielt beeinflussen. Daß in der Technik amperometrisch arbeitende Chemosensoren bisher vorzugsweise für Gase eingesetzt werden, obwohl die Amperometrie auch für die Flüssigkeitsanalyse geeignet ist, liegt an der eingeschränkten elektrochemischen Selektivität. Bei den meist verwendeten wäßrigen Grundelektrolyten stehen gerade ca. 2 V als nutzbares Spannungsfenster zur Verfügung. Innerhalb dieser Spanne werden alle elektrochemisch veränderbaren, d. h. oxidier- oder reduzierbaren Stoffe, deren Anzahl in die Zigaretten geht, unter Stromfluß umgesetzt. Im Idealfall lassen sich in einem voltammetrischen Diagramm maximal zehn Stoffe durch ihre charakteristischen Halbstufenpotentiale getrennt darstellen^[70]. Das Trennvermögen, das sich durch die Wahl des Arbeitselektrodenpotentials im Grenzstrombereich des

dann Impulsmethoden angewendet werden. Die Nachweigrenze amperometrischer Gassensoren ist durch das Rauschen des Grundstroms limitiert. Chemosensoren für den Umweltschutz (NO_x , SO_2 etc.) erreichen aber untere ppm-Bereiche ohne besondere Signalaufbereitung.

2.1.5. Galvanische Sensoren

Die Amperometrie läßt sich auch ohne äußere Hilfsstromquelle durchführen, wenn eine galvanische Kette gebildet wird. Bekanntestes Beispiel ist die sogenannte innere Elektrolyse, bei der man Cu^{2+} -Ionen auf einem Platindrahtnetz reduzierend abscheidet, indem man es mit einem Zinkstab verbindet, der in einer Zinksulfatlösung steht und von der Kupferionenlösung durch ein Diaphragma abgetrennt ist. Treibende Kraft für den Stromfluß, bei dem Zink in Lösung geht und Kupferionen abgeschieden werden, ist auch hier wieder die Differenz der chemischen Potentiale, d. h. die Differenz beider Redoxreaktionen in der elektrochemischen Spannungsreihe. Verbindet man in diesem Beispiel die Zinkelektrode und das Platinnetz über ein äußeres Galvanometer, so erhält man während der Elektrolyse ein Strom/Zeit-Diagramm mit exponentiellem Verlauf. Die Cu^{2+} -Ionen sind quantitativ auf dem Platinnetz abgeschieden, wenn die Stromstärke auf ca. 0.1 % der Ausgangstromstärke gesunken ist. Anstelle der gravimetrischen Auswertung läßt sich in

diesem Fall ohne störende Nebenreaktionen auch die insgesamt geflossene Ladungsmenge (Integral über die Strom/Zeit-Kurve) zur Berechnung der Kupfermenge nach dem Faraday-Gesetz verwenden. Diese coulometrische Arbeitsweise zählt zu den genauesten Absolutbestimmungsmethoden, die keiner Kalibrierung bedürfen. Gerade für das Ziel, intelligente Sensoren zu entwickeln, bietet sich die Coulometrie als elegante Methode an, die leider zu wenig genutzt wird.

Schon vor über 25 Jahren wurde eine coulometrisch arbeitende Meßzelle für SO_2 vorgestellt^[71], die sich inzwischen durch die Fortschritte auf dem Gebiet der elektrochemischen Miniaturzellen in Dünn- oder Dickfilmtechnik gut als Chemosensor einsetzen ließe (Abb. 8). Bei quantitativen Umsätzen entspricht ein leicht messbarer Strom in der Größenordnung von $1 \mu\text{A}$ einem Analytumsatz von nur $10^{-10} \text{ mol s}^{-1}$! Die Selektivität wird hier durch vorgelagerte selektive chemische Reaktionen oder Membranseparationen erreicht. Beides ist heute durch geschickte Schichtenbauweise leicht zu verwirklichen. Inzwischen befindet sich eine derartige „analytische Brennstoffzelle“ auch in Form eines Alkoholmeters (für die Atemanalyse) auf dem Markt. Zusätzlich zur katalytischen Aktivität von Edelmetallektroden können natürlich auch Enzyme zur Selektivitätssteigerung verwendet werden. Das dabei häufig proportional zum Analyten anfallende H_2O_2 ist ebenfalls leicht coulometrisch zu bestimmen.

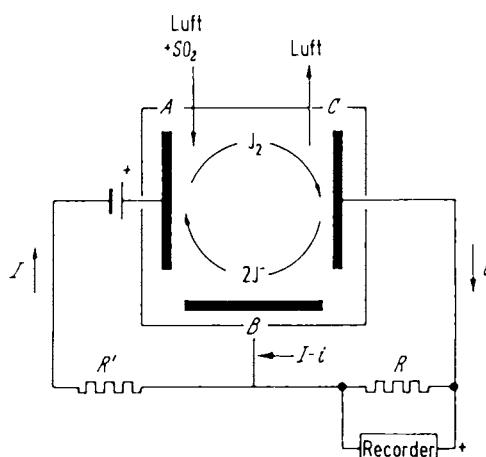


Abb. 8. „Brennstoffzelle“ für SO_2 ; zwischen Elektrode A und B fließt ein Generatorstrom, der freies Iod erzeugt, das spontan an der Elektrode C wieder reduziert wird und bei Abwesenheit von SO_2 zwischen Elektrode B und C einen genau gleich großen Strom erzeugt, der mit dem Recorder gemessen wird. Das Meßgas SO_2 führt stöchiometrisch zu einer verminderten Anzeige. (Für Iod wird hier zur Differenzierung von I das Symbol J benutzt.)

Ebenfalls schon seit Mitte der sechziger Jahre ist eine galvanische Meßzelle zur Bestimmung von Sauerstoff in Lösungen bekannt^[72]. Im Gegensatz zum Clark-Sensor wird bei der Sauerstoffmessung nach Mackereth Blei statt Silber als Anodenmaterial und Silber statt Platin als Kathodenmaterial verwendet. Der entscheidende Vorteil besteht darin, daß jegliche Kalibrierung in sogenannter Null-Lösung (z. B. gesättigter Sulfidlösung) entfällt, da die Elektrode bei Abwesenheit von Sauerstoff keinen Strom erzeugt. Als Innenelektrolyten werden Kaliumhydroxid und Kaliumhydrogencarbonat verwendet.

2.2. Halbleiter-Gassensoren

In Gaswarngeräten werden oftmals Sensoren auf Halbleiterbasis eingesetzt. Das Prinzip beruht hier auf einem Elektronentransfer zwischen Halbleiteroberfläche und adsorbier-ten Gasmolekülen. Aufgrund dieses Ladungsübertritts erhöht oder erniedrigt sich die Anzahl freier Ladungsträger in der Halbleiteroberfläche, woraus dort eine Leitfähigkeitsänderung resultiert, die der Messung zugänglich ist und mit der Anzahl der so reagierenden Gasmoleküle korreliert. Oxidierbare Gase wie Wasserstoff, Schwefelwasserstoff, Kohlenmonoxid und niedere Alkane verringern die Oberflächenleitfähigkeit bei bestimmten n-Typ-Halbleitern (SnO_2 , ZnO etc.), die zwischen 100 und 500 °C betrieben werden. Analog wirken reduzierbare Gase wie Chlor, Sauerstoff, Ozon u.a. auf p-Typ-Halbleiter (NiO , CuO etc.). Der Mechanismus des Elektronentransfers ist noch Gegenstand intensiver For-schung; einen möglichen Mechanismus zeigt Abbildung 9.

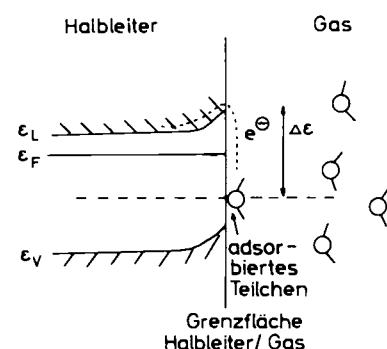


Abb. 9. Mechanismus des Elektronentransfers an der Grenzfläche Halbleiter-Gas. ϵ_V = Energieniveau des Valenzbandes, ϵ_F = Fermi-Energie, ϵ_L = Energieniveau des Leitungsbandes.

Nähert sich ein Gasmolekül der Oberfläche des Halbleiters, wird es zunächst schwach physisorbiert. Im folgenden Schritt geschieht entweder Desorption oder Chemisorption unter Übergang eines Elektrons. Hierbei kommt es zu einer Verbiegung des Valenz- und Leitungsbandes und zusätzlich zu einer veränderten Austrittsarbeit. In Abhängigkeit von Oberflächenbeschaffenheit und -struktur und den Wechselwirkungen zwischen Molekülen und Oberfläche wird eine Teilchensorte bevorzugt. Die Selektivität dieser einfachen Sensoren, die mit Dickfilmtechnologie leicht und preiswert herstellbar sind (siehe Abb. 10), läßt sich unter Anwendung

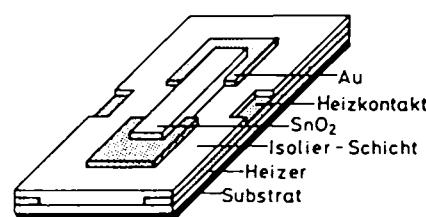


Abb. 10. Aufbau eines SnO_2 -Dickfilm-Gassensors.

von Kenntnissen der heterogenen Katalyse in gewissen Grenzen variieren. Für gezielte Selektivitätsverbesserungen müssen hier die apparativ aufwendigen mechanistischen Studien

der Heterogenkatalyse-Forschung angewendet werden, wenn nicht nach zeitaufwendigen „trial-and-error“-Methoden vorgegangen werden soll. Häufig wird die Halbleiteroberfläche durch Beimengungen von Metallen wie Palladium, Silber oder Platin, die die O_2 -Doppelbindung schwächen sollen, modifiziert. In einem bestimmten Umfang kann die Selektivität noch durch Optimierung der Betriebstemperatur gesteigert werden (Abb. 11). Dennoch ist die Selektivität dieser auf Halbleiterbasis funktionierenden Sensoren oftmals noch unzureichend^[73]. Die Oberflächenbeschaffenheit, die Ladungsträgerdichte, das Fermi-Energieniveau, die Anzahl reaktiver Oberflächenzentren, ja selbst das Ausmaß der Bandverbiegung können durch weitere Partner (Störmoleküle wie Wasser, Katalysatorgifte etc.) beeinflußt werden. Dadurch kann es zu Selektivitätsveränderungen kommen. Derartige Effekte sind bei der Kalibrierung zu berücksichtigen. Zwischen der Kalibrierung und der Analyse darf sich weder die Selektivität noch die Empfindlichkeit (Signal/Einheitskonzentration Analyt) noch der Nullpunkt der Kalibrationsgeraden verschoben haben.

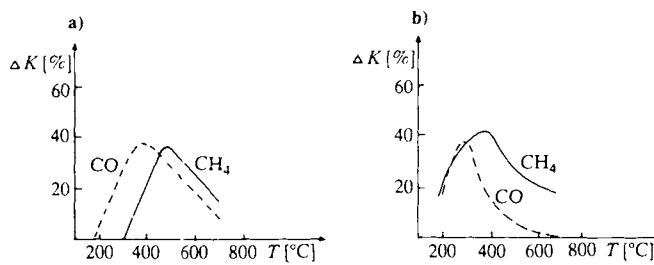


Abb. 11. Einfluß von Temperatur und Pt-Beimischungen auf die Selektivität eines SnO_2 -Gassensors. a) reiner SnO_2 -Sensor, b) SnO_2 -Sensor mit 1% Pt behandelt.

Wegen der einfachen Möglichkeit der Selektivitätsmodulation wird derzeit versucht, ein Sensor-Array zu verwenden, bei dem jeder miniaturisierte Einzelsensor eine unterschiedliche Querempfindlichkeit aufweist. Bei der Analyse von Proben mit Störstoffen ergibt nun jeder Einzelsensor ein unterschiedliches Signal. Durch Kalibrationsmessungen mit jeweils anderen Störkomponentenkonzentrationen sollte durch eine Pattern-Recognition-Analyse eine korrigierende Auswertung gelingen. Bei der Simultananalyse eines Stoffgemisches mit einem derartigen Sensor-Array sollten sich prinzipiell alle Stoffe bestimmen lassen, die das Signal beeinflussen. Für überschaubare und einfache Stoffgemische konnte dies auch gezeigt werden^[74]. Der Analytiker aus der Industriemeßpraxis wird aber Zweifel hegen, ob dies auch bei realen Proben unbekannter und ständig wechselnder Zusammensetzung der Fall ist. Können zwischen Kalibrierung und Messung die Parameter a und e der einfachsten Analysenfunktion (c) konstant gehalten werden? Was muß der Algo-

$$s = a + e \cdot c \quad (c)$$

s = Analysesignal
 a = Achsenabschnitt (Blindwert)
 e = Steigung der Kalibrierfunktion (Empfindlichkeit)
 c = Konzentration des Analyten

rithmus machen, wenn Störstoffe die Sensoren unterschiedlich vergiften oder eine Drift erzeugen? Was geschieht bei

sogenannten Matrixeffekten, die sich dadurch äußern, daß die Empfindlichkeit e von Probe zu Probe schwanken kann?

Tabelle 3 gibt einen Überblick über Materialien, die derzeit zur Herstellung von Sensorelementen für elektrochemische Sensoren von Bedeutung sind.

Tabelle 3. Materialien für selektive Chemosensorelemente.

Sensormaterialien	Beispiele	angezeigter Stoff	Lit.
Gläser	$Li_2O \cdot BaO \cdot SiO_2$ $Na_2O \cdot Al_2O_3 \cdot SiO_2$	H^+ Na^+	[5, 6] [7]
synthetische Polymere	PVC-, Silicon-, PMMA-Membranen [a] mit Weichmachern und entsprechenden Carriern	z. B. K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , NH_4^+ , NO_3^-	[14-16, 34, 36-38]
	Teflon-Membran für Gassensoren	NH_3 , CO_2 , SO_2	[37]
Festkörperionenleiter	LaF_3 ZrO_2 (Lambda-Sonde)	F^- O_2 O_2 Cr	[37] [53, 54] [51, 52] [55]
	TiO_2 , Nb_2O_5 $ZrSiO_4$ $Na_2SO_4 + Ag_2SO_4$ Nasicon [b]	O_2 Si SO_2/SO_3 Na Na^+	[56] [57, 60-64] [65] [66]
Halbleiter	Si , $GaAs$, SiC	oxid. red. Gase	[73, 109-111]
Metallocid- -nitrid- schichten	Al_2O_3 , Si_3N_4 , SiO_2 , TiO_2 als Isolatoren, Elektronenleiter und elektroaktive Materialien	H^+ , H_2 , O_2	[73, 109-111]

[a] Polymethylmethacrylat. [b] $Na_{1-x}Zr_xSi_3P_3O_{12}$.

