



Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(12) PATENTSCHRIFT A5

(21) Gesuchsnummer: 1302/92

(73) Inhaber:
Segnetron Inc., Kiryat Bialik (IL)

(22) Anmeldungsdatum: 22.04.1992

(72) Erfinder:
Gavish, Moshe, Dr., Kiryat Bialik (IL)
Roitberg, Misha, Dr., Kiryat Bialik (IL)

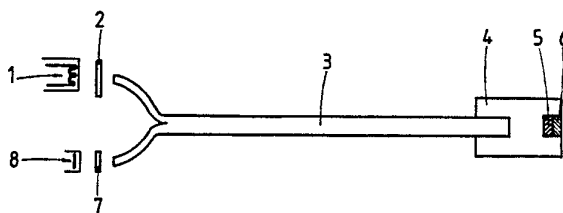
(24) Patent erteilt: 30.06.1994

(45) Patentschrift
veröffentlicht: 30.06.1994

(74) Vertreter:
Bugnion S.A., Genève-Champel

(54) Verfahren zur Herstellung eines Sensors zum Bestimmen des Sauerstoffgehalts einer Probe.

(57) Ein Verfahren zur Herstellung eines verbesserten Sensorelements zum Bestimmen des Sauerstoffgehalts einer Probe umfasst die folgenden Schritte: (a) Vermischen eines Fluoreszenz-Reagens (5) mit einem Siliconöl, das ein Molekulargewicht von 6700–80 000 und besonders bevorzugt von 15 000–30 000 hat; (b) Erwärmen des Gemischs auf eine Temperatur von 150–350°C; und (c) Aufbringen einer optischen Isolatorschicht auf das Fluoreszenz-Reagens. Fakultativ wird ein Vernetzungsmittel eingebaut. Um den Fluoreszenz-Wirkungsgrad zu steigern, wird zwischen der Fluoreszenz-Reagensschicht und der Isolatorschicht eine Schicht von lichtstreuendem Material vorgesehen.



Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Sensors zum Bestimmen des Sauerstoffgehalts in einer Probe. Insbesondere betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung eines Hochleistungs-Sauerstoffsensors mit langer Betriebslebensdauer.

Die Entwicklung optischer Sensoren ist einer der am schnellsten wachsenden neuen Bereiche in der analytischen Chemie. Die meisten dieser Sensoren betreffen nicht die direkte Bestimmung von Analyten, sondern messen die optischen Eigenschaften eines Reagens, das am fernen Ende des Lichtleiters befestigt ist. Dieses Reagens wird so ausgewählt, dass es optische Eigenschaften hat, die sich bei Wechselwirkung mit dem Zielsubstrat ändern. Lichtleitersensoren, die immobilisierte Reagenzien verwenden, wurden auf der Basis von Fluoreszenz-Komplexbildung und des dynamischen Fluoreszenz-Löschens entwickelt. Sowohl die Fluoreszenz-Lebensdauern als auch die Anregungs/Emissions-Spektren werden durch das Immobilisierungsverfahren und den Typ eines am Reagens befestigten Festkörperträgers stark beeinflusst. Solche Sensorelemente wurden in den letzten Jahren hauptsächlich zum Nachweis von Sauerstoffkonzentrationen entwickelt.

Die US-PS 4 925 268 beschreibt einen Sensor, der zur Überwachung der Sauerstoff- oder Wasserdampfkonzentration geeignet ist und ein Lichtleitersegment verwendet, das an einem Ende eine Matrix hat, die ein Indikatormolekül aufweist, das an ein Polymer gebunden ist. Das beanspruchte Polymer ist unter den Acrylaten und Methacrylaten ausgewählt. Ein wesentlicher Nachteil dieser Sensoren besteht darin, dass die fluoreszierenden Reagenzien durch starke zwischenmolekulare Wechselwirkungen gekennzeichnet sind, die ihnen in den meisten Lösungsmitteln eine sehr schlechte Löslichkeit verleihen, und dass sie eine starke Tendenz zur Aggregatbildung und Kristallisation mit typischer säulenförmiger Stapelung haben. Ferner tendieren die Moleküle des Reagens dazu, in der festen Polymermatrix zu wandern und Aggregate zu bilden, so dass sie ihre Fluoreszenzeigenschaften verlieren.

