



Patent beschränkt
aufrechterhalten nach
§ 12 Abs. 3 ErstrG

(51) Int. Cl.⁶: **G 01 N 27/403**
C 12 Q 1/54

DEUTSCHES PATENTAMT

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Aufrechterhaltung kann Einspruch eingelegt werden

(21) Aktenzeichen:	(22) Anmeldetag:	(44) Veröff.-tag der DD-Patentschrift:	(45) Veröff.-tag der Aufrechterhaltung:
DD G 01 N / 327 822 1	20. 04. 89	12. 09. 90	20. 04. 95

(30) Unionspriorität:

(72) Erfinder:	Abel, Peter, Dipl.-Ing. Dr.-Ing., 17495 Züssow, DE; Brunstein, Ekkard, Dipl.-Phys., 17489 Greifswald, DE
(73) Patentinhaber:	gleich Erfinder
(74) Vertreter:	Meyerhöfer, Dietmar, Dipl.-Ing., Pat.-Anw., 17489 Greifswald

(54) Enzymelektrodenanordnung für Biosensoren

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht gezogene Druckschriften:
DD-PS 227 029
P. Abel/A. Müller/M. Fischer: Biomed. Biochim. Acta 43(1984), 5, 577-584

Patentanspruch:

Enzymelektrodenanordnung für Biosensoren zur Bestimmung biochemischer Parameter, vorzugsweise der Glukose, im menschlichen und tierischen Körper und in sehr kleinen Probevolumina in der Medizin und Industrie, bestehend aus einer nadelförmigen Meßelektrode, bei der eine dünnwandige hydrophobe Isolationsschicht den anodischen Elektrodenkern umhüllt, das immobilisierte Enzym trägt und Durchbrüche an der Spitze und/oder Längsseite der Elektrode besitzt, welche von polymeren Schichten abgedeckt sind und die aktive Meßfläche bilden, **dadurch gekennzeichnet**, daß Meßelektrode und Referenzelektrode räumlich getrennt angeordnet und nur über eine Ionen leitende Verbindung in Form des Meßkompartiments galvanisch gekoppelt sind, daß bei inkorporaler Anwendung nur die Meßelektrode am Meßort zu implantieren und die Referenzelektrode an anderen geeigneten Stellen, einschließlich auf der Haut des Probanden, applizierbar ist und daß bei extrakorporaler Anwendung das Probegefäß selbst als Referenzelektrode dient.

Hierzu 1 Seite Zeichnungen

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft eine leicht applizierbare Enzymelektrodenanordnung, die sich für die langzeitige kontinuierliche Erfassung biologischer Parameter, vorzugsweise der Glukose, im menschlichen und tierischen Körper und für die Anwendung bei sehr kleinen Probevolumina in der klinischen Diagnostik, meßwertgesteuerten Insulintherapie und in der Lebensmittelindustrie eignet.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

In „Ion and Enzyme Electrodes in Biology and Medicine“, Park Press, 1976, Seite 161–172 beschreiben L. C. Clark und C. R. Emory, daß Enzymelektroden durch die Kombination enzymatischer und elektrochemischer Reaktionen die Möglichkeit der spezifischen Bestimmung von Substratkonzentrationen bieten. Im Falle der Glukosekonzentrationsmessung wird zumeist eine modifizierte Clark-Elektrode verwendet. Diese Clark-Elektrode (US-PS 3539455) besteht aus einer Meßelektrode aus Platin und einer Referenzelektrode aus Silber/Silberchlorid in einer konzentrischen Anordnung, wobei die Meßelektrode in der Meßebene von der Referenzelektrode umgeben ist.

Weiterhin sind auch Streifen-Elektroden (The Exatech-System, Prospekt der Firma Baxter Healthcare Corp., Deerfield, Illinois, USA) bekannt, bei denen Meß- und Referenzelektroden in einer Ebene parallel geführt sind.

Um eine eindeutige Funktion dieser Anordnung gewährleisten zu können, ist eine ausreichende Isolation von größer 100 MOhm zwischen Meßelektrode und Referenzelektrode erforderlich. Das bedeutet, daß zur Herstellung solcher Anordnungen hochwertige Isolationsmaterialien eingesetzt werden müssen in Verbindung mit aufwendigen Technologien auf den Gebieten der Glas- und Kunstharzverarbeitung, der Metallbedampfung und der Kontaktierung der notwendigen Anschlußleitungen. Der Mangel dieser Anordnung besteht darüber hinaus darin, daß bereits bei kleinsten Isolationsfehlern, wie Haarrissen u. a. m., die gesamte Elektrodenanordnung verworfen werden muß.