2.3. Faseroptische Sensoren (Optoden)

Chemische Informationen können auch durch Wechselwirkung elektromagnetischer Strahlung mit dem Analyten in meßbare Signale umgewandelt werden. Spektralanalyse und -photometrie, Fluorimetrie und Lumineszenzmessung sind eingeführte, bewährte Techniken. Ihre Adaption für eine *in-situ*-Analyse mit miniaturisierten Meßsonden, die ähnlich wie Chemosensoren eingesetzt werden können, gelang durch die Anwendung der modernen Lichtleitertechnologie. Im Bereich der Faseroptik wurde hierfür eine neue Klasse von Sensoren entwickelt, die Optoden genannt werden (der Begriff Optroden wird synonym gebraucht)^[75-78]. Diese optischen Sensoren nutzen eine Änderung von Fluoreszenz, Absorption, Chemilumineszenz, Lichtstreuung, Polarisation, Raman-Streuung, Brechungsindex oder Reflexion aus. Die Übertragung des eingestrahlten Lichtes zur Probe erfolgt mit einem Lichtleiter. Die Rückführung des Fluoreszenz- oder Reflexionslichtes zum Detektor kann über denselben oder einen zweiten Arm des Lichtleiters (Y-gegabelter Lichtleiter) geschehen. Den Aufbau eines üblichen faseroptischen Meßsystems zur Lumineszenzmessung, der hier exemplarisch beschrieben werden soll, zeigt Abbildung 12. Das bei einer Messung resultierende AC-Signal wird mit einem Lock-In-Verstärker frequenz- und phasenselektiv verstärkt. Letztere Eigenschaft ermöglicht auch die Erfassung der zeitverzögerten Fluoreszenz. Die Fluoreszenz- und Lumineszenzmessung wird aufgrund ihrer hohen Sensitivität gegenüber anderen optischen Meßmethoden bei Spurenanalysen bevorzugt.

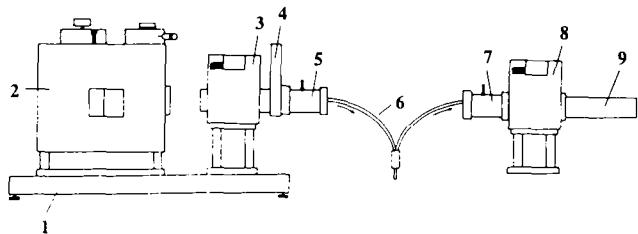


Abb. 12. Faseroptisches Meßsystem zur Fluoreszenzmessung; die Anregungseinheit (2) enthält die Lichtquelle (Xenon-, Halogen- oder Laserlampe), deren emittierte Strahlung durch einen Monochromator (3) über einen Chopper (4) und eine Fokussiereinheit (5) in einen Lichtleiter (6) eingekoppelt wird. Über die Fokussiereinheit (7) und einen zweiten Monochromator (8) gelangt das Fluoreszenzlicht zum Detektor (9), der aus einer Photodiode oder einem Photomultiplier besteht. (1) ist die Grundplatte.

Die Chemilumineszenzmessungen bieten einen zusätzlichen Vorteil, da auf eine externe Lichtquelle verzichtet werden kann. Das Verfahren ist wegen der nur selten auftretenden Chemilumineszenzerscheinungen vor allem auf das System H_2O_2 /Luminol beschränkt.

Der Vorzug faseroptischer Sensoren besteht in der Messung ohne jegliches Referenzsystem, wenn man vom Vergleich der Lichtintensitäten vor und nach dem Durchstrahlen des Probevolumens (I_0/I) oder dem Zweistrahlprinzip zur Kompensation von Intensitätsschwankungen der Lichtquelle absieht. Bei den oben beschriebenen elektrochemischen Sensoren wird stets eine potentialkonstante zweite Elektrode benötigt. Optoden sind leicht zu miniaturisieren, da es entsprechend dünne Lichtleiter (z. B. 0.1 mm Durchmesser) kommerziell gibt. Die Probleme der Strahlungseinkopplung werden allerdings bei zunehmender Miniaturisierung schwieriger. Optoden können auch in komplizierten Matrices wie beispielsweise Blut eingesetzt werden. Elektromagnetische Felder und Temperaturänderungen stören weniger als bei den potentiometrischen Elektroden oder Halbleitersensoren. Nachteilig wirken sich dagegen einfallendes Streu- und Umgebungslicht aus. Oftmals sind die Sensoren entsprechend dem spektralanalytischen Küvettenverfahren, auf dem sie in der Regel beruhen, nur innerhalb eines kleinen Meßbereichs einsetzbar und weisen ähnliche Selektivität auf. Die Nachweisgrenzen sind durch die meist angewendeten geringeren optischen Schichtdicken ebenfalls noch zu optimieren (vgl. Tabelle 4).

Trotz allem ist zu erwarten, daß faseroptische Sensoren aus dem jetzigen Forschungsstadium heraustreten und in Zukunft ihren Platz in der industriellen Anwendung finden werden, wobei sie zuerst die Durchflußküvetten ablösen dürften. Die umfangreichsten Untersuchungen liegen über pH-Optoden vor. Die Technik beruht auf der Immobilisierung eines Indikator-Farbstoffes am Ende des Lichtleiters, so daß pH-Wert-Bestimmungen über Absorptions- oder Fluoreszenzmessungen durchgeführt werden können. Als Indikatoren wurden hier beispielsweise 8-Hydroxypyren-1,3,6-trisulfonat (HPTS) oder auch herkömmliche Farbstoffe wie Eosin und Phenylorange eingesetzt^[79].

Die pH-Optoden bilden auch die Basis für eine Reihe von Gassensoren. So befindet sich beispielsweise bei NH_3 - und CO_2 -Optoden ähnlich wie bei den analogen potentiometrischen Sensoren die pH-Optode in einer geeigneten Innenlösung hinter einer gaspermeablen Membran. Aufgrund der basischen bzw. sauren Eigenschaften der genannten Gase ändert sich der pH-Wert der Innenlösung und steht somit in

Korrelation mit der gesuchten Gaskonzentration. Solche Sensoren sind insbesondere für in-vivo-Anwendungen (Blut, Körperflüssigkeiten, etc.) interessant, da sie im Gegensatz zu elektrochemischen Sensoren keine galvanische Verbindung von spannungsführenden Bauelementen aufweisen.

Ähnliche Einsatzbereiche zeigen sich für die O_2 -Optode, die nach dem Prinzip der direkten Fluoreszenzauslöschung arbeitet. Die mathematische Grundlage hierfür ist durch die Stern-Volmer-Gleichung gegeben^[80]. Die Fluoreszenz der verwendeten Indikatoren wie Decacylen oder Perylen, die am Lichtleiterende immobilisiert sind, wird durch den Sauerstoff geschwächt. Dieser Effekt kann nach Kalibrierung zur O_2 -Bestimmung ausgenutzt werden.

Neue Entwicklungen beruhen darauf, Kenntnisse über den Mechanismus an ionenselektiven Elektroden, die die Selektivität bewirken, auf faseroptische Systeme zu übertragen: Wird z. B. Valinomycin als selektiver K^+ -Carrier zusammen mit einem pH-sensitiven Indikator, der in protonierter Form vorliegt, in einer geeigneten Matrix immobilisiert, so lassen sich Membranen herstellen, die am Ende eines Lichtleiters befestigt werden. Wird der Sensor in eine K^+ -haltige Lösung eingesetzt, so werden die K^+ -Ionen bevorzugt in die Membranphase eindringen (Bildung eines Kalium-Valinomycin-Komplexes). Infolge der Elektroneutralitätsbedingung müssen dementsprechend H^+ -Ionen, als die am leichtesten bewegbaren Ionen, aus der Membranphase austreten, wodurch sich die Absorption bzw. Fluoreszenz des pH-Indikators in der Membran ändert, was leicht meßbar ist^[81].

Abschließend sei bemerkt, daß es zur Zeit auf dem Markt der Optoden nur wenige Anbieter gibt und es sicherlich noch einige Jahre dauern wird, bis faseroptische Meßsysteme ähnlich verbreitet wie die elektrochemischen Sensoren sind.

2.4. Masseanzeigende Transducer

Weniger erforscht sind Chemosensoren, die auf massensensitiven Transducern basieren und bisher nur bei speziellen Anwendungen eingesetzt wurden. Das Meßprinzip beruht auf der Eigenfrequenzverschiebung Δf eines Schwingquarzes bei dessen Massenänderung Δm , die durch die Belegung seiner Oberfläche mit einer Fremdschicht hervorgerufen wird. Die Schwingungsfrequenz liegt üblicherweise im Bereich von 9 bis 14 MHz; für die Selektivität sorgt ein bestimmtes, auf der Oberfläche fixiertes Adsorbens. Mit Phthalocyaninen z. B. lassen sich planare, konjugierte Moleküle und höhere Alkohole selektiv nachweisen; hiermit können Massenänderungen bis hinab zu 10^{-9} g detektiert werden^[82, 83]. Im Vakuum ist für kleine Δm -Werte die Beziehung zwischen Δf und Δm linear und kann mit der Sauerbrey-Gleichung^[84] ausgedrückt werden [Gl. (d)].

$$\frac{\Delta f}{f_0} = -\frac{\Delta m}{m} \quad (d)$$

f_0 = Resonanzfrequenz des unbeladenen Schwingquarzes

m = Masse des unbeladenen Schwingquarzes

Die Eignung von Schwingquarzen für die Gasanalyse ist inzwischen unbestritten. Schwierig ist jedoch die Suche nach selektiven Adsorptionsmitteln für den Analyten sowie die Kompensation des Feuchte-Einflusses. Auch ist zu bemerken, daß die Oberflächenadsorption in der Regel nicht rever-

sibel ist. Potentiell könnten diese Transducer für Biosensoren, die in der Gasphase eingesetzt werden, von Bedeutung sein. Ihr Preis verhindert zur Zeit aber noch ein praktikables Einmal-Meßsystem.

Bei der direkten Anwendung von Schwingquarz-Detektoren in Flüssigkeiten^[85, 86] ohne Trocknung vor der Massenänderungs-Messung muß zusätzlich noch die Schwingungsdämpfung berücksichtigt werden, und man erhält Gleichung (e).

$$\Delta f = f_0^{3/2} \frac{\eta \rho^{1/2}}{\pi \mu_0 \nu_0} \quad (e)$$

η = Viskosität der Flüssigkeit

ρ = Dichte der Flüssigkeit

ν_0 = Schermodul des Quarzes

ρ_0 = Dichte des Quarzes

Nach neuesten Untersuchungen^[87], die sich auf eine exakte coulometrische Kalibrierung stützen, werden ca. 0.4 μm der umgebenden Flüssigkeit beim Schwingen des Quarzes mitbewegt. Dies stellt hohe Anforderungen an die Konstanz aller störenden Parameter. Durch die mitbewegte Flüssigkeitsschicht wird das Massenauflösungsvermögen vermindert. Auch sollte erwähnt werden, daß eine derartige Anordnung auch zur Dichtebestimmung von Lösungen kommerziell angeboten wird. Hier sind Dichteänderungen in der sechsten Stelle nach dem Komma noch detektierbar.

Von Surface-Acoustic-Wave(SAW)-Detektoren spricht man, wenn sich durch geschickte Resonanzbedingungen zwischen zwei Flächen auf einem geeigneten Material akustische Oberflächenwellen erzeugen lassen. Die Schwingungsfrequenz liegt dann bei einigen hundert MHz, und nach der Sauerbrey-Gleichung (d) sollte eine höhere Empfindlichkeit resultieren. Diese kann aber nicht voll ausgeschöpft werden, weil die Massensensitivität zwischen den beiden mäanderförmigen Elektroden nur innerhalb einer sehr dünnen Schichtdicke zu messen ist. Bezuglich der Selektivität gilt das gleiche wie oben.

2.5. Anwendungen von Chemosensoren

Im letzten Jahrzehnt hat der Einsatz von Chemosensoren in der Technik stark zugenommen. Die Entwicklung von Chemosensoren wird weltweit, vor allem jedoch in Japan, forciert. Der Anwendungsbereich klassischer Chemosensoren erstreckt sich von der Prozeßkontrolle/chemischen Verfahrenstechnik über klinisch-chemische Applikationen bis hin zur Haustechnik. Ein besonderes Interesse für Chemosensoren besteht im Umweltschutzbereich, wo aufgrund einer Bewußtseinsänderung und der ständig strenger werdenden Gesetzgebung eine on-line-Überwachung von umweltrelevanten Gasen wie NO_x , SO_2 , NH_3 , CO und CO_2 immer wichtiger wird^[88-93].

Das Spektrum der bisher entwickelten Chemosensoren ermöglicht es in vielen Fällen, aus mehreren Meßverfahren das für den speziellen Einsatz geeignete auszuwählen. Dies wird in Tabelle 4 am Beispiel der Bestimmung von Sauerstoff illustriert.

Den größten Bedarf an Chemosensoren hat derzeit allerdings die Automobilindustrie, die schon 1987 weltweit über zehn Millionen Sauerstoffsensoren (Lambda-Sonden) für

Tabelle 4. Vergleich von Meßverfahren zur Bestimmung eines einzigen Stoffes (am Beispiel des Sauerstoffs).

Funktionsweise des Sensors	Prinzip	Meßmedium	Meßbereich
1. Amperometrie (nach Clark)	amperometrische Anordnung mit Gasmembran	Flüssigkeit, Gas	0.1 ppm 100 Vol.-%
2. Potentiometrie (Prinzip der Lambda-Sonde)	O_2 -Konzentrationskette mit Festkörperionenleiter bei erhöhter Temperatur	Gas	1-100 Vol.-%
3. Optisch	z. B. Fluoreszenzauslösung oder -schwächung des immobilisierten Farbstoffes	in Flüssigkeiten gelöster Sauerstoff	0.01 ppm gesättigte Lösung
4. Paramagnetisch	Paramagnetismus von O_2 verdrängt Hantelwaage aus Magnetfeld	Gas	0.1-100 Vol.-%

die Regelung der Betriebsbedingungen des Drei-Wege-Katalysators benötigte.

Ein ähnlich großer Bedarf besteht an Halbleitersensoren auf der Basis von SnO_2 für oxidierbare Gase wie CO , NO_x , CH_4 , die vorwiegend in Überwachungsgeräten (Alarmmeldern) in Tiefgaragen, in Tunnels, im Kohlebergbau und bei Emissionsmessungen in der Industrie Verwendung finden. Hier ist die schlechte Selektivität kein großer Nachteil, sondern eher ein Sicherheitszuschlag. Auch die klassischen elektrochemischen Sensoren sind in der Meß- und Regeltechnik weit verbreitet, insbesondere die pH-Glaselektrode mit einer weltweiten Produktion von rund einer Million Stück pro Jahr^[94].

Für die klassischen potentiometrischen Sensoren liegt der größte Einsatzbereich in der Medizin- und Umweltmeßtechnik. So gibt es in der klinischen Chemie viele Applikationen von ionenselektiven Sensoren in biologischen Matrices^[95-99]. Seit langem haben sie sich bei der Bestimmung einzelner Parameter im Blut, z. B. Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , bewährt. Im Gegensatz zu anderen Untersuchungsmethoden wie der Atomabsorptionsspektroskopie (AAS), die stets die Totalionenkonzentration, d. h. die Konzentration der freien und gebundenen Ionen, erfaßt, ermöglichen sie eine direkte Messung der Aktivität des freien Ions, d. h. der Wirkkonzentration – diese allein ist für die medizinische Diagnostik relevant^[100]. Die Bestimmung von Fluorid in Urin und Blut gelingt z. B. mit einer LaF_3 -Einkristallelektrode, die eine extrem hohe Selektivität für Fluorid aufweist. Die Kenntnis der Fluoridkonzentration ist wichtig bei der medikamentösen Behandlung von Osteoporose und Niereninsuffizienz sowie bei der Bestimmung des F^- -Gehaltes nach der Anwendung von Narkotika^[97].

