

(12)

PATENTCHRIFT

(21) Anmeldenummer: 976/91

(51) Int.Cl.⁵ : G01N 21/75
G01N 21/64

(22) Anmeldetag: 10. 5.1991

(42) Beginn der Patentdauer: 15.12.1993

(45) Ausgabetag: 25. 8.1994

(73) Patentinhaber:

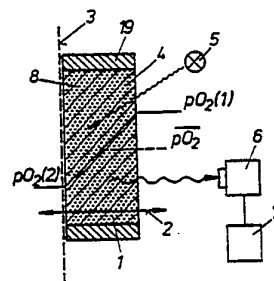
AVL GESELLSCHAFT FÜR VERBRENNUNGSKRAFTMASCHINEN
UND MESSTECHNIK MBH. PROF.DR.DR.H.C. HANS LIST
A-8020 GRAZ, STEIERMARK (AT).

(72) Erfinder:

LÜBBERS DIETRICH WERNER DR.
DORTMUND (DE).
KARPF HELLFRIED DR.
GRAZ, STEIERMARK (AT).

(54) VORRICHTUNG ZUR BESTIMMUNG DES MATERIEFLUSSES

(57) Bei einer Vorrichtung zur Bestimmung des Materieflusses durch eine Grenzfläche ist vorgesehen, daß zumindest eine der Grenzfläche (3) zuordenbare Sensorschicht (4; 9) vorgesehen ist, welche dem Materiefluß einen bekannten oder vorbestimmbaren, endlichen Widerstand entgegensetzt, daß in der Sensorschicht (4; 9) ein optischer Indikator (8; 8') zur Bestimmung eines ersten Meßwertes einer von der durchschnittlichen Materiekonzentration in der Sensorschicht (4) abhängigen Größe vorgesehen ist, daß ein zweiter Meßwert dieser Größe an einer Seite der Sensorschicht (4) bekannt oder durch einen weiteren, in der zweiten Sensorschicht (9) vorliegenden optischen Indikator (8') bestimmbar ist, sowie daß eine Auswerteeinrichtung (7) zur Bestimmung des Materieflusses aus der Differenz der beiden Meßwerte vorgesehen ist.



Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Bestimmung des Materieflusses durch eine Grenzfläche.

Unter Materiefluß sei in diesem Zusammenhang ein Fluß von Partikeln, beispielsweise von Ionen, Molekülen oder Gasen zu verstehen, der durch eine Grenzfläche zwischen unterschiedlichen Medien- bzw. auch unterschiedlichen Phasenzuständen eines Mediums durchtritt und dessen Größe pro Flächen- und
 5 Zeiteinheit, beispielsweise in Teilchen pro Sekunde und Quadratmeter oder $\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ quantifiziert werden soll.

Wenn es möglich ist, auf beiden Seiten einer Grenzfläche die Partikelkonzentration, den Gaspartialdruck etc. zu messen, so kann aus der Differenz der Meßwerte auf den entsprechenden Materiefluß geschlossen werden. Schwierigkeiten treten dann auf, wenn die nötigen Daten auf einer Seite der
 10 Grenzfläche nicht bzw. nicht mit der gewünschten Genauigkeit erfaßt werden können.

Aufgabe der Erfindung ist es, eine Vorrichtung vorzuschlagen, mit welcher der Materiefluß auch dann gemessen werden kann, wenn eine Seite der Grenzfläche nicht oder nur schwer für eine Messung zugänglich ist, wenn insbesondere die Grenzfläche eine Organoberfläche oder die Hautoberfläche ist.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß zumindest eine der Grenzfläche zuordenbare
 15 Sensorschicht vorgesehen ist, welche dem Materiefluß einen bekannten oder vorbestimmbaren, endlichen Widerstand entgegensetzt, daß in der Sensorschicht ein optischer Indikator zur Bestimmung der ersten Meßwertes einer von der durchschnittlichen Materiekonzentration in der Sensorschicht abhängigen Größe vorgesehen ist, daß ein zweiter Meßwert dieser Größe an einer Seite der Sensorschicht bekannt oder durch
 20 einen weiteren, in der zweiten Sensorschicht vorliegenden optischen Indikator bestimmbar ist, sowie daß eine Auswerteeinrichtung zur Bestimmung des Materieflusses aus der Differenz der beiden Meßwerte vorgesehen ist. Durch die erfindungsgemäße Vorrichtung erfolgen alle Konzentrationsmessungen auf einer Seite der Grenzschicht, wodurch die eingangs genannten Schwierigkeiten bewältigt werden können. Das Meßprinzip wird in der Figurenbeschreibung anhand von vier grundlegenden Vorrichtungsvarianten Fig. 1 bis 4 näher erläutert. In den der Grenzfläche zuordenbaren Schichten dürfen die zu messenden Partikel
 25 bzw. Moleküle weder erzeugt noch vernichtet (z.B. durch chemische Reaktionen) oder angelagert werden, um das Meßergebnis nicht zu verfälschen.

Falls nicht die Sensorschicht gleichzeitig auch als Widerstandsschicht verwendet wird, kann in einer Weiterbildung der Erfindung vorgesehen sein, daß Zumindest eine an der Sensorschicht anliegende bzw. zwischen den beiden Sensorschichten angeordnete Widerstandsschicht vorgesehen ist, welche dem Mate-
 30 riefluß einen bekannten oder vorbestimmbaren, endlichen Widerstand entgegensetzt. Es kann dann die Sensorschicht sehr dünn und für den Materiefluß praktisch widerstandslos ausgeführt sein, z.B. kann deren Indikator (z.B. ein lumineszenzoptischer Indikator) direkt an der Widerstandsschicht immobilisiert sein.

Als Schichtmaterial für die Widerstandsschicht eignet sich z.B. Hydrogel, Latex, Controlled Pore Glass (CPG), Zellophan oder eine Nukleopormembran. Als Material für die Sensorschicht eignen sich beispiels-
 35 weise PVC, Polyurethan, Silikon, Hydrogel, Latex, Cellulose.

Als Indikatoren seien auch nur beispielhaft für die Bestimmung des O_2 -Flusses Pyrenbuttersäure, Decacyclen sowie Ruthenium- und Osmiumkomplexe (Bipyridil, Phenanthrolin) genannt. Für den H^+ -Ionenfluß bzw. den CO_2 -Fluß kann Hydroxypyrentrisulfonsäure zur Anwendung kommen.