Die Modifizierung der Elektrodenanordnung zur Enzymelektrode erfolgt in der Regel durch das Aufbringen eines Elektrolyten, dessen Abdeckung mit einer je nach Meßverfahren hydrophoben oder hydrophilen Membran realisiert wird. Auf diese Membran wird das Enzym, im Falle der Glukosemessung die Glukoseoxidase GOD, zumeist in immobilisierter Form aufgebracht und mit mindestens einer die Diffusion von Substrat und Kosubstrat realisierenden Membran (U. Fischer und P. Abel in „A Membrane Combination for Implantable Glucose Sensors, Measurements in Undiluted Biological Fluids“, Vol. XXVIII, Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs, 1982, S. 245–248 bzw. US-PS 4484987) abgedeckt. Bedingt durch die geometrische Anordnung und die erforderliche Präparation nach dem Sandwichprinzip mit flächigen Membranen oder durch mehrfaches Tauchen der Anordnung in polymere Lösungen haben funktionsfähige Enzymelektroden einen Außendurchmesser von 1 bis 4 mm (DD-WP 227029) und aus Gründen der Leitungskontaktierung und der Handhabbarkeit zur Präparation eine Länge von größer 20 mm und sind auf Grund dieser Abmessungen für die Applikation beim Menschen und Tier nicht akzeptabel. Darüber hinaus führt die Anwesenheit dieses relativ großen Fremdkörpers in den hauptsächlich zu betrachtenden Meßkompartimenten, dem Blut bei Implantation in einem Blutgefäß oder der interstitiellen Flüssigkeit bei Implantation unter die Haut, sehr schnell zu negativen Einflüssen auf das biologische Umfeld.

Versuche, die Enzymelektroden wesentlich kleiner zu gestalten, scheiterten zumeist daran, daß die Isolation zwischen Anode und Kathode unzureichend war oder während des Betriebes wurde und daß nicht ausreichende Mengen des Enzyms auf der Meßfläche untergebracht werden konnte, was zu einer Begrenzung der Reaktion führte.

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung ist ein Enzymsensor, der sich kostengünstig herstellen läßt und sich durch hohe Zuverlässigkeit bei der langzeitigen, kontinuierlichen Erfassung biologischer Parameter, vorzugsweise der Blutglukose, in der klinischen Diagnostik, der meßwertgesteuerten Insulintherapie und in der Industrie auszeichnet.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Die Aufgabe der Erfindung besteht deshalb darin, eine implantierbare und in extrakorporalen Meßanordnungen bei sehr kleinen Probevolumina anwendbare Enzymelektrodenanordnung anzugeben, deren Konstruktionsprinzip sich durch die Wahl geeigneter Elektrodengeometrie gegenüber dem bekannten Stand der Technik auszeichnet und bei der alle genannten Mängel beseitigt sind.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe dadurch gelöst, daß Meßelektrode und Referenzelektrode des Biosensors räumlich voneinander getrennt angeordnet sind und daß nur die Meßelektrode als Enzymelektrode präpariert ist.

Die räumliche Trennung von Meßelektrode und Referenzelektrode hat zur Folge, daß bei der Anwendung der Enzymelektrodenanordnung als Implantat die Meßelektrode und die Referenzelektrode an getrennten Orten vorzugsweise in Form von sehr dünnen Nadeln appliziert werden können. Des weiteren ermöglicht die erfindungsgemäße Anordnung im Falle der subkutanen Anwendung, daß nur die Meßelektrode an den Meßort implantiert wird, während die Referenzelektrode unter Verwendung eines Elektrolyten von außen in der Nähe des Implantationsortes der Meßelektrode auf der Haut befestigt wird. Bei extrakorporalen Messungen der biologischen Parameter ist die Wandung des Probengefäßes als Referenzelektrode ausgelegt, so daß lediglich der Kontakt der Meßelektrode mit der Probe herzustellen ist.

Die erfindungsgemäße Anordnung gestattet es, den Außendurchmesser der Enzymelektrode erstmalig auf den Durchmesser der Meßelektrode zuzüglich der für die Isolation benötigten Schichtdicke zu begrenzen. Die Enzymelektrode ist als Mikroelektrode mit einem Außendurchmesser von klein/gleich 0,04 mm herstellbar. Die Länge der Enzymelektrode kann variabel gewählt werden. Infolge der flexiblen Auslegung ihrer Gestaltung ist eine extrem gute Anpassung an die Umgebung an allen in Frage kommenden Implantationsorten gewährleistet.