Die Überprüfung von Cyanid-Spuren im Blut, die bei der Behandlung von Hypertonie mit Natriumpentacyanonitrosylferrat(II) (Natriumnitroprussid) erforderlich ist, kann ebenfalls mit einer ionenselektiven Elektrode erfolgen.

Iodid- und bromidselektive Sensoren sind von klinisch-toxikologischem Interesse bei radioimmunologischen Untersuchungen der Schilddrüsenfunktion mit dem Isotop ^{131}I bzw. der Verabreichung von bromhaltigen Schlafmitteln. Hier kann es infolge metabolischer Dehalogenierung und Kumulation der Br^- -Ionen oftmals zu Intoxikationen kommen.

Bei der Behandlung von manisch-depressiven Patienten ist die Kontrolle des Lithiumgehaltes von besonderer Bedeutung, die ebenfalls mit ionenselektiven Flüssigmembran-Elektroden, bestehend aus PVC und z. B. dem Lithium-Ionophor ETH 1810 (*N,N*-Dicyclohexyl-*N,N*'-diisobutyl-*cis*-cyclohexan-1,2-dicarboxamid), ermittelt werden kann.

Die transcutane Messung des Blut- CO_2 -Partialdrucks (d. h. die nicht invasive Messung durch die Haut) wird vorzugsweise bei Operationen, in der Amputationschirurgie und in der Sportmedizin durchgeführt. Das Funktionsprinzip des hierfür verwendeten Sensors ist analog dem anderer potentiometrischer Gassensoren, z. B. für NH_3 und SO_2 . Im wesentlichen handelt es sich um eine pH-Meßkette aus einer Glaselektrode und einer Ag/AgCl -Referenzelektrode. Das Gas diffundiert durch eine semipermeable Membran in einen Zwischenelektrolyt, dessen pH-Wert sich entsprechend dem Gaspartialdruck verändert und somit von der pH-Meßelektrode erfaßt werden kann. Eine Skizze des Sensors ist in Abbildung 13 dargestellt.

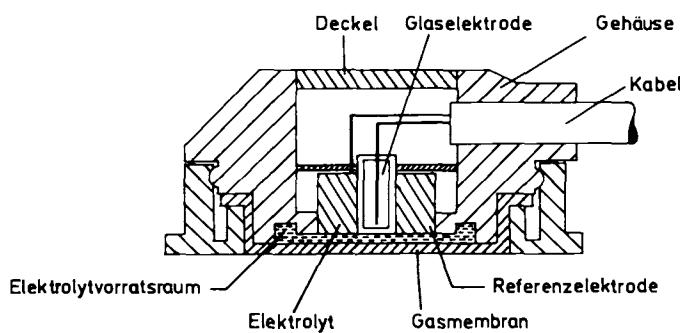


Abb. 13. p_{CO_2} -Gassensor für medizinische Anwendungen [95]: der Sensor ermöglicht die transcutane Messung von CO_2 .

Die beschriebenen Sensoren werden bisher überwiegend bei in-vitro-Messungen eingesetzt; Ziel der Forschung sind Katheder-Einstichelektroden für in-vivo-Messungen. Abbildung 14 zeigt ein Beispiel für eine amperometrisch arbeitende p_{O_2} -Katheterelektrode^[101].

Die ISFETs (ionenselektiven Feldeffekttransistoren) konnten sich hauptsächlich in der Medizintechnik etablieren. Kommerziell erhältlich sind bisher pH-ISFETs, die zur Aciditätsbestimmung in Blut und Serum, dessen pH-Wert normalerweise 7.41 beträgt, sowie anderen Körperflüssigkeiten verwendet werden. Ein weiterer technischer Anwendungsbereich besteht z. B. in der Photoindustrie; dort können ISFETs bei der Prozeßkontrolle eingesetzt werden, um wich-

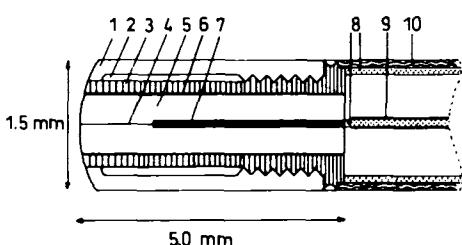


Abb. 14. Amperometrisch arbeitender p_{O_2} -Katheterelektrode [101]. (1) Teflonmembran und Kappe, (2) Elektrolytraum, (3) Ag/AgCl -Anode, (4) Pt-Kathode, (5) Glas, (6) Araldit (Epoxydharz), (7) Pt-Draht, (8) Cu-Abschirmung, (9) Isolation, (10) Schlauch.

tige Parameter wie die H^+ - und Ag^+ -Konzentration bei der Filmherstellung konstant zu halten^[102].

Ektachem-Filmelektroden (vgl. Abb. 4) finden als Einwegsensoren im medizinischen Bereich Verwendung. Kommerziell hierzu angeboten wird das Kodak-DT-60-Ektachem-System^[49, 50, 103], mit dem Ionen wie K^+ , Na^+ , Cl^- bestimmt werden können. Ein derartiger Kalium-Filmsensor ist in Abbildung 15 gezeigt.

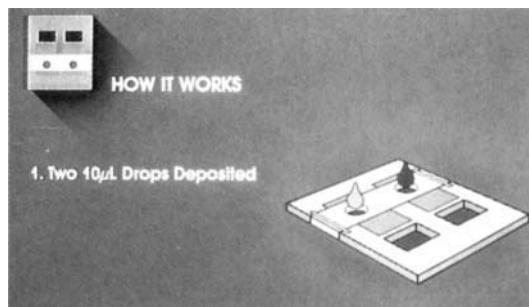


Abb. 15. Kodak-DT-60-Ektachem-System für die Bestimmung von Kalium.

Im Umweltschutz können potentiometrische Sensoren sowohl für Laboruntersuchungen als auch im on-line-Betrieb eingesetzt werden. Ein geeignetes Anwendungsgebiet ist die kontinuierliche Überwachung des NO_3^- - und NH_4^+ -Gehaltes im Grund- und Trinkwasser. Dadurch läßt sich eine Belastung des Wassers frühzeitig erkennen, so daß Gegenmaßnahmen rechtzeitig ergriffen werden können. Abbildung 16 veranschaulicht ein Meßdiagramm von einem Sensor zur Überwachung von Nitrat im Trinkwasser. Die Überschreitung des gesetzlich festgeschriebenen Höchstwertes von 50 mg L^{-1} Nitrat (50 ppm) kann darauf sofort erkannt werden. Dabei wird die Fließinjektionsanalyse (FIA) angewendet, da aufgrund der Selektivität des Sensors auf eine vorherige chromatographische Trennung verzichtet werden kann^[104].

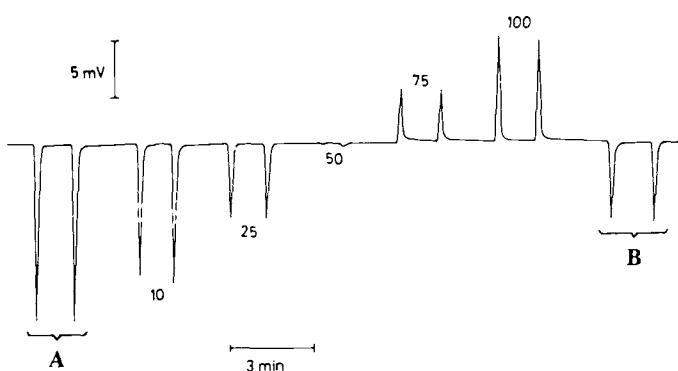


Abb. 16. Meßdiagramm zur NO_3^- -Überwachung im Trinkwasser. Grundelektrolyt: $50 \text{ ppm } \text{NO}_3^-$ in $0.01 \text{ M } \text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; Fluß: 3.0 mL min^{-1} ; Probe menge: 0.3 mL in $0.01 \text{ M } \text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Die Zahlen an der Kurve bedeuten mg L^{-1} Nitrat. A: bidestilliertes Wasser, B: Leitungswasser.

In der Prozeßtechnik können zur Überwachung der Reinheit des Kesselspeisewassers von Dampfturbinen ionenselektive Sensoren für Ca^{2+} , Na^+ , NH_4^+ oder Cl^- eingesetzt werden^[105], wobei mit der Na-Glaselektrode noch ppb-Mengen erfaßt werden können. Diese Parameter sind im Hinblick auf

Tabelle 5. Charakteristika einiger ausgewählter Sensoren.

Sensor	Spezies	Meßbereich	Nachweisgrenze	Probenart	Lebensdauer
ISFET	H^+	pH 2 - 12	$10^{-13} \text{ mol L}^{-1}$	flüssig pastös	einige Wochen
ChemFET	Na^+	$1 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	$10^{-5.5} \text{ mol L}^{-1}$	flüssig	einige Wochen
ISE	H^+	pH 0 - 14	$10^{-14} \text{ mol L}^{-1}$	flüssig	Jahre
	Na^+	$10^{-1} \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	$10^{-5.5} \text{ mol L}^{-1}$	flüssig	Jahre
	F^-	$10^0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	$3 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$	flüssig	Jahre
	K^+	$10^{-1} \cdot 10^{-5.5} \text{ mol L}^{-1}$	$10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	flüssig	6 Monate
	NO_3^-	$10^0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	$5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	flüssig	6 Monate
Filmelektroder	Na^+	$10^{-5} \cdot 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$	$10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	flüssig	Einweg-sensor
	K^+	$10^{-5} \cdot 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$	$10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	flüssig	
Clark-Sensor	O_2	1 - 200 ppm	1 ppm	O_2 in Lösung	3 - 5 Jahre
Lambda-Sonde	O_2	1 - 100 Vol.-%	0.5 Vol.-%	gasförmig	5 - 6 Jahre
Gaswarngeräte	CO	1 - 100 Vol.-%	1 Vol.-%	gasförmig	mehrere Jahre
	H_2	1 - 100 Vol.-%	1 Vol.-%	gasförmig	
	Alkane	1 - 100 Vol.-%	1 Vol.-%	gasförmig	
Faseroptisch (Fluoreszenz)	K^+	$10^{-3} \cdot 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$	$5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	flüssig, O_2 in Lösung	Wochen bis Monate
	O_2	$10^{-3} \cdot 10^0 \text{ mol L}^{-1}$	$10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$		

Kesselsteinablagerungen sowie Turbinenkorrosion von entscheidender Bedeutung.

Eine Zusammenstellung wichtiger Parameter wie Meßbereich, Lebensdauer und Nachweisgrenze der hier beschriebenen Sensoren zeigt Tabelle 5. Auch in nichtwässrigen Medien können Sensoren, die nicht auf PVC-Membranen basieren,

keit, Empfindlichkeit zu optimieren. Beispiele für solche Methoden sind elektrochemische Impedanzspektroskopie^[108], Tracer-Studien und Oberflächenuntersuchungen^[109 - 111] wie Sekundärionen-Massenspektrometrie (SIMS), Auger-Elektronenspektroskopie (AES) und Elektronenspektroskopie für die chemische Analyse (ESCA). Mit Hilfe dieser Methoden lässt sich zugleich auch ein tieferer Einblick in die Funktionsmechanismen der stofferkennenden Sensorelemente gewinnen.

Zur Zeit ist in der Chemosensorik ein Wandel zu beobachten, der vom klassischen Bauprinzip der Sensoren (elektrodenähnlichen Gebilden) wegführt, hin zu einer Miniaturisierung unter Integration von Erkennungssystem und Signalverarbeitung^[112, 113]. Hierbei kann auf die Technologie der Mikroelektronik zurückgegriffen werden. Neben der Materialeinsparung kann diese Technologie bei Massenproduktion auch zu deutlichen Preisreduzierungen und teilweise sogar zu verbesserten Sensoreigenschaften führen. Nach diesen Techniken gefertigte physikalische Sensoren sind bereits für zahlreiche Parameter bekannt, während derartige chemische Sensoren gerade auf dem Markt erscheinen.

Die Dickschichttechnik bietet sich alternativ für die Integration von Sensorerkennungssystem und nachfolgender Signalverarbeitung auf einem Chip an und ist auch von mittelständischen Betrieben nachvollziehbar. Ein vom Batelle-Institut entwickelter potentiometrisch arbeitender Wasserstoffsensor in Dickschichttechnologie ist in Abbildung 17 gezeigt.

Tabelle 6. Kurzübersicht kommerziell erhältlicher Sensoren.

Lieferfirma	Anzeige von	Meßbereich	Einsatzbereich
AEG, NO _x -Monitor	NO _x	0 - 600 ppm	Kfz-Abgase, Rauchgase
MSI (Dräger), Gasanalysecomputer	O ₂	0 - 20.9 %	
	CO	0 - 1500 ppm	
	SO ₂	0 - 1500 ppm	Rauchgase
	NO	0 - 1000 ppm	
	NO ₂	0 - 200 ppm	
Unitronic (Figaro), Gas-Monitor	CH ₄	500 - 10000 ppm	
	C ₂ H ₆	500 - 10000 ppm	Gaswarngeräte (Camping)
	C ₃ H ₈	500 - 10000 ppm	
	CO	50 - 1000 ppm	Gaswarngeräte
	NH ₃	30 - 300 ppm	(Garage, Tunnel)
	H ₂ S	5 - 100 ppm	Gaswarngerät
	H ₂ O	0 - 100 %	Feuchte
Transducer Research Inc.	NO ₂	10 ppb - 50 ppm	
Gas-Monitor	H ₂ S	0 - 1000 ppm	Gaswarngeräte
	CO	0 - 1000 ppm	
Bran & Lübbe, Ionometer	Na ⁺	0 - 20 ppb	
	Cl ⁻	0 - 100 ppb	Qualitätskontrolle, Grenzwertüberwachung von Flüssigkeiten
	NH ₄ ⁺ /NH ₃ ⁺	0 - 10 ppm	
	F ⁻	0 - 10 ppm	
	S ²⁻	0 - 30 ppm	

beschränkt eingesetzt werden. So lassen sich Verunreinigungen in Erdölrohstoffen nachweisen, die eine nachteilige Wirkung auf den Raffinationsprozeß haben^[106]. Eine Auswahl kommerziell erhältlicher Sensoren ist in Tabelle 6 wiedergegeben^[107].

2.6. Entwicklungstendenzen

Es sollte nicht übersehen werden, daß die meisten Sensor-Entwicklungen bisher mehr oder weniger empirisch erfolgten. Inzwischen ist man bestrebt, durch modernste Untersuchungsmethoden gezielt bestimmte Parameter der Sensorelemente wie Selektivität, Stabilität, Dynamik, Reproduzierbar-

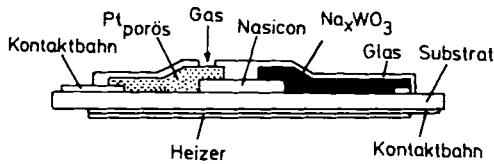


Abb. 17. Wasserstoffsensor in Dickschichttechnologie [113] (siehe Text).