Beispielsweise kann erfindungsgemäß vorgesehen sein, daß zur Bestimmung des Gasflusses alle
 40 Sensor- bzw. Widerstandsschichten zumindest für das zu messende Gas durchlässig sind, wobei zumindest einer der optischen Indikatoren zur Bestimmung einer vom Gaspartialdruck oder der Gaskonzentration abhängigen Größe geeignet ist.

Eine besonders vorteilhafte Anwendung dieser Art ist dadurch gegeben, daß zur Bestimmung des Flusses zumindest eines der Gase O_2 , CO_2 , H_2 , NH_3 , Wasserdampf oder Narkosegas durch eine
 45 Organoberfläche, z.B. durch die Hautoberfläche als Grenzfläche, eine an beiden Seiten offene, auf die Organoberfläche mit einer Seite aufsetzbare Halterung vorgesehen ist, in welcher die gasdurchlässigen Sensor- bzw. Widerstandsschichten angeordnet sind, wobei die Sensorschicht zur Bestimmung des Gasparti-
 50 aldruckes mit einer Seite an der Organoberfläche anliegt und mit der anderen Seite ggf. unter Zwischenlage einer Widerstandsschicht mit einem Gasreservoir bekannter Gaszusammensetzung verbindbar ist. So ist beispielsweise für die Messung des O_2 - oder CO_2 -Flusses durch die Haut nur eine Sensorschicht notwendig, da der O_2 - bzw. CO_2 -Gehalt der Luft für viele Anwendungsfälle als genügend konstant betrachtet werden kann, um in die Auswertung direkt als Konstante eingehen zu können.

Weiters ist es im Zusammenhang mit der Durchflußmessung an Organen, z.B. der Haut von Vorteil, wenn die Halterung im Bereich von der der Organoberfläche abgewandten Seite durch einen Verschluß
 55 gasdicht verschließbar ist. Nach dem Verschließen der Halterung wird z.B. der in der Sensorschicht und eventuell in der Widerstandsschicht gespeicherte Sauerstoff durch die Haut aufgenommen, wodurch der O_2 -Partialdruck an der Hautoberfläche abnimmt. Aus der Geschwindigkeit der Druckänderung kann auf die Durchblutung des vermessenen Hautbereiches geschlossen werden.

Es ist in diesem Zusammenhang von Vorteil, wenn die zumindest eine Sensorschicht sowie eine allfällige Widerstandsschicht in einer thermostatisierbaren Halterung angeordnet sind, bzw. wenn zumindest eine der Sensor- und/oder Widerstandsschichten aus einem elektrisch leitenden Polymer besteht, welches über elektrische Anschlüsse verfügt, wodurch eine Widerstandsheizung realisierbar ist. Über die Messung der Stromaufnahme für die Thermostatisierung kann ebenfalls auf die Durchblutung des vermessenen Hautbereiches geschlossen werden.

Weiters ist es in diesem Zusammenhang erfindungsgemäß möglich, daß als Gasreservoir eine auf die Halterung aufsetzbare, ggf. thermostatisierbare Begasungseinrichtung vorgesehen ist. Damit kann z.B. an der der Hautoberfläche abgewandten Seite der Polymerschicht ein vom Gasgehalt der Luft unterschiedlicher $p\text{CO}_2$ bzw. $p\text{O}_2$ angelegt werden. Beispielsweise kann auch reiner Sauerstoff, ein Inertgas oder ein Gas das die Austauschvorgänge an der Hautoberfläche beeinflusst, angeboten werden, wodurch der jeweilige Gasfluß als Funktion des außen anliegenden Gaspartialdruckes bestimmt werden kann und so weitere Parameter über die Gaskinetik der Haut erhältlich sind.

Vorteilhafterweise läßt sich die Thermostatisierung bzw. Widerstandsheizung dadurch regeln, daß zumindest eine der Sensorschichten zusätzlich einen optischen Indikator zur Messung der Temperatur aufweist. Alle hier beschriebenen Temperaturmeß- bzw. Heizeinrichtungen sind natürlich nicht auf die Gasflußmessung an Organoberflächen oder der Haut beschränkt, sondern sind auch auf die noch folgenden Meßsituationen anwendbar.

Die der Erfindung zugrundeliegende Idee ist auf unterschiedlichsten Gebieten anwendbar. So können z.B. zur Bestimmung des Ionenflusses alle Sensor- bzw. Widerstandsschichten ionenpermeabel sein, wobei der zumindest in der einen Sensorschicht vorliegende optische Indikator zur Bestimmung einer von der Ionenkonzentration abhängigen Größe geeignet ist. Beispielsweise ist es mit einer derartigen Vorrichtung möglich, den Ionenaustausch zwischen einer Nährlösung und einem darin gelagerten Spenderorgan zu messen und so Rückschlüsse auf den Zustand des Organs zu erhalten, ohne Proben entnehmen zu müssen. Vorteilhafterweise kann dabei die Sensor- und ggf. die Widerstandsschicht einen Ionencarrier für die Messung eines Ions aus der Gruppe Na^+ , K^+ , Li^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , NH_4^+ aufweisen.

Die Ionenkonzentration kann dabei z.B. nach einem aus der US-PS 4 892 640 bekannten Verfahren bestimmt werden. Hier befindet sich in einer PVC-Membran ein Ionencarrier, sowie ein geladener Fluorophor, der bei Einbringen einer geladenen Spezies (Elektrolyt) zur Aufrechterhaltung der Elektroneutralität der Membran aus dieser gedrückt wird. In der Folge kommt es an der Grenzschicht des Sensors zu sehr hohen Fluorophor-Konzentrationen und zur Konzentrationslöschung der Fluoreszenz.

Weiters kann in einer Ausgestaltung der Erfindung zur Bestimmung des Flusses eines an einer biochemischen Reaktion beteiligten (verbrauchten bzw. erzeugten) Gases ein Reaktionsraum vorgesehen sein, welcher ein biochemisches Substrat, vorzugsweise ein Enzym, enthält und mit der Sensorschicht sowie zumindest indirekt mit einer Probe in Kontakt steht, welche ein zu bestimmendes Agens, vorzugsweise ein entsprechendes Enzymsubstrat enthält, wobei in Abhängigkeit des von der Auswerteeinrichtung festgestellten Wertes für den Gasfluß die davon abhängige Konzentration des Agens in der Probe bestimmbar ist.