Darüber hinaus ist gesichert, daß die Anwendung von Biosensoren in bisher nicht oder nur schwer erreichbaren biologischen Kompartimenten möglich ist. Mit der erfindungsgemäßen Enzymelektrodenanordnung wird erstmalig realisiert, daß nur im Falle der Funktionsbegrenzung ausschließlich die Meßelektrode ausgewechselt bzw. neu präpariert werden muß, während die Referenzelektrode am Ort verbleiben kann.

Ausführungsbeispiel

Die Erfindung soll nachstehend anhand von Ausführungsbeispielen für einen Biosensor zur Bestimmung der Blutzuckerkonzentration näher erläutert werden. In der dazugehörigen Zeichnung ist dargestellt:

Fig. 1: erfindungsgemäße Enzymelektrodenanordnung

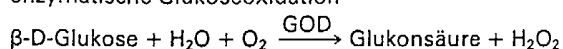
Fig. 2: implantierte Anordnung

Fig. 3: implantierte Anordnung mit extrakorporaler Referenzelektrode

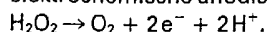
Fig. 4: miniaturisierte Enzymelektrodenanordnung

Der Biosensor zur Bestimmung der Blutzuckerkonzentration besitzt die erfindungsgemäße Enzymelektrodenanordnung gemäß Fig. 1 und arbeitet auf der Basis folgender Reaktionen

– enzymatische Glukoseoxidation



– elektrochemische anodische Oxidation des bei der Glukoseoxidation entstandenen Wasserstoffperoxides



Die Meßelektrode 1 aus Platin wirkt als Anode und ist von der sehr dünnwandigen, hydrophoben Isolationsschicht 2 aus beispielsweise Zelluloseazetat oder Polyurethan ummantelt.

Die Isolationsschicht 2 ist an der Spitze und Längsseite der Meßelektrode 1 unterbrochen. Die Flächen der Durchbrüche lassen eine beliebig groß wählbare aktive Meßfläche 3 entstehen. Diese Meßfläche 3 wird mittels Tauchvorgängen in das immobilisierte Enzym Glukoseoxidase 4 und polymere Lösungen präpariert. Über die Variation der aktiven Meßfläche 3 der Meßelektrode 1 ist der Substratkonzentrationsstrom einstellbar.

Die Referenzelektrode 5 der erfindungsgemäßen Enzymelektrodenanordnung des Biosensors besteht aus chloriertem Silbermaterial und besitzt keine Ummantelung.

Zwischen der Meßelektrode 1 und der Referenzelektrode 5 liegt ein Potential von etwa 0,7 V an, welches dem Arbeitspunkt in der polarographischen Stufe entspricht. An den Elektroden 1 und 5 der Enzymelektrodenanordnung ist jeweils die abgeschirmte Leitung 6 angeschlossen, welche auf kürzest möglicher Distanz zu der zweiadrigen, geschirmten Leitungsführung zusammengeführt sind, um den störenden Einfluß äußerer Fremdfelder zu minimieren.

Die Leitung 7 ist mit den Eingangsklemmen des Vorverstärkers 8 für die Verstärkung des Meßsignals des Biosensors verbunden. Die erfindungsgemäße Enzymelektrodenanordnung wird gemäß Fig. 2 in der Weise angewendet, daß die Meßelektrode 1 mittels der feinen Kanüle 9 an dem vorgesehenen Meßort beim Patienten oder Tier implantiert wird, während die Referenzelektrode 5 an einem anderen geeigneten Ort, der lediglich eine elektrolytische Ionen leitende Verbindung zum Meßkompartiment haben muß, ebenfalls implantiert sein kann.

Demgegenüber kann erfindungsgemäß die Referenzelektrode 5 auch gemäß Fig. 3 als aufsetzbare Elektrodenform 10 ausgeführt sein und wird auf der Haut des Probanden appliziert.