Als sensitives Material wird Nasicon ($Na_{1+x}Zr_2Si_xP_{3-x}O_{12}$) verwendet, das als Festkörperionenleiter bei erhöhter Temperatur auf Wasserstoff anspricht, bei Raumtemperatur und in Lösungen aber ein guter Na^+ -Sensor ist. Dieser mit Nasicon gefertigte Sensor ist derzeit einer der wenigen kommerziell erhältlichen Sensoren in Dickschichttechnologie.

3. Biosensoren

Wird die Sensitivität der Chemosensoren mit der Selektivität der biologischen Erkennung im Sensorelement verbunden, so gelangt man zu den Biosensoren. Diese erfolgversprechende Kombination hat in den letzten Jahren zu verstärkten Forschungsanstrengungen geführt, was auch aus dem rapiden Anstieg an Publikationen auf diesem Gebiet sowie aus dem Erscheinen der ersten Monographien^[114, 115] zu ersehen ist. Es haben sich mittlerweile mehrere Biosensor-Prinzipien etabliert, bei denen die biologischen/biochemischen Erkennungssysteme mit den unterschiedlichsten Chemosensoren gekoppelt wurden. Obwohl die Biosensoren bisher nur in der Medizintechnik eine gewisse kommerzielle Rolle spielen, ist abzusehen, daß sie in Zukunft auch auf anderen Gebieten, z. B. in der Umwelt- und Prozeßtechnik, eingesetzt werden. Aus diesem Grund soll im folgenden auf relevante Entwicklungen eingegangen werden.

Enzymatisch arbeitende Biosensoren gehören zur ältesten Generation dieser Sensor-Kategorie; hier werden selektive chemische Reaktionen unter Enzym-Katalyse genutzt. Die betreffenden Enzyme werden zweckmäßig im oder am Sensorelement immobilisiert und können dadurch mehrfach verwendet werden. Leider ist die Haltbarkeit solcher immobilisierter Enzyme zur Zeit noch begrenzt; die Lebensdauer bei Raumtemperatur und unter Anwendungsbedingungen liegt hier je nach Enzym und Immobilisierungstechnik zwischen wenigen Tagen und einigen Monaten. Gekühlt und gefriergetrocknet behält ein immobilisiertes Enzym seine Aktivität nahezu unbegrenzt.

Immunosensoren bilden eine weitere Klasse von Biosensoren, die ein anderes Prinzip nutzen, nämlich die selektive Ankopplung eines Antigens an einen Antikörper. Diese spezifische Biokomplexierung läßt sich auf verschiedene Weisen zur Messung von jeweils einem der beiden Reaktanten heranziehen. Für die Sensorentwicklung bedeutsam sind Methoden, die hier anders arbeiten als beim Radio-Immuno-Assay (RIA), entweder mit dem Enzym-Immuno-Assay (EIA) unter Verwendung verschiedener Detektionsprinzipien (Photometrie, Amperometrie, Surface Plasmon Resonance) oder über Direktpotentiometrie.

Einige Entwicklungen arbeiten ohne isolierte Biomoleküle, d. h. bei den enzymatischen Biosensoren werden die biologischen Materialien wie intakte Zellkulturen, Gewebechnitte oder Mikroorganismen direkt ohne Reinigung verwendet; bei den Immuno-Sensoren nimmt man entsprechend intakte Rezeptoren, Rezeptorstrukturen oder rekonstitutionierte Einheiten.

Da die Entwicklung von Biosensoren auf der der Transducer oder Chemosensoren aufbaut, sind Biosensoren noch nicht so ausgereift, und nur wenige sind zur Zeit kommerziell verfügbar. Dennoch lassen sich große Fortschritte in jeder der Biosensor-Klassen feststellen.

3.1. Mono-Enzym-Sensoren

Die zuerst entwickelten und bekanntesten Biosensoren sind die Mono-Enzym-Sensoren. Hier wird ein Enzym mit einem optischen oder elektrochemischen Chemosensor, der einen Reaktionspartner des Substrats oder ein Reaktionsprodukt selektiv erfaßt, gekoppelt. Schon bei den ersten En-

zym-Elektroden in den sechziger Jahren gingen die Entwicklungen dahin, das Enzym zu immobilisieren. Obwohl die Immobilisierungstechnik für die Eigenschaft des Biosensors entscheidend ist, soll an dieser Stelle nicht näher darauf eingegangen werden. Im Grunde ist die Situation ähnlich wie bei den Bioreaktoren: Man ist an einer hohen Oberflächenaktivität bei zugleich verlängerter Lebensdauer interessiert. Entsprechend werden bei den Biosensoren analoge Immobilisierungstechniken angewandt^[116-120]. Es sei aber nicht verschwiegen, daß viele Techniken noch weit davon entfernt sind, reproduzierbare Ergebnisse zu liefern. Viele Vorschriften sind nach dem „trial-and-error“-Prinzip entstanden; ein Durchbruch in Richtung dauerhafter Immobilisierung würde die viele Nachteile der Biosensoren beseitigen.

Als eine Art Immobilisierung kann auch die Modifizierung des Coenzyms Nicotinamidadenindinucleotid (NAD⁺) geschehen werden^[121, 122]. Durch Molekulargewichtsvergrößerung von NAD⁺ mit Polyethylenglykol (PEG) zu PEG-NAD⁺ ist es möglich, das Coenzym hinter Dialysiermembranen zu immobilisieren und so einer mehrfachen Verwendung – nach Coenzym-Recycling – zugänglich zu machen.

In jüngster Zeit sind chemisch voraktivierte Membranfilter zur einfachen und schnellen Enzym-Immobilisierung auf dem Markt erschienen. Hiermit könnte wegen der unproblematischen Arbeitsweise ein Durchbruch bezüglich der Lagerfähigkeit von Biosensoren gelingen. Das Einsetzen einer frisch mit Enzym belegten Filtermembran in den Sensor kurz vor der Messung ist angesichts der gewaltigen Vorteile der selektiven Messung in kurzer Zeit ein zumutbarer Aufwand.

3.1.1. Elektrochemische Biosensoren

Die Entwicklungen von Mono-Enzym-Biosensoren mit verschiedenen Transducern beschränkten sich in der Vergangenheit hauptsächlich auf elektrochemische Sensoren. Diese Situation hat sich inzwischen durch die Entwicklung neuartiger Optoden sowie der Technik der Oberflächenplasmonresonanz etwas geändert. Die Biosensoren mit elektrochemi-

Tabelle 7. Amperometrische Biosensoren.

Substrat	Enzym	Produkte	Meßbereich	Lit.
Alkohol Malat Formiat	Dehydrogenasen	NADH	10-150 mmol L ⁻¹ 5 × 10 ⁻⁶ -100 × 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹	[121, 124]
Cholin	Cholin-Oxidase	H ₂ O ₂	500 mmol L ⁻¹ [a]	[125]
Ethanol	Alkohol-Oxidase	H ₂ O ₂	10 mg L ⁻¹ [a]	[114]
Formaldehyd	Formaldehyd-Dehydrogenase	NADH	10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ [a]	[126]
Glucose	Glucose-Oxidase	H ₂ O ₂	0-7 g L ⁻¹	[127-135]
Glutamin	Glutaminase, Glutamat-Oxidase	H ₂ O ₂	0-25 mmol L ⁻¹	[136]
Glycerin	Glycerin-Dehydrogenase	NADH, O ₂		[137]
Hypoxanthin	Xanthin-Oxidase	H ₂ O ₂	4 × 10 ⁻⁶ -180 × 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹	[138, 139]
Lactat	Lactat-Oxidase	H ₂ O ₂	1-40 mmol L ⁻¹	[114]
Oligo-saccharide	Glycoamylase, Glucose-Oxidase	H ₂ O ₂	0.1-2.5 mmol L ⁻¹	[140]
Phenol	Polyphenol-Oxidase	Chinon		[125]
anorg. Phosphor	Nucleosid-Phosphorylase	O ₂		[141]

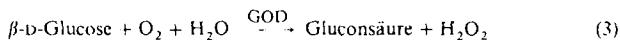
[a] Hier nur Werte der Obergrenze bekannt.

schen Transducern bleiben aufgrund der Art der Reaktionsprodukte der enzymatischen Reaktionen im wesentlichen auf zwei Meßmethoden, nämlich Amperometrie und Potentiometrie, beschränkt.

Amperometrische Biosensoren: Den zahlenmäßig größten Anteil am Forschungsgebiet haben die amperometrischen Biosensoren. Tabelle 7 gibt einen kurzen, sicherlich nicht vollständigen Überblick über die vielfältigen Nutzungsmöglichkeiten der klassischen Amperometrie bei Biosensoren.

Amperometrische Transducer setzen Reaktionspartner oder Produkte der jeweiligen enzymatischen Reaktion direkt reduktiv oder oxidativ um; der dabei fließende Strom wird gemessen und ermöglicht aufgrund der Stöchiometrie einen Rückschluß auf die umgesetzte Substratmenge. Wie aus Tabelle 7 ersichtlich, hat die schon in Abschnitt 2.1.4 beschriebene Sauerstoff-/Wasserstoffperoxid-Elektrode hier den größten Anteil, da bei vielen enzymatischen Reaktionen (z. B. denen der Oxygenasen) Sauerstoff verbraucht oder produziert wird. Dieser O_2 -Verbrauch oder auch die H_2O_2 -Produktion werden mit der O_2 -Elektrode gemessen.

Häufig ist in diesem Bereich der Entwicklungen der Glucosesensor vertreten, der auf der vom Enzym Glucose-Oxidase (GOD) katalysierten Reaktion (3) basiert.



Bei dieser selektiven Reaktion bieten sich die Konzentrationsänderungen von drei Substanzen zur Umsatzmessung an:

- 1) die Abnahme der Cosubstrat-Konzentration (O_2 -Abnahme);
- 2) die Zunahme der H_2O_2 -Konzentrationen und
- 3) die Zunahme der H^+ -Konzentration; H^+ entsteht durch Dissoziation der Gluconsäure.

Alle drei Wege sind beschritten worden.

Die Entwicklungen auf dem Gebiet der Glucosemessung sind am weitesten gediehen, was bei den großen Forschungsanstrengungen (etwa die Hälfte aller Biosensor-Publikationen beschäftigen sich mit der Glucosemessung) nicht verwunderlich; allerdings ist der für die Medizintechnik erwünschte implantierbare Glucosesensor immer noch nicht in Sicht. Für Implantate ist eine Lebensdauer von einigen Jahren gefordert, weil die notwendige Operation in kürzeren Zeitspannen eine unzumutbare Belastung für die Patienten wäre. Die Lebensdauer des Enzyms GOD in synthetischen Glucoselösungen betrug bisher längstens etwa hundert Tage^[123]. Probleme durch den Cosubstrat-Charakter – die O_2 -Menge limitiert den Meßbereich –, durch Produkt-Inhibierung, durch den möglichen Angriff von Proteasen auf das Enzym, durch Diffusionslimitierung wegen Einkapselung der Implantate etc. erschweren den Einsatz.

Weitere amperometrische Biosensoren basieren auf der Detektion eines Coenzymes. In weit über hundert enzymatischen Reaktionen fungiert NAD^+ als Coenzym. Eine direkte elektrochemische Reduktion von NAD^+ oder Oxidation der reduzierten Form NADH gelingt zwar^[142, 143], jedoch geht man wegen der recht hoch anzulegenden Überspannung (+ 0.7 – + 1.0 V vs. Ag/AgCl) dazu über, beide mit Hilfe von Elektronenüberträgern (Mediatoren) zu bestimmen. Das Funktionsprinzip zeigt Abbildung 18^[144–147]. Analoges gilt für das Coenzym $NADP^+$.

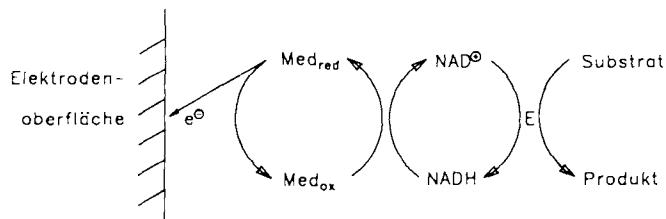


Abb. 18. Mediator-modifizierte amperometrische Enzymelektrode.

Als Mediatoren werden reversible Redoxsysteme mit hohen Austauschstromdichten, häufig Redox-Farbstoffe wie Methylenblau und Thionin oder auch modifizierte Ferrocene und Hexacyanoferrate eingesetzt. Der Vorteil der Mediatoren ist bekannt: Sie reagieren in homogener Lösung ohne große kinetische Hemmung mit dem Coenzym NAD^+ und werden ihrerseits elektrochemisch reversibel und bei deutlich niedrigerem Potential als NAD^+ an der Elektrode umgesetzt. Durch das niedrigere Arbeitselektrodenpotential verspricht man sich eine geringere Störung von ebenfalls elektrochemisch umsetzbaren Störstoffen in der Probe.

Auch Ferrocene wurden eingesetzt, um den direkten Elektronentransfer zwischen Enzym und Elektrode zu vermitteln. Ein modifiziertes Ferrocen dient als Mediator zwischen immobilisierter Glucose-Oxidase und einer Graphitelektrode^[148]. Dieser Glucosesensor, vom Cranfield Institute of Technology entwickelt, ist O_2 -unabhängig, da das Ferrocen den Sauerstoff als Cosubstrat ersetzt. Dieser Sensor eignet sich daher auch für anaerobe Medien (Fermenter). Problematisch ist im Zusammenhang mit den Mediatoren ihre Immobilisierung, welche gut genug ist, um den Mediator nicht mit der Zeit vom Transducer zu lösen, geht meist mit starker Desaktivierung des Mediators einher.

Potentiometrische Biosensoren: Biosensoren mit potentiometrischem Transducer können überall dort aufgebaut werden, wo Protonen im Verlauf der enzymatischen Reaktion entstehen oder verbraucht werden. Sie basieren größtenteils auf einer pH-Elektrode. Dies wird aus Tabelle 8 ersichtlich, welche einen kurzen Überblick über die Möglichkeiten potentiometrischer Biosensoren gibt.

Die pH-Messung lässt sich auch für die schon bei den amperometrischen Biosensoren beschriebene Gluconäureumsetzung (3) anwenden. Hierbei wird die pH-Änderung, die durch die Bildung von Gluconsäure hervorgerufen wird, gemessen. Die in Tabelle 8 aufgeführte Bestimmung von Fetten über die Messung der pH-Änderung durch die entstandenen Fettsäuren ist zwar noch in der Entwicklung^[151], erscheint aber vielversprechend, zumal die Anwendungsmöglichkeiten in der Lebensmitteltechnologie vielfältig sind. Es sind mittlerweile stabile Lipasen isoliert worden, die sogar die Fettbestimmung in organischen Lösemitteln erlauben. Bei allen Biosensoren, die über eine pH-Wert-Änderung arbeiten, ergibt sich eine starke Abhängigkeit von der Pufferkapazität der Probelösung. Diese Abhängigkeit kann vermindert werden, wenn die Reaktionszone mit einer lipophilen Schicht oder Membran vom Puffersystem abgetrennt wird. Im Gegensatz zu amperometrischen Sensoren, die den angezeigten Stoff beim Meßvorgang verbrauchen und bei Eiweißablagerungen auf der Oberfläche ein verminderter Signal zeigen, wird bei den potentiometrischen Sensoren durch diesen Ef-

Tabelle 8. Potentiometrische Biosensoren.