Die Auswirkung von Sauerstoff auf Fluoreszenzmaterial besteht darin, die Stärke der emittierten Strahlung dadurch zu verringern, dass für angeregte Moleküle eine nichtstrahlende Relaxationsbahn geschaffen wird. Im allgemeinen ist es relativ einfach, eine Lösung eines der wohlbekannten polycyclischen aromatischen Fluoreszenzmaterialien, die normalerweise für diesen Zweck eingesetzt werden, in einem Lösungsmittel wie Toluol herzustellen und diese Lösung als einen Indikator einzusetzen. Üblicherweise ist diese Lösung in eine Membran eingekapselt, die für ein Gas durchlässig ist, so dass Sauerstoff in die Lösung diffundieren kann. Es wurde auch schon vorgeschlagen, eine Indikatorsubstanz in ein Polymer unter Einsatz des gleichen Lösungsmittels einzubauen. Nach Verdunstung des Lösungsmittels findet jedoch im allgemeinen eine Kristallisation des Indikators statt, so dass er den grössten Teil seiner Sauerstoffempfindlichkeit verliert.

Um den Nachteil einer Verminderung der Empfindlichkeit des Reagens zu beseitigen, wurde bereits in der EP-PS 109 959 vorgeschlagen, als Trägermaterial für das Indikatorreagens einen Weichmacher einzusetzen, damit das Indikatorreagens permanent in das Polymer eingebaut bleibt. Ausserdem wird ein Lösungsmittel für den Indikator benötigt.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung eines Verfahrens zur Herstellung eines Sensors zum Bestimmen von gelöstem Sauerstoff. Dabei soll der Sensor eine sehr hohe Konzentration von Fluoreszenz-Reagens haben, wodurch seine Betriebslebensdauer verlängert wird.

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Sensorelements zum Bestimmen der in einer Probe gelösten Sauerstoffmenge, wobei das Verfahren die folgenden Schritte aufweist: (a) Vermischen eines fluoreszierenden Reagens mit einem Siliconöl, das ein Molekulargewicht im Bereich von 6700–80 000 hat; (b) Erwärmen des Gemischs bei einer Temperatur im Bereich von 150–350°C; und (c) Zufügen einer optischen Isolatorschicht auf das fluoreszierende Reagens. Das gemäss der Erfindung erhaltene Sensorelement enthält sehr hohe Konzentrationen des fluoreszierenden Reagens und hat somit hohe Empfindlichkeit gegenüber Sauerstoff. Es zeichnet sich ferner durch seine Lichtdurchlässigkeit für sichtbare Strahlung aus, so dass die Anregung und Emission von Licht in einfacher Weise gemessen werden kann.

Fig. 1 ist eine schematische Darstellung eines bevorzugten Ausführungsbeispiels des Sensorelements.

Das Sensorelement wird in situ erhalten, wobei das Siliconöl, das ein Molekulargewicht im Bereich von 6700–80 000 und bevorzugt im Bereich von 15 000–30 000 hat, gleichzeitig als ein Lösungsmittel für das Fluoreszenz-Reagens, als Polymerisationsmittel und als Vernetzungsmittel wirkt. Siliconöle, die die Hauptausgangskomponenten für die vorliegende Erfindung sind, sind handelsüblich. Sie bestehen im wesentlichen aus einem Gemisch von Dimethylsilicon, Methyl-Wasserstoff-Silicon, Diphenylsiloxan und Methylphenylsilicon. Sie zeichnen sich durch ihre ausgezeichnete Beständigkeit gegen oxidative Angriffe und thermische Umlagerung aus. Bei einer Temperatur oberhalb 150°C tritt eine allmähliche Viskositätssteigerung auf. Im Fall von Dimethylsilicon, das einer der Hauptbestandteile des Siliconöls ist, werden die Methylgruppen zu Formaldehyd oxidiert, und dann findet eine Vernetzung durch die Siloxanbrücken statt. Fakultativ kann ein zusätzliches Vernetzungsmittel, wie es üblicherweise eingesetzt wird, etwa ein organisches Peroxid oder eine Diazoverbindung zugefügt werden.

