



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑤① Int. Cl.²: G 01 N 21/00  
G 01 N 33/16

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein  
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978



⑫ PATENTSCHRIFT A5

⑪

616 745

⑳ Gesuchsnummer: 9574/75

⑦③ Inhaber:  
Eastman Kodak Company, Rochester/NY (US)

㉒ Anmeldungsdatum: 22.07.1975

③⑩ Priorität(en): 23.07.1974 FR 74 25426

⑦② Erfinder:  
Pierre Louis Clément, Paris (FR)

㉔ Patent erteilt: 15.04.1980

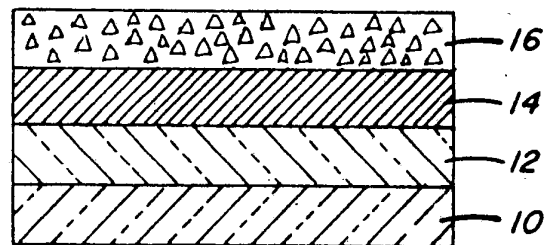
④⑤ Patentschrift  
veröffentlicht: 15.04.1980

⑦④ Vertreter:  
Kirker & Cie, Genève

⑤④ **Integrales analytisches Element für die Analyse von Flüssigkeiten.**

⑤⑦ Das Element besteht aus einem strahlungsdurchlässigen Schichtträger (10), einer für die zu analysierende Substanz permeablen Reagensschicht (16) und einer zwischen Reagensschicht und Schichtträger angeordneten Registrierschicht (12). Die Reagensschicht enthält einen Stoff der mit der zu analysierenden Substanz unter Bildung eines Farbstoffes bewirkt. Die Registrierschicht soll das Erfassen des Farbstoffes ermöglichen, z.B. auf radiometrischem Wege. Das Element enthält zudem zwischen der Reagens- und Registrierschicht eine permeable Strahlungssperrschicht (14) und/oder eine isotrop-poröse Verteilerschicht über der vom Schichtträger abgewandten Seite der Reagensschicht.

Das Element eignet sich in besonders vorteilhafter Weise für die diagnostische Analyse von biologischen Flüssigkeiten, z.B. Blut, Blutserum und Urin.



## PATENTANSPRÜCHE

1. Integrales analytisches Element für die Analyse von Flüssigkeiten, bestehend aus einem strahlungsdurchlässigen Schichtträger und mehreren hierauf aufgetragenen Schichten, von denen mindestens eine eine Reagensschicht ist, gekennzeichnet durch:

(a) mindestens eine für die zu analysierende Substanz oder einen Vorläufer derselben permeable Reagensschicht mit einem Stoff A, der mit der zu analysierenden Substanz bzw. dem Vorläufer derselben unter Bildung eines diffundier- und erfassbaren Stoffes B zu reagieren vermag oder die Bildung eines Stoffes B bewirkt,

(b) eine zwischen Reagensschicht und Schichtträger angeordnete, für den in der Reagensschicht gebildeten diffundier- und erfassbaren Stoff B permeable Registrierschicht für die Erfassung des Stoffes B sowie mindestens eine der folgenden Schichten (c) und (d), nämlich

(c) eine zwischen Reagens- und Registrierschicht angeordnete, für den Stoff B permeable Strahlungs-Sperrschicht und

(d) eine isotrop-poröse Verteilerschicht zum Verteilen der zu analysierenden Substanz oder des Vorläufers derselben über der vom Schichtträger abgewandten Seite der Reagensschicht.

2. Analytisches Element nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Strahlungs-Sperrschicht ein Trübungsmittel aufweist.

3. Analytisches Element nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Reagensschicht und die Registrierschicht wasser-quellbar sind.

4. Analytisches Element nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Trübungsmittel der Strahlungs-Sperrschicht ein Pigment ist oder ein solches enthält.

5. Analytisches Element nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Reagensschicht aus einer hydrophilen Kolloidschicht besteht, in der der Stoff A verteilt vorliegt, dass die Strahlungs-Sperrschicht aus einer hydrophilen Kolloidschicht besteht, in der ein Pigment verteilt vorliegt und dass die Registrierschicht aus einer hydrophilen Kolloidschicht besteht.

6. Analytisches Element nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Registrierschicht ein Beizmittel für den Stoff B enthält.

7. Analytisches Element nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass es aus einem strahlungsdurchlässigen Schichtträger besteht, auf dem in Strömungskontakt miteinander aufgetragen sind:

eine isotrope poröse Verteilerschicht, in der die zu analysierende Substanz oder deren Vorläufer verteilt wird;

eine Reagensschicht, die für die in der Verteilerschicht verteilte Substanz oder deren Vorläufer permeabel ist und einen Stoff A enthält, der mit der zu analysierenden Substanz oder deren Vorläufer unter Bildung eines diffundier- und erfassbaren Stoffes B zu reagieren vermag oder die Bildung eines Stoffes B bewirkt und

eine strahlungsdurchlässige Registrierschicht, die für die zu analysierende Substanz oder deren Vorläufer permeabel ist,

wobei gilt, dass die Registrierschicht zwischen Schichtträger und der Reagensschicht angeordnet ist und die Reagensschicht zwischen der Registrierschicht und der Verteilerschicht angeordnet ist.