In einer Ausführungsvariante mit einem als Durchflußzelle ausgeführten Probenraum ist vorgesehen, daß zwischen dem Reaktionsraum und einem Probenraum zumindest eine weitere Sensorschicht und ggf. eine weitere Widerstandsschicht angeordnet sind, wobei die Sensorschicht und die Widerstandsschicht sowohl für das an der biochemischen Reaktion beteiligte Gas als auch für das entsprechende Agens in der Probe durchlässig sind.

Der Reaktionsraum kann z.B. eine Zellkultur enthalten, deren Reaktion auf einen in der Probe enthaltenen toxischen Stoff über den Gasstoffwechsel der Zellkultur gemessen wird.

Der Reaktionsraum kann in einer weiteren Variante der Erfindung z.B. das Enzym Glucoseoxidase (GOD) zur Messung der Glucosekonzentration bzw. das Enzym Lactatdehydrogenase oder Lactatoxygenase zur Messung der Lactatkonzentration in einer Probe aufweisen, wobei die bzw. jede Sensorschicht einen Indikator zur Bestimmung des $p\text{O}_2$ -Wertes aufweist. Weitere Beispiele für dieses Meßprinzip sind untenstehend angeführt:

Enzym	Enzymsubstrat
Xantinoxidase	Hypoxantin
Alkoholoxidase	Ethanol
Lactatmonooxygenase	Lactat
Glyceroldehydrogenase	Glycerol

Vorteilhaft kann das biochemische Substrat bzw. das Enzym in einer Schicht vorliegen, welche an der dem Reaktionsraum zugewandten Seite der Sensorschicht immobilisiert ist.

Um die Meßempfindlichkeit der Vorrichtung zu erhöhen, bzw. die Messung störende Substanzen am Zutritt zur immobilisierten Schicht zu hindern, kann die Schicht mit dem biochemischen Substrat auf der dem Reaktionsraum zugewandten Seite eine permeabilitätsbestimmende Membran aufweisen.

Eine weitere Anwendungsmöglichkeit ist dadurch gegeben, daß zur Bestimmung des Flusses eines Enzymsubstrates alle Sensor- bzw. Widerstandsschichten für die an einer enzymatischen Reaktion beteiligten Enzymsubstrate durchlässig sind, wobei die zumindest eine Sensorschicht zur Messung der Konzentration eines der Enzymsubstrate ein Enzym aus der Gruppe der Oxidasen und Oxigenasen mit dem dazugehörigen Flavincoenzym (FMN, FAD) aufweist, dessen Eigenfluoreszenz (intrinsische Fluoreszenz) von der Konzentration des Enzymsubstrates abhängig ist. Mit dieser Ausführungsvariante der erfindungsgemäßen Vorrichtung kann beispielsweise der Glucosefluß zwischen einer Nährlösung und der von dieser versorgten Kultur gemessen werden, wenn der Grenzfläche zwischen Nährlösung und Kultur eine oben beschriebene Vorrichtung zugeordnet wird.

Obwohl alle bekannten Sensorschichten in der erfindungsgemäßen Vorrichtung verwendet werden können, solange sie für die zu messenden Partikel bzw. Moleküle durchlässig sind, wobei auch alle optischen Meßprinzipien wie Absorptionsmessen, Reflexionsmessung etc. - zulässig sind, ist es von Vorteil, wenn die Sensorschicht (Optode) einen lumineszenzoptischen Indikator enthält.

Weiters ist es besonders für jene Anwendungsfälle, wo die eigentliche erfindungsgemäße Vorrichtung am Ende eines Lichtleiters angeordnet ist, notwendig, daß die Sensorschicht und die Widerstandsschicht für die Anregungsstrahlung und/oder die vom Indikator emittierte Strahlung durchlässig sind.

Schließlich ist es insbesondere für jene Fälle, wo die Sensorschicht für Enzymsubstrate durchlässig sein muß, von Vorteil, wenn der optische Indikator in Nanokapseln angeordnet ist, welche in der Sensorschicht gleichmäßig verteilt sind.

Die vorliegende Erfindung wird im folgenden anhand von schematischen Zeichnungen näher erläutert. Es zeigen Fig. 1 eine erfindungsgemäße Vorrichtung zur Bestimmung des Materialflusses durch eine Grenzfläche, die Fig. 2 bis 4 Ausführungsvarianten nach Fig. 1, Fig. 5 eine Ausführungsvariante nach Fig. 4, Fig. 6 eine Variante zur Bestimmung des Gasaustausches durch die Hautoberfläche, Fig. 7 eine Zusatzeinrichtung zur Ausführung nach Fig. 6, Fig. 8 eine Ausführungsvariante zur Messung des Ionenflusses, sowie die Fig. 9 und 10 eine Ausführungsvariante zur Messung der Konzentration eines Enzymsubstrates.

Die in Fig. 1 dargestellte Vorrichtung weist eine Sensorschicht 4 auf, welche dem durch den Pfeil 2 angedeuteten Materiefluß durch die Grenzfläche 3 einen bekannten, vorbestimmbaren, jedoch endlichen Widerstand entgegensetzt. Die Sensorschicht 4 weist einen optischen Indikator 8 auf, mit welchem die Konzentration der Materie (z.B. Sauerstoff), deren Fluß bestimmt werden soll, gemessen wird. Der Indikator 8 muß dazu zumindest eine seiner optischen Eigenschaften in Abhängigkeit von der Materiekonzentration ändern. Die Anregung des optischen Indikators 8 erfolgt über eine Lichtquelle 5, wobei zwischen Lichtquelle 5 und Detektor 6 hier nicht weiter dargestellte Filtereinrichtungen vorgesehen sein können. Das von der Sensorschicht 4 bzw. vom Indikator 8 emittierte Licht gelangt zu einem Detektor 6, welcher mit einer Auswerteeinrichtung 7 in Verbindung steht. Als Indikator kann beispielsweise ein lumineszenzoptischer Indikator verwendet werden, welcher in der Sensorschicht in bekannter räumlicher Verteilung chemisch oder physikalisch immobilisiert ist. Seitlich kann die Sensorschicht 4 von einer Halterung 19 begrenzt sein.