Das erhaltene Sensorprodukt ist ein Festkörper, der die mechanischen Eigenschaften eines hochpermeablen Silicongummis hat, in dem eine sehr hohe Konzentration des Fluoreszenz-Reagens eingeschlossen ist. Das Sensorelement hat sich als bei der biologischen Sterilisationstemperatur stabil erwiesen und behält seine hohe Durchlässigkeit für Sauerstoff.

Die einzusetzenden Fluoreszenz-Reagenzien

können aus verschiedenen für diesen Zweck bekannten Reagenzien ausgewählt werden, beispielsweise aus polycyclischen aromatischen Molekülen, homocyclischen und heterocyclischen aromatischen Molekülen. Typische Beispiele solcher Verbindungen sind folgende: Dekacyclen, Perilen (Dibenzanthracen), Tetracen, Benzanthracen usw. Ein Fachmann wählt das geeignete Reagens entsprechend den speziellen Anforderungen für den jeweiligen Einsatz des Sensors sowie nach der Verfügbarkeit des Reagens an Ort und Stelle aus.

Die optische Isolatorschicht kann aus irgendeinem bekannten Material ausgewählt sein, wobei ein bevorzugtes Material Graphitpulver ist. Durch Einbau dieses Pulvers vor dem Erwärmungsschritt wird eine schwarze optische Isolatorschicht gebildet, die das Fluoreszenz-Reagens gegenüber dem Aussenlicht schützt, aber ein Eindiffundieren von Sauerstoff zum Erfassen durch das Reagens zulässt.

Gemäss einem weiteren Ausführungsbeispiel der Erfindung wird in das Gemisch von Siliconöl mit dem Fluoreszenz-Reagens ein Pigmentmaterial entweder vor oder während der Erwärmungsbehandlung eingeführt. Nach der Polymerisation ist das Pigment in dem das Fluoreszenz-Reagens enthaltenden Siliconpolymer eingeschlossen. Das in dem Polymer vorhandene Pigment dient auch als zusätzliche Schutzschicht für das Fluoreszenz-Reagens, ohne dass es dessen hohe Permeabilität für Sauerstoff verringert.

Zum besseren Verständnis der Erfindung ist in Fig. 1 eine schematische Darstellung eines bevorzugten Ausführungsbeispiels des Sensorelements gezeigt, das gemäss der Erfindung hergestellt ist.

Eine Lichtquelle 1 sendet Strahlung mit einer Wellenlänge λ_1 aus, die von einem optischen Filter 2 gefiltert und durch einen gegabelten Lichtwellenleiter 3 zu dem Fluoreszenz-Reagens 5 übertragen wird. Die Fluoreszenzstrahlung mit der Wellenlänge $\lambda_2 > \lambda_1$ geht durch den Lichtwellenleiter 3 zurück zum optischen λ_2 -Filter 7 und zum optischen Detektor 8. Ein Indikatorhalter 4 ist mit dem Lichtwellenleiter 3 verbunden. Eine dünne Pigmentschicht 6 dient als Lichtabsorptionsmittel, um eine optische Unabhängigkeit von dem Fluoreszenz-Reagens herzustellen. Der Sauerstoffindikator wird optisch angeregt und emittiert Licht verschiedener Wellenlängen, dessen Intensität oder Dauer von dem Sauerstoffgehalt einer Probe abhängt.