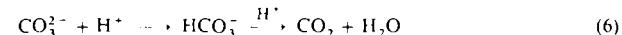
Substrat	Enzym	Produkte	Transducer	Meßbereich	Lit.
Aspartam	L-Aspartase	NH ₃	NH ₃ -Gaselektrode	0.1 - 0.6 mmol L ⁻¹	[149]
Fette	Lipase	Fettsäure	pH-Elektrode	5 × 10 ⁻⁶ - 50 × 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹	[150, 151]
Glucose	Glucose-Oxidase	Gluconsäure	pH-Elektrode (pH-ISFET)	0.1 - 2 g L ⁻¹	[152]
Harnstoff	Urease	NH ₄ ⁺ , CO ₂	NH ₄ ⁺ -Elektrode	0.01 - 10 mmol L ⁻¹	[153 - 155]
			pH-Elektrode		
			CO ₂ -Gassensor		
Nitrite	Nitrit-Reduktase	NH ₄ ⁺	NH ₄ ⁺ -Sensor	10 ⁻³ mol L ⁻¹	[156, 157]
Penicillin	Penicillinase	H ⁺	pH-Elektrode	0.2 - 70 mmol L ⁻¹	[158]
Sulfate	Sulfat-Reduktase	HS ⁻	Ag ₂ S-ISE		[159]

fekt nur die Ansprechzeit, nicht aber die Signalgröße beeinflusst, da hier verbrauchslos gemessen wird. Dieses kann bei Implantationen entscheidend sein.

Interessant für die technologische Herstellung und Verwendung von Süßstoffen ist die Umsetzung von Aspartam durch das Enzym L-Aspartase. Das entstehende NH₃ lässt sich mit der bekannten NH₃-Gas-Elektrode bestimmen. Eine weitere Anwendung der NH₃-Gas-Elektrode wird schon seit einiger Zeit erfolgreich durchgeführt: Die Harnstoffbestimmung im Urin mit dem Enzym Urease. Die enzymatische Harnstoff-Hydrolyse [Reaktion (4)] ist, wie die Glucose-Oxidation, ein Beispiel für die Einsatzmöglichkeit verschiedener Chemosensoren als Transducer.



In wässriger Lösung ergeben sich anhand der Reaktionsprodukte pH-abhängige Gleichgewichte (5) und (6), die zu



weiteren Stoffen führen, für die Transducer vorhanden sind. Für die beiden Reaktionsprodukte, Ammonium- und Carbonat-Ion, sind potentiometrische ionenselektive Elektroden (ISE) vorhanden. Des weiteren kann das je nach pH der Reaktionszone entstehende NH₃ mit der NH₃-Gas-Elektrode und Kohlendioxid mit einer entsprechenden CO₂-Gas-Elektrode detektiert werden^[160]. Solch ein Harnstoff-Sensor lässt sich durch eine einfache Tripel-Membran-Anordnung, wie in Abbildung 19 gezeigt, realisieren.

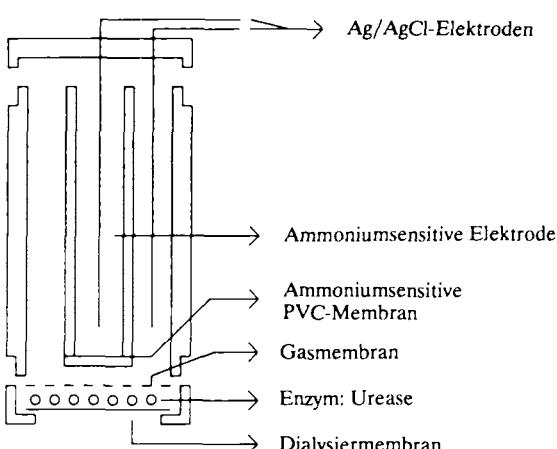


Abb. 19. Tripel-Membran-Aufbau z. B. für einen Harnstoff-Sensor.

Zu den bei Biosensoren angewendeten elektrochemischen Transducer-Prinzipien zählt auch die Konduktometrie, da der Ablauf einer enzymatischen Reaktion auch über eine Widerstandsänderung der Lösung gemessen werden kann. Eine grundlegende Schwierigkeit besteht neben der Unselektivität darin, daß sich nur der Gesamtwiderstand messen lässt, d. h. die durch das Einbringen einer ionenhaltigen Matrix hervorgerufene Änderung wird gemeinsam mit der reaktionsbedingten Änderung gemessen. Eine Differenzmethode wird von Watson et al.^[161] vorgestellt. Konduktometrische Biosensoren für Harnstoff und D-Aminosäuren werden von Rechnitz et al.^[162] beschrieben.

3.1.2. Biochips

Die neuen mikroelektronischen Transducer gewinnen an Bedeutung, da sie die Herstellung von wegwerfbaren Biosensoren ermöglichen. Dies ist eine mögliche Lösung für die bei Biosensoren stets vorhandenen Probleme bezüglich Lagerfähigkeit und Lebensdauer. Selbst das Sterilisationsproblem lässt sich durch sterile Sensorelemente, die erst unmittelbar vor der Messung eingesetzt werden, lösen.

Hier sind vor allem die ionenselektiven Feldeffekttransistoren (ISFETs) zu nennen, deren Einsatz als Transducer in Biosensoren auch in ihrer geringen Größe begründet ist, eine Forderung, die in der Medizintechnik bei Kathetersensoren eine große Rolle spielt. Die enzymatisch modifizierten ISFETs, die ENFETs, bestehen vielfach aus einem pH-sensitiven ISFET, auf dessen Oberfläche ein Enzym immobilisiert ist, das die Reaktion eines Substrats unter Freisetzung oder Verbrauch von Protonen katalysiert.

Als Beispiele seien hier ENFETs zur Bestimmung von Glucose^[152, 163], Harnstoff und Penicillinen genannt^[158, 165], bei denen auf der pH-sensitiven Fläche des ISFETs die entsprechenden Enzyme mit Glutaraldehyd und Rinderserumalbumin oder in Membranen immobilisiert wurden. Um Störungen durch Temperaturschwankungen sowie durch nicht durch die enzymatische Reaktion verursachte pH-Änderungen zu kompensieren, kann, wie in der ersten deutschen Biochip-Offenlegungsschrift beschrieben^[164], eine Differenzmessung durchgeführt werden, d. h. es kommen ein mit Enzym beschichteter und ein nicht beschichteter pH-ISFETs zum Einsatz.

Ebenfalls mit einer Differenzmessung wurde die Bestimmung von Triglyceriden durchgeführt, wobei auf der pH-sensitiven Fläche eines ISFETs Lipase in einer Polyvinylpyrrolidonmembran immobilisiert ist^[166]. In Tabelle 9 findet sich eine Zusammenstellung der vorgestellten ENFETs.

Tabelle 9. Enzymatische Sensoren auf der Basis von ISFETs. Als Transducer dienen pH-ISFETs.

Substrat	Enzym	Produkt	Meßbereich	Lit.
Glucose	GOD	Gluconsäure	0 - 20 mmol L ⁻¹	[163]
Harnstoff	Urease	CO ₂ , 2 NH ₃	0 - 6 mmol L ⁻¹	[165]
Penicillin G	Penicillin-G-Amidase	Phenylessigsäure	1.5 - 50 mmol L ⁻¹	[165]
Penicillin	Penicillinase	Penicillinsäure	0.2 - 20 mmol L ⁻¹	[158]
Triolein	Lipase	Fettsäure	0.6 - 3 mmol L ⁻¹	[166]

3.1.3. Optische Transducer

Neben den bewährten elektrochemischen Transducern werden in letzter Zeit zunehmend optische Sensoren zur Substratkennung mit enzymatischen Reaktionen herangezogen, weil faseroptische Spektralphotometer und Fluorimeter inzwischen kommerziell erhältlich sind. Die Funktionsweise dieser optischen Biosensoren soll anhand weniger ausgewählter Beispiele aufgezeigt werden.

Für die Bestimmung von Glucose auf Basis der Reaktionsgleichung (3) entwickelten *Wolfbeis, Trettnak et al.*^[167] einen Biosensor, der als Transducer eine schon in Abschnitt 2.3 beschriebene Sauerstoff-Optode enthält. Hierbei wurde Glucose-Oxidase kovalent auf einer Nylonmembran mit aktivierten Carboxygruppen (Immunodyne) gebunden und auf der Oberfläche der Optode befestigt.

Auf der Eigenfluoreszenz des beteiligten Enzyms beruht ein weiterer Ansatz von *Wolfbeis et al.*^[168]. Enzyme mit FAD als prosthetischer Gruppe ändern ihre Fluoreszenzeigenschaften während der Reaktion mit dem Substrat, da Flavoproteine im oxidierten Zustand andere Eigenschaften aufweisen als im reduzierten Zustand. Diese Änderung lässt sich wiederum mit Lichtleitfasern, an deren Ende das Enzym von einer Dialysierfolie gehalten wird, messen. Untersuchungen an diesem System wurden unter Verwendung von Glucose-Oxidase, Lactat-Monooxygenase und Cholesterin-Oxidase durchgeführt.

Zur Kontrolle der biotechnologischen Herstellung von Penicillinen wurde ein optischer Biosensor entwickelt, der die durch enzymatische Umsetzung von Penicillin zu Penicillinsäure verursachte Änderung des pH-Werts verfolgt. Diese Messung lässt sich nicht nur elektrochemisch, sondern auch optisch realisieren^[169]. Hierzu wurde das Enzym Penicillinase zusammen mit einem pH-Indikator in einem Polymer immobilisiert, wie dies bereits in Abschnitt 2.3 für pH-Optoden beschrieben wurde. Analog lässt sich Harnstoff bestimmen^[170].

Diese Beispiele von optischen Sensoren, die in Tabelle 10 zusammengefasst sind, machen deutlich, daß optische Sensoren ähnlich den elektrochemischen Biosensoren oft auf einigen wenigen Grundprinzipien basieren. Als solche „Basis-Prinzipien“ sind zu nennen:

- 1) die Sauerstoff-Messung über Fluoreszenz-Lösung eines Farbstoffs (Transducer: O₂-Optode);
- 2) die Messung des pH-Wertes (Transducer: pH-Optoden) sowie
- 3) die Bestimmung der NADH-Fluoreszenz mit gegabelten Lichtleitern.

Aus der Kombination dieser Meßprinzipien mit verschiedenen Enzymen entstehen ähnliche Biosensoren wie die, die auf elektrochemischen Transducern beruhen. Bezüglich der

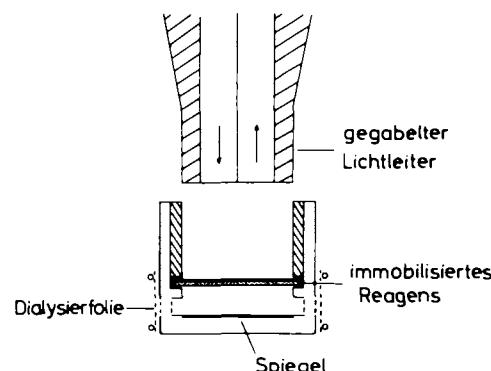


Abb. 20. Schematischer Aufbau eines optischen Biosensors.

Spezifikationen ergeben sich keine gravierenden Unterschiede. Abbildung 20 zeigt den allgemeinen Aufbau eines optischen Biosensors.

3.1.4. Massenanziehende Transducer

Eine bislang weniger verbreitete Basis für Biosensoren sind Piezokristalle sowie Surface-Acoustic-Wave(SAW)-Vorrichtungen^[171]. Mit ihrer Hilfe lassen sich Masseänderungen bestimmen, da sie zu einer Änderung der Resonanzfrequenz der Kristalle führen. Beschichtet man diese Transducer mit einer selektiv adsorbierenden Schicht, so lässt sich die Konzentration des adsorbierten Stoffes über die Änderung der Resonanzfrequenz ermitteln. Hierbei sind z. B. mit einem 9-MHz-Piezokristall theoretisch Massenbestimmungen bis zu 10⁻⁹ g möglich. *Guilbault et al.* beschreiben Sensoren auf der Basis von Piezokristallen mit Enzymbeschichtungen. Die Selektivität soll hier durch den Enzym-Substrat-Komplex sowie durch stöchiometrische Massenzunahme gemäß der Reaktionsgleichung erzielt werden. Mit immobilisierter Formaldehyd-Dehydrogenase^[172] bzw. Cholin-Esterase^[173] sollen sich so in der Luft Formaldehyd im Bereich von 1 - 100 ppm bzw. Pestizide im ppb-Bereich nachweisen lassen. Arbeiten in Flüssigkeiten sind problematischer und werden kontrovers diskutiert.

Tabelle 10. Enzymatische Sensoren auf der Basis von Optoden [a].

Substrat	Enzym	Produkt	Transducer	Meßbereich	Lit.
Ethanol	ADH/LDH	NADH	Lichtleitkabel	0 - 1 mmol L ⁻¹	[174]
Glucose	GOD	D-Gluconolacton	O ₂ -Optode	0.1 - 20 mmol L ⁻¹	[167]
Harnstoff	Urease	Ammoniak	NH ₃ -Optode	0.3 - 3 mmol L ⁻¹	[170]
Lactat	LMO	Pyruvat	Lichtleitkabel	0.5 - 1 mmol L ⁻¹	[168]
Penicillin	Penicillinase	Penicillinsäure	pH-Optode	0.25 - 10 mmol L ⁻¹	[169]

[a] Abkürzungen: ADH = Alkohol-Dehydrogenase, LDH = Lactat-Dehydrogenase, GOD = Glucose-Oxidase, LMO = Lactat-Monooxygenase.

3.2. Multi-Enzym-Sensoren

Um teure Coenzyme mehrfach verwenden zu können, bietet sich ihre Regenerierung durch ein zweites Enzym an.

Ein Konzept, das auch für viele andere Analyte Anwendung finden könnte, beschreiben *Schepers* et al.^[174]. In einer Durchflußzelle wird mit einem Lichtleitkabel die Fluoreszenz des reduzierten Coenzymes NADH gemessen. Zusammen mit z. B. Alkohol-Dehydrogenase wird NAD^+ , nachdem sein Molekulargewicht durch Anbindung von Polyethylenglycol vergrößert wurde, mit einer Dialysiermembran in der Zelle eingeschlossen. Durch Einschluß eines weiteren Enzyms hinter der Dialysiermembran, z. B. der Lactat-Dehydrogenase, ist die Regeneration von NADH unter Zugabe von Pyruvat möglich. Diese Reagenszugabe widerspricht jedoch der Forderung der Reagentienfreiheit für einen Sensor im engeren Sinn.

Weitere Anwendungen von mehreren Enzymen oder gar ganzen Enzymketten können erforderlich werden, wenn eine einzige enzymatische Reaktion nicht zu Stoffen führt, für die ein Transducer existiert^[114, 115].

3.3. Biosensoren auf der Basis von Gewebeschnitten/Zellkulturen

Neben isolierten Enzymen werden bei Biosensoren auch ganze Zellverbände verwendet. Sie haben gegenüber den isolierten Enzymen oft den Vorteil der längeren Haltbarkeit, da sich die Enzyme in ihrer natürlichen Umgebung befinden. Eine zusätzliche Immobilisierung von Coenzymen oder Cofaktoren ist hierbei nicht nötig. Solche Zellverbände weisen jedoch häufig eine geringere Selektivität auf, da sie Enzymgemische enthalten.