Die Sensorschicht 4 bildet bei dieser einfachen Ausführungsvariante gleichzeitig eine Widerstandsschicht 1 für den zu messenden Materiefluß. Anhand beispielsweise des O_2 -Flusses durch die Grenzfläche 3 kann das Meßprinzip folgendermaßen erklärt werden:

Ausgehend von einem bekannten Sauerstoffpartialdruck $p_{O_2}(1)$, beispielsweise der Umgebungsluft, und einem unbekannten $p_{O_2}(2)$ jenseits der Grenzschicht 3, stellt sich in der Sensorschicht ein von den Schichtparametern und der Schichtdicke abhängiger Partialdruck ein, dessen mittlerer Druck $\overline{p_{O_2}}$ vom Detektor 6 erfaßt wird.

Für den O_2 -Fluß $J(O_2)$ gilt:

$$J(O_2) = P_1(p_{O_2}(1) - p_{O_2}(2)) = P_2(p_{O_2}(1) - \overline{p_{O_2}}) \quad (1)$$

mit $P_1 = \alpha \cdot D/d$ und $P_2 = K_1 \cdot P_1$

- 55 α Löslichkeitskoeffizient
 D Diffusionskoeffizient
 d Dicke der Schicht
 K_1 Verteilungskoeffizient des Indikators

Falls die Konzentration der jeweiligen Materie auf einer Seite der Sensorschicht 4 bekannt ist, genügt somit in der einfachsten Ausführung der Erfindung bereits eine Sensorschicht, um aus der Differenz zwischen einem Meßwert ($\overline{pO_2}$) und einer Konstanten ($pO_2(1)$) den Materiefluß $J(O_2)$ zu bestimmen.

Entsprechend Fig. 2 ist für den Fall, daß die Materiekonzentration an beiden Seiten der Grenzfläche 3 variiert, parallel zur ersten Sensorschicht 4 eine zweite Sensorschicht 9 mit einem vom ersten Indikator 8 unterschiedlichen Indikator 8' vorgesehen. Die Sensorschichten können, müssen aber nicht aus unterschiedlichen Materialien bestehen. Beispielsweise der O_2 -Fluß kann damit folgendermaßen bestimmt werden:

$$J(O_2) = P_3(\overline{pO_2}(1) - \overline{pO_2}(2)) \quad (2)$$

P_3 ist eine Konstante, welche von den Parametern der Sensorschichten 4 und 9 sowie von den Verteilungskoeffizienten der Indikatoren 8, 8' und allfälligen Geometriefaktoren der Meßanordnung abhängt.

In den Fig. 3 und 4 sind den Fig. 1 und 2 entsprechende Ausführungsvarianten dargestellt, bei welchen eine an der Sensorschicht 4 anliegende Widerstandsschicht 1 (Fig. 3) bzw. eine zwischen den beiden Sensorschichten 4 und 9 angeordnete Widerstandsschicht 1 vorgesehen ist. Die Sensorschichten 4 und 9 übernehmen hier nur die Meßfunktionen, können sehr dünn ausgeführt werden und sollen dem Materiefluß praktisch keinen Widerstand entgegensetzen, sodaß gilt:

$$\overline{pO_2}(1) \sim pO_2(1) \text{ und } \overline{pO_2}(2) \sim pO_2(2)$$

Die Widerstandsschicht 1 ist für die Ausbildung der Gradienten der Stoffkonzentrationen verantwortlich, sodaß dessen Parameter α , D und die Dicke d bekannt oder bestimmbar sein müssen. Ansonsten gelten auch hier bei der Bestimmung des Flusses die Formeln (1) und (2) mit entsprechend geänderten Konstanten.

Zur Thermostatisierung kann eine der Schichten (in Fig. 4 z.B. die Widerstandsschicht 1) aus einem elektrisch leitenden Polymer bestehen, wobei über elektrische Anschlüsse 35 und 36 eine Widerstandsheizung realisierbar ist.

Bei der Anordnung nach Fig. 1 muß die Sensorschicht 4 gleichzeitig auch für die Anregungsstrahlung und für die vom Indikator 8 emittierte Strahlung durchlässig sein.

Weiters müssen die Strahlwege der Sensorschichten 4 bzw. 9 zu den jeweiligen Detektoren 6 und 10 der Ausführung nach Fig. 2 optisch getrennt geführt werden, oder es müssen unterschiedliche Indikatormaterialien 8 und 8' verwendet werden, deren Strahlung durch Eingangsfilter 11 und 12 an den Detektoren 6 und 10 separiert wird. Es ist natürlich auch möglich, nur einen Detektor zu verwenden, welcher die beiden Strahlungen über ein rasch laufendes Filtrerrad mit unterschiedlichen Eingangsfiltern separiert.

Die mit 3 bezeichnete Grenzfläche kann für die Anregungsstrahlung oder die von den Sensorschichten emittierte Strahlung transparent sein, sodaß abweichend von der optischen Anordnung nach Fig. 1 auch eine Durchlichtgeometrie verwendet werden kann.

Die Schichtanordnungen nach Fig. 2 oder 4 bilden einen kompletten Sensor zur Bestimmung des Materieflusses ("Fluxsensor"). Bei den Anordnungen nach Fig. 1 oder 3 muß die Materiekonzentration auf einer Seite der Grenzschicht 3 bekannt sein. Je nach den äußeren Gegebenheiten kann bei den unten beschriebenen Ausführungsvarianten nach Fig. 5 bis 10 einer der Fluxsensoren nach Fig. 1 bis 4 verwendet werden.

In der Ausführungsvariante entsprechend Fig. 5 werden die Sensorschichten (Optoden) 4 bzw. 9 bzw. die Indikatoren 8, 8' über seitlich herangeführte Lichtleiter 13 und 14 angeregt. Die Lichtführung innerhalb der Sensorschichten kann dabei beispielsweise durch Totalreflexion erfolgen. Die vorzugsweise zweiarmigen Lichtleiter 13 und 14 sind jeweils mit Anregungs- und Meßeinrichtungen 15 und 16 verbunden, welche ihrerseits an die Auswerteeinrichtung 7 angeschlossen sind. Bei dieser Ausführungsvariante kann die Widerstandsschicht 1' optisch undurchlässig (z.B. als geschwärztes Hydrogel) ausgeführt sein und kann auch für die optische Trennung der beiden Meßstrahlungen verwendet werden, sodaß bei dieser Ausführungsvariante beide Optoden denselben Indikator 8 enthalten können.