Von den Vorteilen des so erhaltenen Sensorelements sollte die sehr hohe Empfindlichkeit gegenüber Sauerstoff genannt werden. Die relative Fluoreszenz-Intensität

$$[(I(0)/I(100)-1)] \times 100$$

die ein Mass der Sauerstoffempfindlichkeit ist, ändert sich bei Zugabe von Luft zu Stickstoff um 40% und bei Zugabe von reinem Sauerstoff um mehr als 200%.

Gemäss einem anderen Ausführungsbeispiel wird eine zusätzliche Schicht eines Licht streuenden Materials zwischen die Fluoreszenz-Reagensschicht und die Isolatorschicht eingebaut. Dies ist nützlich zur Erhöhung des Fluoreszenz-Wirkungsgrads, in-

dem ein Teil des übertragenen Lichts für das Fluoreszenz-Reagens rückgestreut wird.

Die Erfindung wird nachstehend anhand von Beispielen näher erläutert, ohne dass dadurch eine Einschränkung gegeben ist.

Beispiel 1

6,3 mg Dekacyclen wurde in einem kleinen Gefäss gelöst, das 1 ml Siliconöl mit einem Molekulargewicht von 16 000 und einer Viskosität von 350 mPa.s (350 cps) (unter dem Namen F-350 bekannt) enthielt. Das Gemisch wurde für 2 h bei 300°C erwärmt, wodurch die Flüssigkeit zu einem Gel wurde und den lichtdurchlässigen Teil des Fluoreszenz-Reagens bildete. Durch die Zugabe von feinem Graphitpulver zu der Lösung, die während der Erwärmung durchgeführt wurde, wurde ein schwarzer optischer Isolator gebildet, der das Fluoreszenz-Reagens gegenüber Aussenlicht schützt, aber das Diffundieren von Sauerstoff zu dem Sensorelement zulässt.

Beispiel 2

6,5 mg Dekacyclen wurde in einem kleinen Gefäss gelöst, das 1 ml Siliconöl mit einem Molekulargewicht von 30 000 und einer Viskosität von 1000 mPa.s (1000 cps) unter dem Namen F-1000 bekannt) enthielt. Das Gemisch wurde für 90 min bei 340°C erwärmt, wodurch die Flüssigkeit zu einem Gel wurde und den lichtdurchlässigen Teil des Fluoreszenzmaterials bildete.

Ein Test mit einem diesen Indikator enthaltenden Sensor ergab eine um ca. 10% geringere Empfindlichkeit als die mit dem Sensor nach Beispiel 1 erhaltene Empfindlichkeit, aber auch eine um 10% kleinere Zeitkonstante.

Beispiel 3

6,5 mg 9,10-Diphenylanthracen wurde in einem Gefäss gelöst, das 1 ml Siliconöl mit einem Molekulargewicht von 80 000 und einer Viskosität von 12 500 mPa.s (12 500 cps) (unter dem Namen F-12500 bekannt) enthielt. Das Gemisch wurde für 2 h bei 360°C erwärmt, wodurch die Flüssigkeit ein Gel wurde und den lichtdurchlässigen Teil des Fluoreszenzmaterials bildete.

Ein Test mit einem diesen Indikator enthaltenden Sensor ergab eine um ca. 20% geringere Empfindlichkeit als die mit dem Sensor nach Beispiel 1 erhaltene Empfindlichkeit, aber auch eine um ca. 15% kleinere Zeitkonstante.

Beispiel 4

10 mg Perilen wurde in einem Gefäss gelöst, das 1 ml Siliconöl wie in Beispiel 1 enthielt. Das Gemisch wurde für 2 h bei 260°C erwärmt, wodurch die Flüssigkeit zu einem Gel wurde und den lichtdurchlässigen Teil des Fluoreszenzmaterials bildete.