Bei *Arnold* und *Rechnitz*^[175] findet sich eine Tabelle von Biosensoren auf der Basis von Gewebe und ähnlichem Material. Häufig verwendete Transducer sind hierbei NH_3 - sowie O_2 -Chemosensoren.

Das Funktionsprinzip dieser Sensoren soll am Beispiel eines Wasserstoffperoxid-anzeigenden Biosensors dargestellt werden. Da Rinderleber relativ hohe Konzentrationen des Enzyms Catalase enthält, wird eine 0.1 mm dicke Scheibe frischen Gewebes mit einem Nylonnetz auf der Oberfläche einer membranbedeckten O_2 -Elektrode immobilisiert. Das zu bestimmende Wasserstoffperoxid wird enzymatisch zu Sauerstoff und Wasser zersetzt und der entstandene Sauerstoff amperometrisch bestimmt. Der Sensor ist gegenüber Temperatur- und pH-Schwankungen weniger empfindlich und langlebiger als ein Biosensor mit einem isolierten Enzym^[176]. Häufig zitiert wird in diesem Zusammenhang die Bananatrode, die von *Rechnitz* et al.^[177] beschrieben wurde. Hier dient eine dünne Bananenscheibe vor einem O_2 -Sensor zur Anzeige von Dopamin, das durch die in Bananen vorhandene Polyphenol-Oxidase unter O_2 -Verbrauch oxidiert wird.

3.4. Mikrobielle Biosensoren

Der Großteil der Biosensoren auf der Basis von immobilisierten Mikroorganismen arbeitet mit Sauerstoff-Sensoren als Transducern^[178]. Biosensoren für die Bestimmung von

Phosphat, Nitrat, Nitrit, Sulfit, Methan und Phenol wurden inzwischen beschrieben, haben aber den kommerziellen Durchbruch noch nicht geschafft.

Die Phosphatbestimmung gelang mit einem Sensor auf der Basis von immobilisierter *Chlorella vulgaris*. Mit einer O_2 -Elektrode wurde die Zunahme des Photostroms bei Phosphatzugabe gemessen. Hierbei ergab sich eine Abhängigkeit des Photostroms von der Phosphatkonzentration im Bereich von 8–70 mmol L⁻¹^[179]. *Karube, Kitagawa* et al.^[180] entwickelten einen mikrobiologischen Alkoholsensor auf der Basis eines pH-ISFETs als Transducer. Hierzu wurden Essigsärebakterien *Gluconobacter suboxydans* auf dem ISFET hinter einer gasdurchlässigen Membran immobilisiert. Diffundiert Ethanol durch die Membran, wird es von den Bakterien zu Essigsäure umgesetzt. Mit diesem Biosensor sind Bestimmungen im Konzentrationsbereich von 3–70 mmol L⁻¹ möglich.

3.5. Immunosensoren

Antikörper (Ak) und Antigene (Ag) oder Haptene binden aneinander spezifisch und mit hoher Bindungsstärke (hoher Affinitätskonstante). Möglichkeiten, diese Reaktion anzuzeigen und damit einen der Reaktionspartner nachzuweisen, beruhen bisher überwiegend auf der Markierung eines der Immunreaktanten. Dieses Prinzip wird in Immuno-Assays angewendet, die inzwischen für die biochemische Analytik unentbehrlich sind. Für die Immunreaktionen gelten die Gesetzmäßigkeiten des Massenwirkungsgesetzes. In der Gleichgewichtsreaktion (7) von freiem Antigen und Antikörper zum Antigen-Antikörper-Komplex (AgAk) bestimmt die Affinitätskonstante K das Konzentrationsverhältnis zwischen dem Komplex und den freien Reaktionspartnern.

$$K = [\text{AgAk}] / [\text{Ag}][\text{Ak}] \quad (7)$$

Quantitative Bestimmungen lassen sich durch kompetitive Bindungstests oder Sandwich-Tests in den Immuno-Assays durchführen. In kompetitiven Tests werden markierte Antigene benutzt. Ist ein solches Antigen radioaktiv markiert, so spricht man vom Radio-Immuno-Assay (RIA). Ist am Antigen ein Enzym (häufig Meerrettich-Peroxidase oder alkalische Phosphatase) kovalent gebunden, so liegt die Technik des Enzym-Immuno-Assays (EIA) vor. Das markierte Antigen und das zu messende Antigen konkurrieren um die Bindung an den trägegebundenen Antikörper, so daß sich die unbekannte Menge Antigen bestimmen läßt, wenn zum Vergleich eine Reaktion mit reinem Antigen bekannter Konzentration durchgeführt wird. Bei den Sandwich-Tests werden markierte Antikörper benutzt. Ist ein solcher Antikörper radioaktiv markiert, spricht man von einem Immunoradiometrischen Assay (IRMA), ist er mit einem Enzym verbunden, von Enzym-Linked-Immunosorbent-Assay (ELISA). Das zu bestimmende Antigen wird von einem trägegebundenen Antikörper gebunden und durch einen markierten Zweiantikörper quantitativ bestimmt.

Beide Systeme sind mit wesentlichen Nachteilen behaftet. Man benötigt gereinigte Antikörper und Antigene. Die Kalibrerkurven sind nur in kleinen Bereichen linear. Bei der radioaktiven Markierung kommen Entsorgungsprobleme hinzu. Die Durchführung eines Immunoassays ist zwar ein-

fach, erfordert jedoch eine Reihe von Arbeitsschritten und damit mehrere Stunden Arbeitszeit.

In den letzten Jahren sind einige Immunosensoren entwickelt worden, mit denen sich die immunologische Reaktion direkt verfolgen läßt. Bei diesen Sensoren werden elektrochemische, optische oder piezoelektrische Transducer oder Kapazitätsbrücken eingesetzt. Alle wichtigen Techniken der immunochemischen Analytik sollten mit wegwerfbaren Sensoren durchführbar sein^[181].

Bei Enzymimmunoelektroden sind Transducer (Elektrode), Immunreaktion und Enzymindikator räumlich gekoppelt; sie basieren auf den üblichen EIA-Prinzipien^[182, 183].

Auch ionenselektive Membranelektroden wurden für die Bestimmung von Antikörpern eingesetzt. Dazu werden nach *Rechnitz et al.*^[184] die entsprechenden Antigene mit Ionophoren der Benzokronenethergruppe kovalent verknüpft und in einer PVC-Membran immobilisiert, um eine K^+ -sensitive Elektrode zu erhalten. Die Potentialverschiebung der Elektrode bei Zugabe des entsprechenden Antikörpers wird durch Veränderung der Ionophor-Eigenschaften bei der Bindung des Antikörpers an das Antigen-Ionophor-Konjugat hervorgerufen. Ein anderer Immunosensor beruht auf der antigeninduzierten Potentialveränderung an chemisch modifizierten Halbleiteroberflächen (TiO_2), deren Ursachen noch unbekannt sind^[185]. Aufbauend auf die ersten Arbeiten über potentiometrische Immunosensoren in den Jahren 1978–1981 konnte der allgemeine Mechanismus der immunologisch induzierten Potentialänderung inzwischen am interdisziplinär arbeitenden Institut für Chemo- und Biosensoren der Universität Münster aufgeklärt werden^[186, 187]. Wegen der prinzipiellen Vielfalt an Antikörpern für bestimmte Antigene oder Haptene deutet sich hier eine Analysentechnik an, die bei Lösung der noch bestehenden Standardisierungs- und Lagerfähigkeitsprobleme zumindest für die Molekülanalytik revolutionären Charakter haben könnte.

Immosensoren auf der Basis massensensitiver Transducer (Piezoelektrischer Kristall, SAW) beruhen auf der aus der Immunreaktion resultierenden Massenzunahme^[188]. Auch hier gilt, daß in Flüssigkeiten Probleme auftreten.

Immunreaktionen an Oberflächen ändern auch bestimmte optische Eigenschaften, die die Grundlage optischer Sensoren sind. Die Änderung der Schichtdicke und/oder des Brechungsexponenten der Schicht durch Immunkomplexierung auf Silicium- oder Metalloxidunterlagen und damit des Resonanzwinkels bei der Oberflächenplasmonresonanz-Spektroskopie (Surface Plasmon Resonance, SPR)^[189], die Veränderung der Lichtstreuung von beschichteten Glasoberflächen durch Immunkomplexbildung^[190] sowie das Reflexionsverhalten und die Absorption von eingestrahltem Licht (Evanescence-Wave-Technik)^[191] sind Parameter zur Antigenbestimmung bei immobilisiertem Antikörper.

Streng genommen sind Immunosensoren keine Sensoren, sondern eher Dosimeter, da sie nicht reversibel reagieren. Unter geeigneten Bedingungen läßt sich der Biokomplex aus Antikörper und Antigen wieder spalten (z. B. durch pH-Änderung), so daß quasi kontinuierliche Messungen möglich werden.

Auf einer Konkurrenzreaktion beruht der kontinuierlich arbeitende Immunosensor, bei dem der Analyt und ein heterobifunktionelles Konjugat um Bindungsplätze an immobilisierten Antikörpern konkurrieren^[192].

Ein Problem des Immunosensors ist die unspezifische Bindung, die die Empfindlichkeit vieler Verfahren verringert, worauf auch *Cullen* und *Lowe*^[193] nachdrücklich hinweisen.

3.6. Biosensoren auf der Basis von Rezeptoren

Ein vielversprechender Ansatz ist die Entwicklung von Biosensoren, bei denen einzelne Rezeptoren oder Rezeptorstrukturen von lebenden Organismen auf Transducern immobilisiert werden^[194]. Der Vorteil der Rezeptoren gegenüber z. B. Enzymen bestünde in der sehr hohen Empfindlichkeit sowie kürzeren Ansprechzeit. So ist z. B. bekannt, daß einige Meerestiere Substanzen noch im Bereich von $10^{-13} \text{ mol L}^{-1}$ erkennen. Zur Zeit bestehen jedoch noch große Probleme in Bezug auf Isolierung und Lebensdauer immobilisierter Rezeptormoleküle, so daß dieses Konzept vorerst nur als interessanter Ansatz für zukünftige Entwicklungen zu verstehen ist.

Einen Sensor zur Glucosebestimmung auf der Basis eines Rezeptorproteins entwickelten *Schultz* und *Meadows*^[195]. Hierbei nutzen sie die Konkurrenzreaktion von Glucose mit einem Glucoseanalogen, einem mit Fluoresceinisothiocyanat markierten Dextran (FITC-Dextran), um Bindungsplätze am mit Rhodamin markierten Glucoserezeptorprotein Concanavalin A (Rh-ConA). Beide Stoffe sind am Ende eines gegabelten 100 μm dicken Lichtleiters in einem Dialysierschlauch eingeschlossen (Abb. 21).

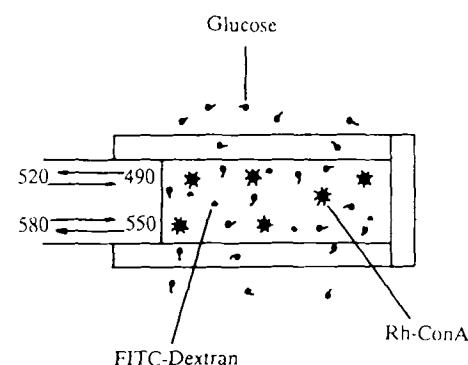


Abb. 21. Rezeptorgestützter Glucosesensor [195]. Die Zahlen geben die Wellenlänge des Lichts in nm an; links: eingestrahltes Licht, rechts: Fluoreszenzlicht.

Durch Licht geeigneter Wellenlänge wird FITC zur Fluoreszenz angeregt. Bindet dieses nun über das Dextran an das Rh-ConA, so wird die vom FITC absorbierte Energie auf das Rhodamin übertragen, das hierdurch ebenfalls zur Fluoreszenz angeregt wird. Wenn Glucose durch die Dialysiermembran in das Meßvolumen gelangt, verdrängt sie das Dextran in einer Konkurrenzreaktion von seinen Bindungsplätzen, wodurch die FITC-Fluoreszenz zunimmt, da keine Energie mehr vom FITC auf das Rhodamin übertragen wird. Über Messung der Zunahme dieser Fluoreszenzintensität läßt sich die Glucosekonzentration bestimmen.

3.7. Anwendungen von Biosensoren

Eine wichtige Anwendung von Biosensoren in der Technik ist die Kontrolle von Fermentationsprozessen. Hier ist eine möglichst kontinuierliche Messung wünschenswert, um einen optimalen Fermentationsverlauf zu gewährleisten und

den Einsatz von teuren Nährmedien zu minimieren. Von besonderem Interesse ist hierbei die Bestimmung von z. B. Glucose, Ethanol, Lactat, Cephalosporinen oder Penicillinen.

Ein weiteres Einsatzgebiet finden die Biosensoren im Bereich der Lebensmitteltechnologie und -überwachung. Hier interessieren z. B. die Glucosegehalte in Wein und Fruchtsäften^[196], der Lactatspiegel der Milch während der Verarbeitung^[197] oder die Frische von Fisch, die mit einem Hypoxanthinsensor bestimmt wird^[198].

Ein Feld mit zunehmender Bedeutung ist die Überwachung der Gewässergüte. Die hier eingesetzten Sensoren basieren zumeist auf der Kombination von Mikroorganismen und Transducern. Dabei dienen einige Sensoren zur Bestimmung einzelner Wasserinhaltsstoffe wie Phosphat, Nitrit und Nitrat^[178], andere erfassen Summenparameter über die Hemmung von Mikroorganismen oder Enzymen. Dies entspricht allerdings mehr einem Frühwarnsystem (Screening) als einem Sensor im eigentlichen Sinn, da sich an eine beobachtete Anzeige eine genauere Analyse anschließen muß. Zudem arbeiten diese Systeme irreversibel. Solche Warnsysteme werden vor allem zur Überprüfung des Pestizidgehalts oder auch der Schwermetallionenkonzentration eingesetzt, wobei die Hemmung der Mikroorganismen über die Abnahme der CO₂-Produktion gemessen wird^[199]. Um eine dem biologischen Sauerstoffbedarf (BOD) analoge Größe zu ermitteln, wird die Änderung der Atmung von *Trichosporon cutaneum* mit einer Sauerstoffelektrode gemessen^[200]. Ein solcher Sensor wird in Japan bereits im Routinebetrieb eingesetzt.

Als letztes Beispiel für einen Bereich, in dem Biosensoren angewendet werden, sei die Medizintechnik genannt. Die hier am häufigsten durchgeführten Analysen sind die Glucose- sowie die Lactatbestimmung, weshalb auch dieses Gebiet am intensivsten bearbeitet wird. Der Wunsch, in-vivo-Messungen durchführen zu können, um z. B. eine Insulinpumpe zu steuern, ist eine treibende Kraft bei der Entwicklung von miniaturisierten Biosensoren. Hier haben aber auch die Forderungen nach Biokompatibilität und Unschädlichkeit der eingesetzten Reagentien entscheidendes Gewicht. Einige Biosensoren sind bereits kommerziell erhältlich, entweder auf Basis elektrochemischer und optischer Transducer oder auch auf Basis von piezoelektrischen Kristallen zur Messung in der Gasphase.