Fig. 6 zeigt eine Ausführungsvariante, mit welcher z. B. der O_2 -Fluß durch die Haut als Grenzfläche 3 gemessen werden kann. Da der O_2 -Partialdruck in der Umgebungsluft, welche hier als Gasreservoir 18 fungiert, bekannt ist, oder sich aus den Größen Luftdruck, Luftfeuchtigkeit und Temperatur eindeutig bestimmen läßt, ist nur eine O_2 -Optode bzw. Sensorschicht 4 notwendig, welche in eine an beiden Seiten offene Halterung 19 zusammen mit der Widerstandsschicht 1 seitlich befestigt ist. Die Halterung 19 kann auch - wie mit Bezugszeichen 22 angedeutet - thermostatisiert sein. In einer im Zusammenhang mit Fig. 7 noch ausführlicher beschriebenen Meßanordnung kann auf die Halterung 19 ein gasdichter Verschuß 20

aufgesetzt werden, um den Gasfluß zu unterbinden. Die Halterung 19 weist ein Befestigungselement 19' auf, mit welchem eine Fixierung auf der Haut, beispielsweise durch Kleben oder Anlegen eines Unterdruckes gewährleistet ist.

Aus Fig. 7 ist weiters eine thermostatisierbare Begasungseinrichtung 21 ersichtlich, welche anstelle des Verschlusses 20 ebenfalls auf die Halterung 19 aufsetzbar ist. Die Begasungseinrichtung 21 steht über eine Zuleitung 23 mit einer nicht dargestellten Gasquelle in Verbindung. Mit der in den Fig. 6 und 7 dargestellten Vorrichtung kann beispielsweise der transcutane Sauerstoffpartialdruck der Haut nichtinvasiv gemessen werden.

Eine mögliche Ausführungsvariante ist am Beispiel einer Messung des Ionenflusses in Fig. 8 dargestellt. Z.B. kann damit der Ionenfluß zwischen einer Nährlösung 24 und einem darin aufbewahrten Spenderorgan 25 gemessen werden, wenn auf die Organoberfläche 3 (= Grenzfläche) eine Halterung 26 aufgesetzt wird, welche eine Ionenpermeable, optisch durchlässige Widerstandsschicht 1'' und eine zwischen der Widerstandsschicht 1'' und der Organoberfläche angeordnete, Ionenpermeable Sensorschicht 4 aufweist. Die Halterung 26 nimmt weiters einen auf die Sensorschicht 4 gerichteten Lichtleiter 28 zum Transport der Anregungs- und Meßstrahlung auf. Zur Aufrechterhaltung des Ionenflusses (z.B. Natrium-, Kalium-, Kalzium- oder Chloridionen etc.) in Richtung der Pfeile 2 ist über die Widerstandsschicht 1'' ein Raum vorgesehen, in welchen die Nährlösung 24 über Öffnungen 29 einströmen kann. Falls das Volumen der Nährlösung groß genug ist, kann deren Ionenkonzentration in guter Näherung als konstant betrachtet werden, sodaß auch hier nur eine Sensorschicht 4 notwendig ist. Es könnte dabei auch eine Sensorschicht, welche gleichzeitig als Widerstandsschicht fungiert, verwendet werden (siehe Fig. 1). Für alle anderen Anwendungsfälle kann beispielsweise eine Anordnung ähnlich Fig. 2 oder 4 mit zwei Sensorschichten 4 und 9 gewählt werden, bei welcher dann auch optisch undurchlässige, Ionenpermeable Widerstandsschichten 1'' zulässig sind.

Als Sensorschicht bzw. als Widerstandsschicht kommen im Fall von Elektrolytmessungen vor allem PVC-Schichten mit Ionencarriern in Frage. Damit ist es möglich, folgende Ionen zu vermessen: Na^+ , K^+ , Li^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- und NH_4^+ .

Dabei verwendet man z.B. PVC, in dem ein Chromoionophor und zwei Ionencarrier gelöst sind. Ein Ionencarrier transportiert das H^+ -Ion, der zweite Ionencarrier ist spezifisch für den zu untersuchenden Analyten (Na^+ , K^+ , ...). Der H^+ -spezifische Ionencarrier transportiert H^+ -Ionen zwischen der Probe, bzw. der Widerstandsschicht und dem Chromoionophor, welcher ein pH-Indikator ist und sich in Abhängigkeit der H^+ -Konzentration in seinen spektralen Eigenschaften verändert. Das H^+ -Ion wird aus Lösungen mit konstantem pH-Wert und unterschiedlichen Elektrolytkonzentrationen nur dann an den Chromoionophor heran- oder wegtransportiert, wenn sich durch den Transport des Analyten (Na^+ , K^+ , ...) die elektrische Ladung der Membran verändert. Voraussetzung für die Funktionstüchtigkeit dieses Sensorprinzips ist der Transport von Analyt und H^+ -Ion, die Aufrechterhaltung der Elektroneutralität und das Vorliegen eines konstanten pH-Wertes in der Probe.

Mit einer in Fig. 9 dargestellten Ausführungsvariante kann die Konzentration eines Agens, beispielsweise eines Enzymsubstrates in einer Probe 32 bestimmt werden. Die Vorrichtung weist einen Reaktionsraum 30 auf, in welchem ein biochemisches Substrat, z.B. ein Enzym vorliegt, welches beispielsweise an der Sensorschicht 4 immobilisiert sein kann. Reagiert nun das Enzymsubstrat einer in den Reaktionsraum 30 eingebrachten Probe 32 mit dem Enzym bzw. der Enzymschicht 31, wobei ein für die enzymatische Reaktion benötigtes Gas (z.B. O_2) entlang Pfeil 2 in den Reaktionsraum 30 einströmt, so kann aus dem Gasfluß auf die Konzentration des Enzymsubstrates geschlossen werden. Falls der Gaspartialdruck auf der vom Reaktionsraum 30 abgewandten Seite konstant ist, kann auch hier auf die Sensorschicht 9 verzichtet werden.