Soll die Messung bei fließender Probe sehr geringer Volumina erfolgen, so ist gemäß Fig. 4 vorgesehen, daß zur extrakorporalen Anwendung der erfindungsgemäßen Enzymelektrodenanordnung die Wandung des Probegefäßes 11, z. B. eine Kapillare, als Referenzelektrode 5 dient. Die dazugehörige nadelförmige Meßelektrode 1 kann extrem klein ausgeführt sein und ist in das Meßmedium eingeführt, ohne dabei den Probenfluß wesentlich zu stören. Das Meßkompartiment übernimmt bei dieser Enzymelektrodenanordnung nach der enzymatischen und elektrochemischen Reaktion selbst die notwendige Ionenleitung. Durch die erfindungsgemäße Enzymelektrodenanordnung für den Biosensor ist gesichert, daß auch bei langzeitiger Anwendung kein Elektrolytdefizit auftreten kann. Auf Grund der jeweiligen Elektrodengeometrie baut sich ein elektrisches Feld zwischen Meßelektrode 1 und Referenzelektrode 5 in der Weise auf, daß eine schnelle konzentrationsabhängige Veränderung des Meßsignals sicher erfaßt wird. Da nur die Meßelektrode 1 mit dem Enzym 4 bedeckt ist, ist nur noch diese Elektrode im Falle der Implantation zur notwendigen Erneuerung des Enzyms 4 und/oder der Diffusionsmembran zu explantieren. Die getrennte Anordnung von Meßelektrode 1 und Referenzelektrode 5 gestattet erstmalig die Enzymbeschichtung der gesamten Meßelektrode und nicht nur der Querschnittsfläche an der Spitze der Elektrodenanordnung wie bei den herkömmlichen Biosensoren.

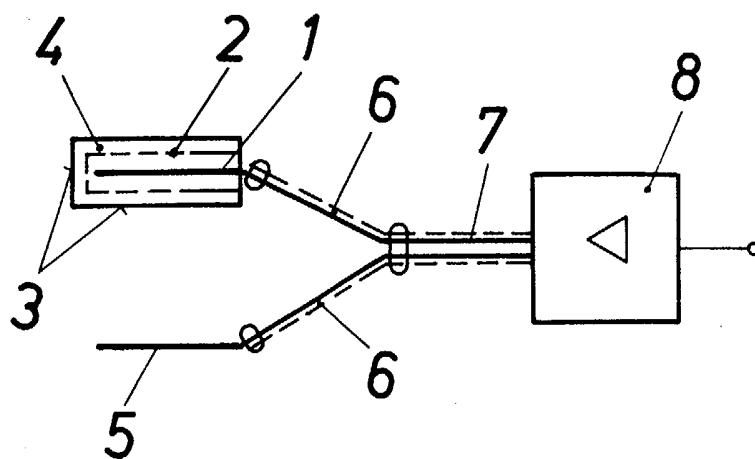


Fig. 1

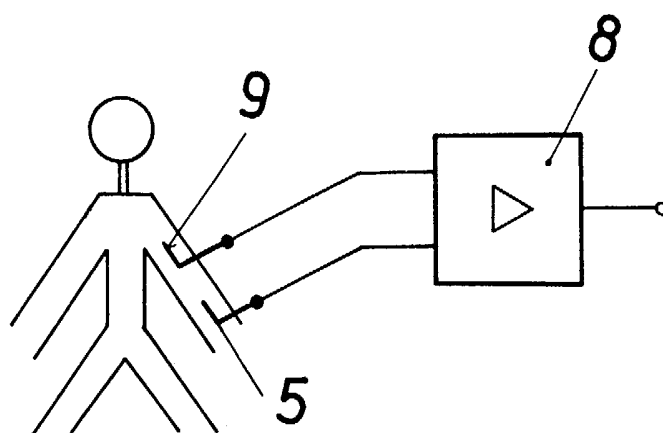


Fig. 2

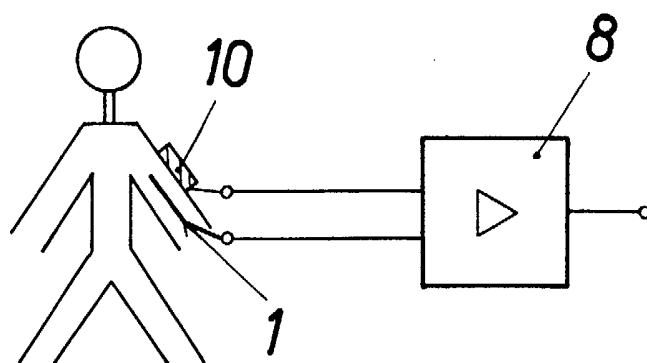


Fig. 3

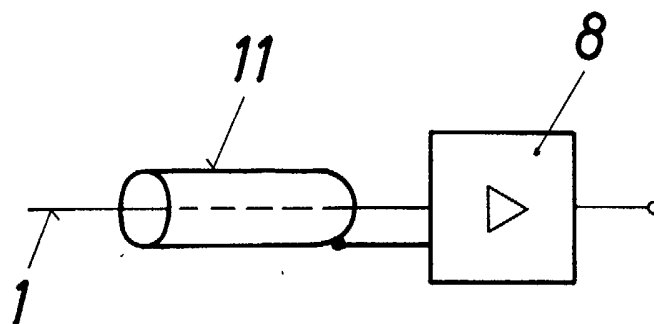


Fig. 4