Ein Test mit einem diesen Indikator enthaltenden Sensor ergab eine um ca. 50% geringere Empfind-

lichkeit als bei dem nach Beispiel 1 hergestellten Sensor.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung eines Sensorelements zum Bestimmen der in einer Probe gelösten Sauerstoffmenge, gekennzeichnet durch die folgenden Schritte: 5
 - (a) Vermischen eines Fluoreszenz-Reagens mit einem Siliconöl, das ein Molekulargewicht von 6700–80 000 hat; 10
 - (b) Erwärmen des Gemischs auf eine Temperatur von 150–350°C; und
 - (c) zusätzliches Vorsehen einer optischen Isolatorschicht in dem Fluoreszenz-Reagens. 15
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Siliconöl ein Molekulargewicht von 15 000–30 000 hat.
3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Siliconöl ein Gemisch von Dimethylsilicon, Methylhydrosilicon, Diphenylsilicon und Methylphenylsilicon aufweist. 20
4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass ein Vernetzungsmittel eingebaut wird. 25
5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass das Vernetzungsmittel aus organischen Peroxiden und Diazoverbindungen ausgewählt ist. 30
6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Fluoreszenz-Reagenzien aus polycyclischen aromatischen, homocyclischen und heterocyclischen Molekülen ausgewählt sind.
7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass das Fluoreszenz-Reagens Dekacyclen ist. 35
8. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass das Fluoreszenz-Reagens Perilen ist. 40
9. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die optische Isolatorschicht Graphitpulver ist.
10. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass ein Pigment eingebaut wird, das von dem Siliconpolymer eingeschlossen wird. 45
11. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass zwischen der Fluoreszenz-Reagensschicht und der Isolatorschicht eine zusätzliche Schicht von lichtstreuendem Material eingefügt wird. 50

55

60

65

4

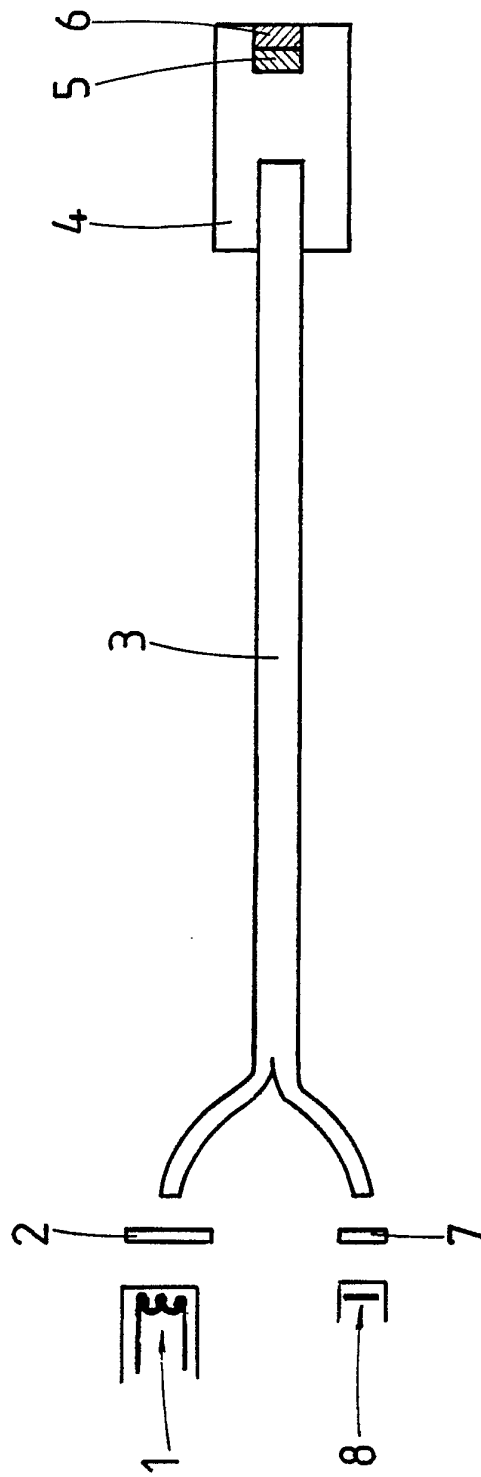


FIG.1