Falls in der Probe selbst das für die enzymatische Reaktion benötigte Gas, z.B. Sauerstoff, gelöst ist, muß zur Vermeidung von Meßfehlern entsprechend Fig. 10 zwischen Reaktionsraum 30 und dem als Durchflußzelle ausgeführten Probenraum 33 ein weiterer Fluxsensor, bestehend z.B. aus einer Widerstandsschicht 1' und Sensorschichten 4' bzw. 9', angeordnet sein. Dieser Fluxsensor muß sowohl gasdurchlässig (Pfeil 37) als auch für das zu messende Enzymsubstrat permeabel sein (Pfeil 38). Falls das zu messende Gas im Reaktionsraum 30 homogen verteilt ist und in den Sensorschichten 4 und 4' der selbe Gaspartikel- druck herrscht, kann beispielsweise auf die Sensorschicht 4' mit dem Indikator 8'' auch verzichtet werden.

Zur Messung z.B. der Glucosekonzentration kann die Enzymschicht 31 in Fig. 9 oder der Reaktionsraum 30 in Fig. 10 das Enzym Glucoseoxydase (GOD) enthalten, wobei die Sensorschichten 4 und 9 die jeweiligen pO_2 -Werte zur Bestimmung des O_2 -Flusses ermitteln.

Die in den Fig. 1 bis 4 dargestellten Vorrichtungen können vom Prinzip her auch zur Messung des Flusses eines Enzymsubstrates beispielsweise durch eine Organoberfläche verwendet werden. Dazu müssen für das zu messende Enzymsubstrat durchlässige Sensor- bzw. Widerstandsschichten verwendet

werden. Zur Messung der Enzymkonzentration an den beiden Seiten einer Widerstandsschicht 1 sind z.B. optische Sensorelemente 4 bzw. 9 vorgesehen, welche ein Enzym aus der Gruppe der Oxydasen und der Oxygenasen mit einem dazugehörigen Flavincoenzym (FMN,FAD) aufweisen. Über die Messung der Eigenfluoreszenz des Coenzyms wird in der Auswerteeinheit die jeweilige Konzentration des Enzymsubstrates und aus der Differenz der Konzentrationswerte der Fluß des Enzymsubstrates durch die Grenzfläche 3 bestimmt. Bei Verwendung entsprechender Sensorelemente kann auch eine optische Anordnung ohne Widerstandsschicht, ähnlich jener nach Fig. 2, verwendet werden.

Das vorgestellte Meßprinzip sowie die Meßvorrichtungen eignen sich natürlich auch dafür, bei bekanntem Materiefluß und bekannter Materiekonzentration auf einer Seite einer Grenzfläche die unbekannte Materiekonzentration auf der anderen Seite zu bestimmen.

Weiters kann beispielsweise mit einer Vorrichtung nach Fig. 9 oder 10 auch der O₂-Verbrauch einer Zellkultur oder einer mit Bakterien versehenen Nährlösung bestimmt werden.

Um Fehllicht auszuschließen oder unterschiedliche Lichtwege optisch zu trennen, können sowohl die Sensorschichten 4, 9 als auch die Widerstandsschicht 1 pigmentiert oder geschwärzt sein. Beispielsweise können Silikon- oder Hydrogelschichten durch Ruß oder Eisenoxid geschwärzt oder in mikrodisperser Verteilung kolloidale Edelmetallpartikel, z.B. Gold oder Platin, enthalten.

Patentansprüche

1. Vorrichtung zur Bestimmung des Materieflusses durch eine Grenzfläche, **dadurch gekennzeichnet**, daß zumindest eine der Grenzfläche (3) zuordenbare Sensorschicht (4; 9) vorgesehen ist, welche dem Materiefluß einen bekannten oder vorbestimmbaren, endlichen Widerstand entgegensetzt, daß in der Sensorschicht (4; 9) ein optischer Indikator (8; 8') zur Bestimmung eines ersten Meßwertes einer von der durchschnittlichen Materiekonzentration in der Sensorschicht (4) abhängigen Größe vorgesehen ist, daß ein zweiter Meßwert dieser Größe an einer Seite der Sensorschicht (4) bekannt oder durch einen weiteren, in der zweiten Sensorschicht (9) vorliegenden optischen Indikator (8') bestimmbar ist, sowie daß eine Auswerteeinrichtung (7) zur Bestimmung des Materieflusses aus der Differenz der beiden Meßwerte vorgesehen ist.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß zumindest eine an der Sensorschicht (4) anliegende bzw. zwischen den beiden Sensorschichten (4; 9) angeordnete Widerstandsschicht (1; 1'; 1'') vorgesehen ist, welche dem Materiefluß einen bekannten oder vorbestimmbaren, endlichen Widerstand entgegensetzt.
3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß zur Bestimmung des Gasflusses alle Sensor- (4, 9) bzw. Widerstandsschichten (1; 1') zumindest für das zu messende Gas durchlässig sind, wobei zumindest einer der optischen Indikatoren (8; 8') zur Bestimmung einer vom Gaspartialdruck oder der Gaskonzentration abhängigen Größe geeignet ist.
4. Vorrichtung nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß zur Bestimmung des Flusses zumindest eines der Gase O₂, CO₂, H₂, NH₃, Wasserdampf oder Narkosegase eine Organoberfläche, z.B. durch die Hautoberfläche als Grenzfläche (3), eine an beiden Seiten offene, auf die Organoberfläche mit einer Seite aufsetzbare Halterung (19) vorgesehen ist, in welcher die gasdurchlässigen Sensor- (4) bzw. Widerstandsschichten (1) angeordnet sind, wobei die Sensorschicht (4) zur Bestimmung des Gaspartialdruckes mit einer Seite an der Organoberfläche (3) anliegt und mit der anderen Seite ggf. unter Zwischenlage einer Widerstandsschicht (1) mit einem Gasreservoir (18) bekannter Gaszusammensetzung verbindbar ist.
5. Vorrichtung nach Anspruch 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Halterung (19) im Bereich von der der Organoberfläche (3) abgewandten Seite durch einen Verschuß (20) gasdicht verschließbar ist.
6. Vorrichtung nach Anspruch 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Gasreservoir (18) eine auf die Halterung (19) aufsetzbare, ggf. thermostatisierbare Begasungseinrichtung (21) vorgesehen ist.
7. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß zur Bestimmung des Ionenflusses alle Sensor- (4) bzw. Widerstandsschichten (1'') zumindest für das zu messende Ion permeabel sind, wobei der zumindest in der einen Sensorschicht (4) vorliegende optische Indikator (8) zur Bestimmung einer von der Ionenkonzentration abhängigen Größe geeignet ist.