Zur Vermeidung von Problemen beim Einsatz von Biosensoren wurden Analysatoren entwickelt. Hier ist eine Probenvorbereitung möglich, die die Lebensdauer des Sensors erhöht.

Der Aufbau der kommerziell seit längerem erhältlichen Analysatoren für die Medizintechnik basiert zumeist auf einer Sauerstoff- oder Wasserstoffperoxid-Elektrode als Transducer und einer Oxidase als biochemischer Komponente. Sie ermöglichen Analysen in Vollblut mit Gehalten von 0–30 mmol L⁻¹ Glucose und 0–15 mmol L⁻¹ Lactat. Ein BOD-Meßgerät mit dem bereits beschriebenen BOD-Sensor ist ebenfalls schon kommerziell erhältlich.

Eine Auflistung von kommerziell erhältlichen Analysatoren findet sich bei Owen^[201].

4. Ausblick

Der vorliegende Beitrag versucht einen zusammenfassenden Überblick des Entwicklungsstands chemischer Sensoren

zu geben, die eine Bedeutung für die Chemie-, Medizin- und Umwelttechnik haben oder erlangen könnten. Er erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

Allein auf dem Gebiet der Biosensoren gibt es nach aktuellen CAS-on-line-Recherchen über 3000 Publikationen und über 300 Patente, jedoch nur knapp ein Dutzend kommerziell erhältlicher Sensoren, davon über die Hälfte für Glucose. Ein Grund für dieses krasse Mißverhältnis bezüglich einer erfolgreichen Vermarktung ist vor allem in einer mangelnden Interdisziplinarität der Naturwissenschaftler zu suchen. Viele Veröffentlichungen schildern nicht mehr als einen reproduzierbaren Effekt, ausgelöst von einem chemischen Stoff. Es fehlen regelmäßige Untersuchungen über Querstörungen und eine Antwort auf die zentrale analytisch-chemische Frage: Wie richtig erfaßt der Sensor den jeweils zu messenden Stoff? Reproduzierbarkeitsangaben allein, mit reinen synthetischen Proben ohne Störkomponenten erhalten, sollten eigentlich heute – bei dieser Fülle von Informationen über Quellen systematischer Fehler – der Vergangenheit angehören. Für einen Analytiker ist die Publikation einer neuen Analysenmethode ohne Angabe über Matrixeffekte und damit über die Richtigkeit vergleichbar mit der Veröffentlichung der Synthese eines neuen Stoffes und dessen Identifizierung nur durch Elementaranalyse ohne die anerkannten und vorgeschriebenen Absicherungen mit moderneren Methoden der Strukturanalyse.

Auf dem Gebiet der Sensorentwicklung ist, ähnlich wie auf dem Gebiet der extremen Spurenanalyse, zunehmend eine Verharmlosung der Störungsmöglichkeiten zu beobachten. Es wird ein überproportional großer Forschungsaufwand im Bereich der Mikroelektronik betrieben, der eigentlich ohne Verbesserung des tieferen Verständnisses der Wirkungsweise des stofferkennenden Sensorelements zwecklos wird. Die fundamentalen Mechanismen der dort auftretenden molekularen Wechselwirkungen lassen sich nicht ingeniermäßig planen und optimieren; sie sind Naturgesetze, die erkannt und genutzt, aber nicht verändert werden können!

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die Sensorentwicklung allein schon wegen der starken Nachfrage weitere Fortschritte machen wird. Sie werden um so rascher eintreten, je mehr man sich auf die zentrale Frage der Molekülerkennung konzentriert. Die erkennbaren Mechanismen lassen es sinnvoll erscheinen, daß sowohl der theoretisch als auch der anorganisch, organisch, biochemisch, analytisch oder physikochemisch arbeitende Chemiker gefragt ist. Bei der Entwicklung neuer Biosensoren ist eine gewisse Interdisziplinarität unumgänglich, die auch die Kollegen aus Biologie, Physik und Medizin einschließt.

Gegenüber den notwendigen Selektivitätsverbesserungen bei Chemosensoren und der notwendigen Verlängerung der Lebensdauer bei Biosensoren treten Verbesserungen bei den Transducer-Eigenschaften vorerst zurück. Stabilität und Empfindlichkeit der gegenwärtigen Transducer sind ausreichend und können aufgrund physikalisch-chemischer Gesetzmäßigkeiten oder mangelnder Rezeptor-Eigenschaften ohnehin nicht voll genutzt werden.

Die Grundlagen der hier beschriebenen neuen theoretischen Betrachtungsweise von ionenselektiven Elektroden wurden von K. Cammann bereits 1975 in seiner Dissertation unter Anleitung von Prof. Dr. G. Ertl entwickelt. Ihm sowie Prof. Dr. H.

Gerischer als akademischen Lehrern sei an dieser Stelle noch einmal für die zahlreichen Diskussionen und Hilfestellungen gedankt. Es blieb Prof. Dr. S. L. Xie vorbehalten, während seines Humboldt-Stipendiums diese weitreichende Theorie auch mit modernsten Meßverfahren voll und ganz zu bestätigen. Zu dieser Grundlagenforschung haben in den letzten Jahren die Deutsche Forschungsgemeinschaft und der Fonds der Chemischen Industrie entscheidend beigetragen. Für die großzügige Förderung auf dem Gebiet der direkt-potentiometrischen Immuno-Assays sei dem Bundesministerium für Forschung und Technologie Dank ausgesprochen. Last but not least bin ich dem Land Nordrhein-Westfalen zu großem Dank verpflichtet, weil es derzeit mit erheblichen Mitteln ein eigenständiges Institut für Chemo- und Biosensorik an der Universität Münster unter tatkräftiger Hilfe der Fraunhofer-Management-Gesellschaft aufbaut. Ziel des interdisziplinär angelegten Forschungsinstituts ist eine anwendungsnahen Grundlagenforschung auf breitester Basis der Chemosensorik einschließlich der Entwicklung kompletter Meßsysteme und Monitoranlagen.

Eingegangen am 26. Februar 1990 [A 813]

- [1] A. Hulanicki, S. Glab, F. Ingman: *IUPAC Discussion Paper*, Commission V. I., Juli 1989.
- [2] R. A. Durst, R. W. Murray, K. Izutsu, K. M. Kadish, L. R. Faulkner: *Draft IUPAC Report*, Commission V.5.
- [3] M. Cremer, *Z. Biol.* 47 (1906) 562.
- [4] F. Haber, Z. Klemensiewicz, *Z. Phys. Chem.* 67 (1909) 385.
- [5] M. Dole: *The Glass Electrode, Methods, Applications and Theory*, Wiley, New York 1941.
- [6] L. Kratz: *Die Glaselektrode und ihre Anwendungen*, Steinkopff, Frankfurt am Main 1950.
- [7] G. Eisenman: *Glass Electrodes for Hydrogen and other Cations. Principles and Practice*, Dekker, New York 1967.
- [8] J. W. Ross, M. S. Frant, *Science (Washington, D. C.)* 154 (1966) 1553.
- [9] M. S. Frant, J. W. Ross, „Ion-Sensitive Electrode and Method of Making and Using Same“, US-A 3672962 (1972).
- [10] L. A. R. Pioda, V. Stankova, W. Simon, *Anal. Lett.* 2 (1969) 665.
- [11] W. Möller, W. Simon, „Ionen spezifisches Elektrodensystem“, DE-B 1648978 (1972).
- [12] K. Cammann, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 216 (1966) 287.
- [13] K. Cammann, *Naturwissenschaften* 57 (1970) 298.
- [14] K. Cammann: *Das Arbeiten mit ionenselektiven Elektroden*, 2. Aufl., Springer, Berlin 1977.
- [15] P. L. Bailey: *Analysis with Ion-Selective Electrodes*, 2. Aufl., Heyden, London 1980.
- [16] A. K. Covington: *Ion-Selective Electrode Methodology*, Vol. 1, CRC, Boca Raton, FL 1979, S. 1.
- [17] L. C. Clark, „Electrochemical Device for Chemical Analysis“, US-A 2913386 (1959).
- [18] T. Taguchi, K. Naoyoshi, „Gas-sensing element containing an electroconductivity-changing semiconductor material“, US-A 3625756 (1971).
- [19] W. H. King, Jr., *Anal. Chem.* 36 (1964) 1735.
- [20] D. W. Lübbers, N. Optitz, *Z. Naturforsch., C: Biosci.* 30C (1975) 532.
- [21] T. M. Freeman, R. W. Seitz, *Anal. Chem.* 50 (1978) 1242.
- [22] L. C. Clark Jr., C. Lyons, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 102 (1962) 29.
- [23] K. Cammann, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 287 (1977) 1.
- [24] J. Ruzicka, H. E. Hansen: *Flow Injektion Analysis*, Wiley, New York 1981.
- [25] B. P. Nicolosky, T. A. Tolmacheva, *Zh. Fiz. Khim.* 10 (1937) 495.
- [26] K. Cammann, *Ion-Sel. Electrodes, Conf.* 1977 (1978) 297.
- [27] K. Cammann, G. A. Rechnitz, *Anal. Chem. Symp.* 22 (1985) 35.
- [28] K. Cammann, G. A. Rechnitz, *Ion-Sel. Electrodes 5*, Proc. Symp. 5th 1988 (1989) 31.
- [29] K. Cammann, S.-L. Xie, *Ion-Sel. Electrodes, 5*, Proc. Symp. 5th 1988 (1989) 43.
- [30] S.-L. Xie, K. Cammann, *Ion-Sel. Electrodes, 5*, Proc. 5th 1988 (1989) 639.
- [31] J. Koryta, *Anal. Chem. Symp.* 8 (1981) 53.
- [32] S.-L. Xie, K. Cammann, *J. Electroanal. Chem.* 229 (1987) 249.
- [33] S.-L. Xie, K. Cammann, *J. Electroanal. Chem.* 245 (1988) 117.
- [34] D. Ammann, W. E. Morf, P. Anker, P. C. Meier, E. Pretsch, W. Simon, *Ion-Sel. Electrode Rev.* 5 (1983) 3.
- [35] K. Cammann, *Top. Curr. Chem.* 128 (1985) 219.
- [36] W. Simon, H.-R. Wuhrmann, M. Vasak, L. A. R. Pioda, R. Dohner, Z. Stefanac, *Angew. Chem.* 82 (1970) 433; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 9 (1970) 445.
- [37] *Handbook of Electrode Technology*, Orion Research, Cambridge, MA 1982.
- [38] *Selectophore, Ionophores for Ion-Selective Electrodes*, Firmenschrift der Fluka Chemie AG, Buchs (Schweiz) 1988.
- [39] P. Bergveld, *IEEE Trans. Biomed. Eng. BME-17* (1970) 70.
- [40] P. Bergveld, *IEEE Trans. Biomed. Eng. BME-19* (1972) 342.
- [41] G. Koning, S. J. Schepel, *Anal. Chem. Symp. Ser.* 17 (1983) 597.
- [42] B. H. van der Schoot, P. Bergveld, M. Bos, L. J. Bousse, *Sens. Actuators* 4 (1983) 252.
- [43] L. J. Bousse, P. Bergveld, *Sens. Actuators* 6 (1984) 65.
- [44] D. Sobczynska, W. Torbicz, A. Olszyna, W. Włosinski, *Anal. Chim. Acta* 171 (1985) 357.
- [45] H. H. van den Vlekkert, N. F. de Rooij, A. van den Berg, A. Grisel, *Sens. Actuators B* 1 (1990) 395.
- [46] W. H. Ko, C. D. Fung, D. Yu, Y. H. Xu, *Anal. Chem. Symp. Ser.* 17 (1983) 496.
- [47] J. van der Spiegel, T. Lauks, P. Chan, D. Babic, *Sens. Actuators* 4 (1983) 291.
- [48] U. Lemke, K. Cammann, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 335 (1989) 852.
- [49] C. Battaglia, J. Chang, D. Daniel, US-A 4214968 (1980).
- [50] D. P. Hamblen, C. P. Glover, S. H. Kim, US-A 4053381 (1977).
- [51] G. Hötzl, H. M. Wiedemann, *Sens. Rep.* 4 (1989) 32.
- [52] J. P. Pohl, *GIT Fachz. Lab.* 5 (1987) 379.
- [53] B. C. LaRoy, A. C. Lilly, C. O. Tiller, *J. Electrochem. Soc.* 120 (1973) 1668.
- [54] S. Harke, H.-D. Wiemhöfer, W. Göpel, *Sens. Actuators B* 1 (1990) 188.
- [55] Chromium Sensor Research Group, *7th Int. Conf. Solid State Ionics*, Hakone (1989), Abstr. Nr. 8aA-11.
- [56] K. Gomyo, I. Sakaguchi, Y. Shin-ya, M. Iwase, *7th Int. Conf. Solid State Ionics*, Hakone (1989), Abstr. Nr. 8aA-12.
- [57] Q. Liu in B. V. R. Chowdari, S. Radhakrishna (Hrsg.): *Proc. Int. Sem. Solid State Ionic Devices*, World Scientific – Asian Society for Solid State Ionics, Singapore 1988, S. 191.
- [58] D. Jakes, J. Kral, J. Burda, M. Fresl, *Solid State Ionics* 13 (1984) 164.
- [59] M. R. Hobdell, C. A. Smith, *J. Nucl. Mater.* 110 (1982) 125.
- [60] a) K. T. Jacob, T. Matthews in T. Takahashi (Hrsg.): *High Conductivity Solid Ionic Conductors*, World Sci., Singapore 1989, S. 513; b) T. Maruyama, *Solid State Ionics* 24 (1987) 281.
- [61] W. L. Worrell in T. Seiyama (Hrsg.): *Chemical Sensor Technology*, Vol. 1, Kodansha/Elsevier, Tokyo 1988, S. 97.
- [62] W. L. Worrell, *Solid State Ionics* 28/30 (1988) 1215.
- [63] Q. G. Liu, W. L. Worrell in V. Kuduk, Y. K. Rao (Hrsg.): *Physical Chemistry of Extractive Metallurgy*, The Metallurgical Society, Warrington, PA 1985, S. 387.
- [64] C. M. Mari, M. Beghi, S. Pizzini, J. Faltemier, *Sens. Actuators* B2 (1990) 51.
- [65] P. C. Yao, D. J. Fray, *J. Appl. Electrochem.* 15 (1985) 379.
- [66] P. Fabry, J. P. Gros, J. F. Million-Broadaz, M. Kleitz, *Sens. Actuators* 15 (1988) 33.
- [67] T. Takeuchi, *Sens. Actuators* 14 (1988) 109.
- [68] T. Takeuchi in J. L. Aucoeur, J.-S. Cauchape, M. Destriau, P. Hagemuller, C. Lucat, F. Menil, J. Portier, J. Salardene (Hrsg.): *Proc. 2nd Int. Meet. Chem. Sensors*, University of Bordeaux, Bordeaux 1986, S. 69.
- [69] H. Jahnke, B. Moro, H. Dietz, B. Beyer, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* 92 (1988) 1250.
- [70] K. Cammann in H. Naumer, W. Heller (Hrsg.): *Untersuchungsmethoden in der Chemie*, Thieme, Stuttgart 1986, S. 110.
- [71] R. Hersch, *Adv. Anal. Chem. Instrum.* 3 (1964) 183.
- [72] F. J. H. Mackereth, *J. Sci. Instrum.* 41 (1964) 38.
- [73] W. Göpel, *Hard and Soft 8/9* (1988), Fachbeitrag Mikroperipherik, S. X.
- [74] R. Müller, *Hard and Soft 11/12* (1989), Fachbeitrag Mikroperipherik, S. IV.
- [75] O. S. Wolfbeis, *Appl. Fluoresc. Technol.* 1 (1989) 1.
- [76] S. M. Angel, *Spectroscopy (Eugene, Oregon)* 2 (1987) 38.
- [77] J. F. Alder, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 324 (1986) 372.
- [78] H. H. Miller, T. B. Hirschfeld, *Engineers 7/8* (1987) 39.
- [79] O. S. Wolfbeis, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 325 (1986) 387.
- [80] M. Zander: *Fluorimetrie*, Springer, Berlin 1981.
- [81] W. E. Morf, K. Seiler, P. R. Sorensen, W. Simon, *Ion-Sel. Electrodes 5*, Proc. Symp. 5th 1988 (1989) 141.
- [82] S. Kurokawa, N. Kamo, D. Matsui, Y. Kobatake, *Anal. Chem.* 62 (1990) 353.
- [83] F. Dickert, *Hard and Soft 11/12* (1989), Fachbeitrag Mikroperipherik, S. VII.
- [84] G. Sauerbrey, *Z. Phys.* 155 (1959) 206.
- [85] K. K. Kanazawa, J. G. Gordon II, *Anal. Chem.* 57 (1985) 1770.
- [86] R. Schuhmacher, *Angew. Chem.* 102 (1990) 347; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 29 (1990) 329.
- [87] J. W. Schultze, A. Meyer, K. Saurbier, A. Thyssen in W. Günther, J. P. Matthes, H.-H. Perkampus (Hrsg.): *Instrumentalized Analytical Chemistry and Computer Technology*, GIT, Darmstadt 1990, S. 637.
- [88] K. Cammann, *Hard and Soft 11/12* (1989), Fachbeitrag Mikroperipherik, S. I.
- [89] K. Cammann, U. Lemke, J. Sander, *Hard and Soft 11/12* (1989), Fachbeitrag Mikroperipherik, S. II.

[90] K. Cammann, *Sens. Rep.* 5 (1989) 16.

[91] K. Cammann in H. Krupp (Hrsg.): *Beitrag der Mikroelektronik zum Umweltschutz*, VDE-Verlag, Berlin 1988, S. 433.

[92] A. Braat, *Adv. Instrum.* 40 (1985) 1347.

[93] H. Warncke, *TM Tech. Mess.* 52 (1985) 135.

[94] W. Göpel, F. Oehme, *Hard and Soft 3* (1987), Fachbeilage Mikroperipherik, S. 1.

[95] H. Schubert: *Sensorik in der medizinischen Diagnostik*, TÜV Rheinland, Köln 1989.

[96] P. Ulrich, *Das Mod. Lab.* 3 (1987) 18.

[97] P. Ulrich: *Ionenselektive Analytik in der Klinischen Chemie*, Schriftenreihe der Colora Meßtechnik GmbH, Lorch, Nr. 2 (1988).

[98] L. J. Russell, K. M. Rawson, *Biosensors* 2 (1986) 301.

[99] S. J. Pace, *Sens. Actuators* 1 (1981) 475.

[100] K. Cammann, *Instrum. Forsch.* 9 (1982) 1.

[101] J. G. Schindler, M. M. Schindler (Hrsg.): *Bioelektrochemische Membran-elektronen*, de Gruyter, Berlin 1983.

[102] D. A. Thomason, *Anal. Proc. (London)* 23 (1986) 293.

[103] O. Sonntag: *Trockenchemie*, Thieme, Stuttgart 1988.

[104] K. Cammann, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 329 (1988) 691.

[105] J. Mertens, P. van den Winkel, D. L. Massart, *Anal. Lett.* 6 (1973) 81.

[106] R. P. Badoni, A. Jayaraman, *Erdöl Kohle Erdgas Petrochem.* 41 (1988) 23.

[107] Infratest Industria, Marktübersicht: *Chemische und Biochemische Sensoren*, München 1989.

[108] R. Macdonald (Hrsg.): *Impedance Spectroscopy*, Wiley, New York 1987.

[109] W. Göpel, *TM Tech. Mess.* 52 (1985) 47.

[110] W. Göpel, *TM Tech. Mess.* 52 (1985) 92.

[111] W. Göpel, *TM Tech. Mess.* 52 (1985) 175.

[112] U. Gerlach-Meyer, *Symposium Chemische Sensoren - Heute und Morgen*, Essen 1989.

[113] Batelle-Institut: *Sensoren: Miniaturisierung und Integration*, Studie, Frankfurt am Main 1987.

[114] F. Scheller, F. Schubert: *Biosensoren*, Birkhäuser, Basel 1989.

[115] A. P. F. Turner, I. Karube, G. S. Wilson (Hrsg.): *Biosensors*, Oxford Univ. Press, New York 1987.

[116] P. V. Sundaram, *Meth. Enzymol.* 137 (1988) 288.

[117] H. Plainer, B. G. Sprössler, *Forum Mikrobiol.* 5 (1987) 161.

[118] M. Nelboeck, D. Jaworek, *Chimia* 29 (1975) 109.

[119] M. Shichiri, R. Kawamori, Y. Goriya, Y. Yamasaki, M. Nomura, N. Hakui, *Diabetologia* 24 (1983) 179.

[120] M. Shichiri, *Horm. Metab. Res. Suppl. Ser.* 20 (1988) 17.

[121] H.-L. Schmidt, R. Lammert, I. Ogbomo, T. Baumeister, J. Danzer, R. Kittsteiner-Eberle, *GBF Monogr. Ser.* 13 (1989) 93.

[122] A. Malinauskas, J. J. Kulys, *Anal. Chim. Acta* 98 (1978) 31.

[123] D. A. Gough: *Biosensors*, First World Congress, Singapur 1990.

[124] R. D. Schmid, G. C. Chemnitius, *GBF Monogr. Ser.* 13 (1989) 299.

[125] G. F. Hall, D. J. Best, A. P. F. Turner, *Enzyme Microb. Technol.* 10 (1988) 543.

[126] K. Cammann, B. Winter, unveröffentlicht.

[127] M. Niwa, K. Itoh, A. Nagata, H. Osawa, *Tokai J. Exp. Clin. Med.* 6 (1981) 403.

[128] G. Hanke, F. Scheller, A. Yersin, *Zentralbl. Pharm. Pharmakother. Laboratoriumsdiagn.* 126 (1987) 445.

[129] A. P. F. Turner, J. Bradley, A. J. Kidd, P. A. Andersen, A. N. Dear, R. E. Ashby, *Analys. (London)* 114 (1989) 375.

[130] H. Suzuki, *Fujitsu Sci. Tech.* J. 25 (1989) 52.

[131] S. Gernet, M. Kondelka, N. F. De Rooij, *Sens. Actuators* 17 (1989) 537.

[132] H. Gunasingham, K. P. Ang, R. Y. T. Teo, C. B. Tan, B. T. Tay, *Anal. Chim. Acta* 221 (1989) 205.

[133] T. Weiss, K. Cammann, *GBF Monogr. Ser.* 10 (1987) 267.

[134] T. Weiss, K. Cammann, *Horm. Metab. Res. Suppl. Ser.* 20 (1988) 23.

[135] D. A. Gough, J. Y. Lucisano, H. S. Pius, *Anal. Chem.* 57 (1985) 2351.

[136] G. Trott-Kriegeskorte, R. Renneberg, M. Pawlawa, F. Schubert, J. Hammer, V. Jäger, R. Wagner, R. D. Schmid, F. Scheller, *GBF Monogr. Ser.* 13 (1989) 67.

[137] T. Kelly, G. Christian, *Analyst (London)* 109 (1984) 453.

[138] A. Mulchandani, J. H. T. Luong, K. B. Male, *Anal. Chim. Acta* 221 (1989) 215.

[139] J. Karube, R. D. Schmid, *GBF Monogr. Ser.* 13 (1989) 107.

[140] R. Renneberg, R. D. Schmid, F. Scheller, G. Trott-Kriegeskorte, M. Pawlawa, G. Kaiser, A. Warsinke, *GBF Monogr. Ser.* 13 (1989) 59.

[141] E. Watanabe, H. Endo, K. Toyana, *Biosensors* 3 (1988) 297.

[142] W. J. Blaedel, A. Jenkins, *Anal. Chem.* 47 (1975) 1337.

[143] J. Moiroux, P. J. Elving, *Anal. Chem.* 51 (1979) 346.

[144] L. Gorton, A. Torstensson, H. Jaegfeld, G. Johansson, *J. Electroanal. Chem.* 161 (1984) 103.

[145] T. Ikeda, T. Shiraishi, M. Senda, *Agric. Biol. Chem.* 52 (1988) 3187.

[146] A. P. F. Turner, *Methods Enzymol.* 137 (1988) 90.

[147] A. P. F. Turner, *NATO ASI Ser. Ser. C* 226 (1988) 131.

[148] A. P. F. Turner, A. Cass, G. Davis, G. Francis, H. A. Hill, W. Aston, J. Higgins, E. Plotkin, L. D. Scott, *Anal. Chem.* 56 (1984) 667.

[149] G. G. Guilbault, G. L. Lubrano, J. M. Kauffmann, G. J. Patriarche, *NATO ASI Ser. Ser. C* 226 (1988) 379.

[150] I. Satoh, I. Karube, S. Suzuki, *Anal. Chim. Acta* 106 (1979) 369.

[151] K. Grebenkämper, *Diplomarbeit*, Universität Münster 1989.

[152] F. Honold, K. Cammann, *GBF Monogr. Ser.* 10 (1987) 285.

[153] H. J. Moynihan, N.-H. L. Wang, *Biotechnol. Prog.* 3 (1987) 90.

[154] G. G. Guilbault, M. Tarp, *Anal. Chim. Acta* 73 (1974) 355.

[155] G. A. Rechnitz, D. S. Papastathopoulos, *Anal. Chim. Acta* 79 (1975) 17.

[156] W. R. Hussein, G. G. Guilbault, *Anal. Chim. Acta* 72 (1974) 381.

[157] C. H. Kiang, S. S. Kuan, G. G. Guilbault, *Anal. Chim. Acta* 80 (1975) 209.

[158] J. Janata, S. Caras, *Anal. Chem.* 52 (1980) 1935.

[159] G. G. Guilbault, R. Smith, J. G. Montalvo, *Anal. Chem.* 41 (1969) 600.

[160] K. Cammann, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 287 (1977) 1.

[161] L. D. Watson, *Biosensors* 3 (1988) 101.

[162] S. Mikkelsen, G. A. Rechnitz, *Anal. Chem.* 61 (1989) 1737.

[163] F. Honold, K. Cammann, *Horm. Metab. Res. Suppl. Ser.* 20 (1988) 47.

[164] K. Cammann, F. Honold, DE-A 3411448 (1984).

[165] U. Brand, B. Reinhardt, F. Rüther, T. Schepel, K. Schügerl, *GBF Monogr. Ser.* 13 (1989) 127.

[166] M. Nakako, Y. Hanazato, M. Maeda, S. Shiono, *Anal. Chim. Acta* 185 (1986) 179.

[167] W. Trettnak, M. J. P. Leiner, O. S. Wolfbeis, *Analyst (London)* 113 (1988) 1519.

[168] O. S. Wolfbeis, W. Trettnak, *GBF Monogr. Ser.* 13 (1989) 213.

[169] T. J. Kulp, I. Camins, S. M. Angel, C. Munkholm, D. R. Walt, *Anal. Chem.* 59 (1987) 2849.

[170] M. A. Arnold, *GBF Monogr. Ser.* 10 (1987) 223.

[171] W. M. Heckl, M. Thompson, *GBF Monogr. Ser.* 13 (1989) 363.

[172] G. G. Guilbault, *Anal. Chem.* 55 (1983) 1682.

[173] G. G. Guilbault, J. H. Luong, *Biotechnol.* 9 (1988) 1.

[174] C. Schelp, T. Schepers, A. F. Bückmann, *GBF Monogr. Ser.* 13 (1989) 263.

[175] M. A. Arnold, G. A. Rechnitz in [115], S. 30.

[176] M. Mascini, M. Jannelle, G. Palleschi, *Anal. Chim. Acta* 138 (1982) 65.

[177] J. S. Sidwell, G. A. Rechnitz, *Biotechnol. Lett.* 7 (1985) 419.

[178] R. Kindervater, R. D. Schmid, *Z. Wasser Abwasser-Forsch.* 22 (1989) 84.

[179] M. Hikuma, T. Kubo, T. Yasuda, I. Karube, S. Suzuki, *Anal. Chem.* 52 (1980) 1020.

[180] Y. Kitagawa, E. Tamiya, I. Karube, *Anal. Lett.* 20 (1987) 81.

[181] *Biosensors*, First World Congress, Singapur 1990.

[182] G. A. Robinson, V. M. Cole, S. J. Rattle, G. C. Forrest, *Biosensors* 2 (1986) 45.

[183] C. Gyss, C. Bourdillon, *Anal. Chem.* 59 (1987) 2350.

[184] G. A. Rechnitz, M. Y. Keating, *Anal. Chem.* 56 (1984) 801.

[185] Y. Yamamoto, S. Nagaoka, T. Tanaka, T. Shiro, K. Honma, H. Tsubomura, *Proc. Int. Meet. Chem. Sens.*, Amsterdam (1983) 699.

[186] K. Cammann, H. Wilken, *Biosensors*, First World Congress, Singapur 1990.

[187] K. Cammann, C. Sorg, DE 3916432 A1 (1990).

[188] H. Muramata, K. Kajiwara, E. Tamiya, I. Karube, *Anal. Chem.* 59 (1986) 2760.

[189] R. P. H. Kooyman, H. Kolkmann, J. Greve, *GBF Monogr. Ser.* 10 (1987) 295.

[190] I. Giaever, C. R. Keese, R. I. Ryves, *Clin. Chem. (Winston-Salem, N. C.)* 30 (1984) 880.

[191] R. M. Sutherland, C. Dähne, J. F. Place, *Anal. Lett.* 17 (1984) 43.

[192] J. S. Schramm, S. H. Pach, *Biosensors*, First World Congress, Singapur 1990.

[193] D. C. Cullen, C. R. Lowe, *Biosensors*, First World Congress, Singapur 1990.

[194] G. A. Rechnitz, *GBF Monogr. Ser.* 10 (1987) 3.

[195] D. Meadows, J. S. Schultz, *Talanta* 35 (1988) 145.

[196] B. A. A. Dremel, B. P. H. Schaffar, R. D. Schmid, *Anal. Chim. Acta* 225 (1989) 293.

[197] M. Mascini, D. Moscone, G. Palleschi, R. Pilloton, *Anal. Chim. Acta* 213 (1988) 101.

[198] M. Suzuki, H. Suzuki, I. Karube, R. D. Schmid, *GBF Monogr. Ser.* 13 (1989) 107.

[199] G. P. Evans, M. G. Briers, *Biosensors* 2 (1986) 287.

[200] I. Karube, *Sci. Technol. Jpn* 7'9 (1986) 32.

[201] V. M. Owen, *NATO ASI Ser. Ser. C* 226 (1988) 329.