8. Vorrichtung nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Sensorschicht (4) und ggf. die Widerstandsschicht (1'') einen Ionencarrier für die Messung eines Ions aus der Gruppe Na^+ , K^+ , Li^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , NH_4^+ aufweist.
- 5 9. Vorrichtung nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß zur Bestimmung des Flusses eines an einer biochemischen Reaktion beteiligten Gases ein Reaktionsraum (30) vorgesehen ist, welcher ein biochemisches Substrat, vorzugsweise ein Enzym, enthält und mit der Sensorschicht (4) sowie zumindest indirekt mit einer Probe (32) in Kontakt steht, welche ein zu bestimmendes Agens, vorzugsweise ein entsprechendes Enzymsubstrat enthält, sowie daß in Abhängigkeit des von der
10 Auswerteeinrichtung (7) festgestellten Wertes für den Gasfluß die davon abhängige Konzentration des Agens in der Probe bestimmbar ist.
10. Vorrichtung nach Anspruch 9 mit einem Probenraum, **dadurch gekennzeichnet**, daß zwischen dem Reaktionsraum (30) und einem Probenraum (33) zumindest eine weitere Sensorschicht (4', 9') und ggf.
15 eine weitere Widerstandsschicht (1') angeordnet sind, wobei die Sensorschicht (4', 9') und die Widerstandsschicht (1') sowohl für das an der biochemischen Reaktion beteiligte Gas als auch für das entsprechende Agens in der Probe (32) durchlässig sind.
11. Vorrichtung nach Anspruch 9 oder 10, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Reaktionsraum (30) das
20 Enzym Glucoseoxidase (GOD) zur Messung der Glucosekonzentration einer Probe aufweist und daß jede Sensorschicht (4, 9; 4', 9') einen Indikator (8, 8'; 8'') zur Bestimmung des pO_2 -Wertes aufweist.
12. Vorrichtung nach Anspruch 9 oder 10, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Reaktionsraum (30) das
25 Enzym Lactatdehydrogenase oder Lactatoxygenase zur Messung der Lactatkonzentration einer Probe aufweist und daß jede Sensorschicht (4, 9; 4', 9') einen Indikator (8, 8'; 8'') zur Bestimmung des pO_2 -Wertes aufweist.
13. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 9 bis 12, **dadurch gekennzeichnet**, daß das biochemische Substrat bzw. das Enzym in einer Schicht (31) vorliegt, welche an der dem Reaktionsraum (30) zugewandten Seite der Sensorschicht (4) immobilisiert ist.
30
14. Vorrichtung nach Anspruch 13, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Schicht (31) mit dem biochemischen Substrat auf der dem Reaktionsraum (30) zugewandten Seite eine permeabilitätsbestimmende Membran aufweist.
35
15. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß zur Bestimmung des Flusses eines Enzymsubstrates alle Sensor- (4; 9) bzw. Widerstandsschichten (1) für die an einer enzymatischen Reaktion beteiligten Enzymsubstrate durchlässig sind, wobei die zumindest eine Sensorschicht (4; 9) zur Messung der Konzentration eines der Enzymsubstrate ein Enzym aus der Gruppe der Oxidasen und Oxygenasen mit dem dazugehörigen Flavincoenzym (FMN, FAD) aufweist, dessen
40 Eigenfluoreszenz von der Konzentration des Enzymsubstrates abhängig ist.
16. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 14, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Sensorschicht (4; 9) einen lumineszenzoptischen Indikator (8; 8') enthält.
45
17. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 2 bis 14, **dadurch gekennzeichnet**, daß an der Widerstandsschicht (1; 1'; 1'') mindestens ein die Sensorschicht (4; 9) bildender lumineszenzoptischer Indikator immobilisiert ist.
- 50 18. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 17, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Sensorschicht (4; 9) und die Widerstandsschicht (1; 1'; 1'') für die Anregungsstrahlung und/oder die vom Indikator (8; 8') emittierte Strahlung durchlässig sind.
19. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 18, **dadurch gekennzeichnet**, daß der optische Indikator (8; 8') in Nanokapseln angeordnet ist, welche in der Sensorschicht (4; 9) gleichmäßig verteilt sind.
55
20. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 19, **dadurch gekennzeichnet**, daß zumindest eine der Sensorschichten (4; 9) zusätzlich einen optischen Indikator zur Messung der Temperatur aufweist.

21. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 20, **dadurch gekennzeichnet**, daß die zumindest eine Sensorschicht (4; 9) sowie eine allfällige Widerstandsschicht (1; 1'; 1'') in einer thermostatisierbaren Halterung (19) angeordnet sind.
- 5 22. Vorrichtung nach Anspruch 21, **dadurch gekennzeichnet**, daß zumindest eine der Sensor- (4; 9) und/oder Widerstandsschichten (1; 1'; 1'') aus einem elektrisch leitenden Polymer besteht, welches über elektrische Anschlüsse (35, 36) verfügt, wodurch eine Widerstandsheizung realisierbar ist.

Hiezu 2 Blatt Zeichnungen

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

Ausgegeben 25. 8.1994

Int. Cl.⁵ : G01N 21/75
G01N 21/64

Blatt 1

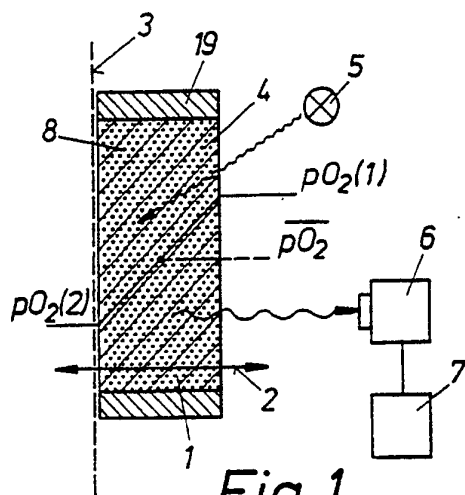


Fig. 1

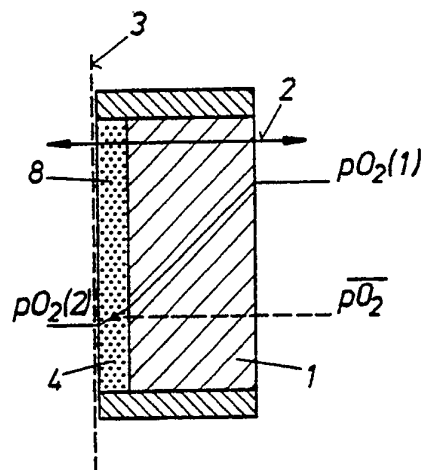


Fig. 3

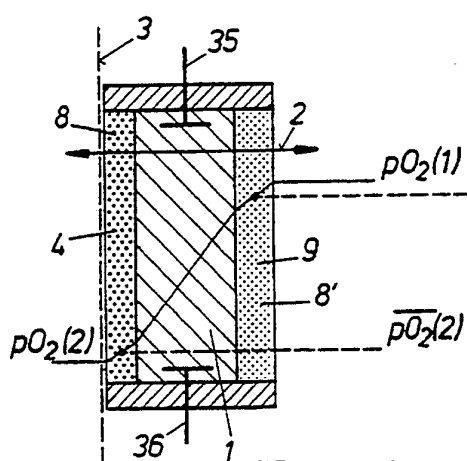


Fig. 4

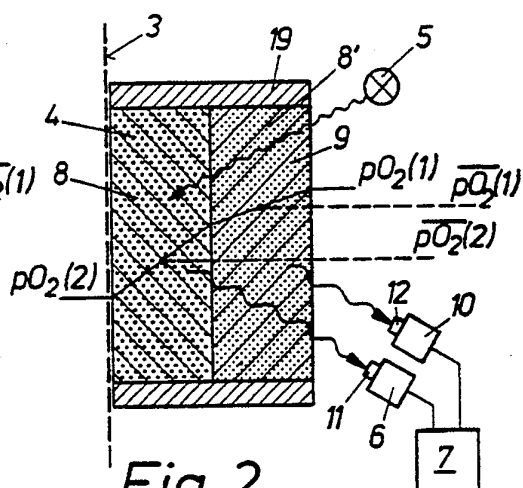


Fig. 2

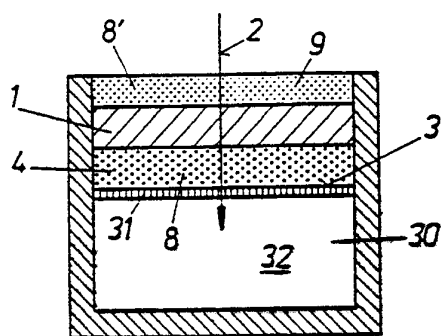


Fig. 9

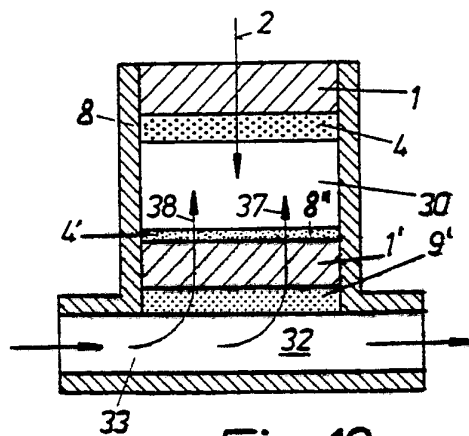


Fig. 10

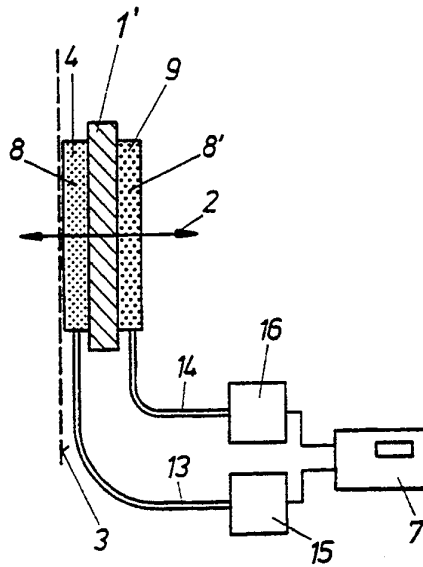


Fig. 5

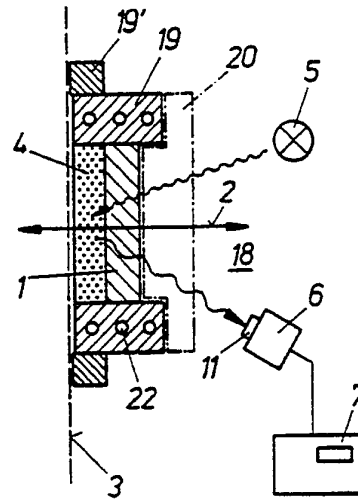


Fig. 6

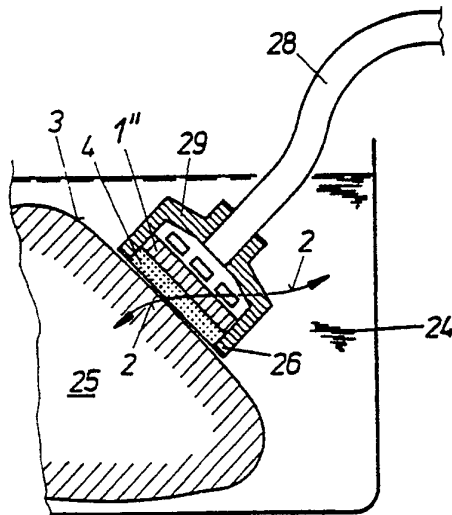


Fig. 8

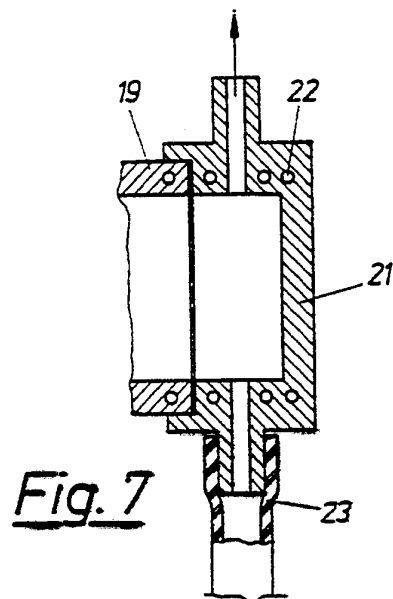


Fig. 7