8. Analytisches Element nach Anspruch 1 und 7, dadurch gekennzeichnet, dass es zusätzlich eine Strahlungs-Sperrschicht aufweist, die für die zu analysierende Substanz permeabel ist und zwischen Registrierschicht und Reagensschicht in Strömungskontakt mit den anderen Schichten des Elementes angeordnet ist.

9. Analytisches Element nach einem der Ansprüche 1 bis 8, bestehend aus einem strahlungsdurchlässigen Schichtträger, auf dem in Strömungskontakt aufgetragen sind:

eine wasser-resistente, isotrope poröse Verteilerschicht;

eine wasser-quellbare Reagensschicht;

eine Strahlungs-Sperrschicht und

eine wasser-quellbare strahlungsdurchlässige Registrierschicht, wobei gilt

dass die Registrierschicht von allen Schichten dem Schichtträger am nächsten liegt, die Strahlungs-Sperrschicht zwischen Reagensschicht und Registrierschicht angeordnet ist und die Reagensschicht zwischen Strahlungs-Sperrschicht und Verteilerschicht liegt.

10. Analytisches Element nach Anspruch 1 und 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Verteilerschicht aus einem getriebenen Polymer besteht oder ein solches enthält.

11. Analytisches Element nach Anspruch 1 und 9, dadurch gekennzeichnet, dass das Trübungsmittel der Strahlungs-Sperrschicht aus einem wasser-resistenten getriebenen Polymer besteht oder ein solches enthält.

12. Analytisches Element nach Anspruch 1 und 9, dadurch gekennzeichnet, dass das Trübungsmittel der Strahlungs-Sperrschicht aus einem Pigment besteht oder ein solches enthält.

13. Analytisches Element nach Anspruch 1 und 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Verteilerschicht ein getriebenes Polymer und eine oberflächenaktive Verbindung enthält, dass ferner die Reagensschicht aus einer hydrophilen Kolloidschicht mit einem hierin verteilten Stoff A aufgebaut ist, dass die Strahlungs-Sperrschicht aus einer hydrophilen Kolloidschicht mit einem hierin verteilten Pigment besteht und dass schliesslich die Registrierschicht aus einer hydrophilen Kolloidschicht besteht.

14. Analytisches Element nach Anspruch 1 und 13, dadurch gekennzeichnet, dass die Registrierschicht ein Beizmittel für den Stoff B enthält.

15. Analytisches Element nach Anspruch 1 und 13, dadurch gekennzeichnet, dass die Verteilerschicht zusätzlich ein anorganisches Pigment enthält.

16. Analytisches Element nach einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass es aufgebaut ist aus einem strahlungsempfindlichen Schichtträger, auf den in Strömungskontakt aufgetragen sind:

eine wasser-resistente, isotrope poröse Verteilerschicht mit oder aus einem getriebenen Polymer, bestehend aus Celluloseacetat oder einem Polyamid und einem hierin dispergierten anorganischen Pigment sowie einer oberflächenaktiven Verbindung;

eine wasser-quellbare Reagensschicht aus einem hydrophilen Kolloid, bestehend aus Gelatine, Polyvinylalkohol, Polyvinylpyrrolidon, einem Acrylamid, Agarose und/oder einem Polysaccharid mit einem hierin verteilten Stoff A,

eine Strahlungs-Sperrschicht aus einem hydrophilen Kolloid, bestehend aus Gelatine, Polyvinylalkohol, Polyvinylpyrrolidon, einem Acrylamid, Agarose und/oder einem Polysaccharid mit einem hierin verteilten Pigment, bestehend aus Russ oder Kohlenstoff, Titandioxid und Bariumsulfat und

eine wasser-quellbare strahlungsdurchlässige Registrierschicht aus einem hydrophilen Kolloid, bestehend aus Gelatine, Polyvinylalkohol, Polyvinylpyrrolidon, einem Acrylamid, Agarose und/oder einem Polysaccharid und einem Beizmittel für den Stoff A.

17. Analytisches Element nach Anspruch 1 und 16, dadurch gekennzeichnet, dass die Reagensschicht Glucoseoxidase, Peroxidase und einen Indikator aus einer in Gegenwart von Wasserstoffperoxid und Peroxidase oxidierbaren Stoff zur Erzeugung eines Farbstoffes enthält.

18. Analytisches Element nach Anspruch 1 und 17, da-

durch gekennzeichnet, dass der Indikator besteht aus Antipyrenchlorhydrat und 1-Naphthol-2-sulfonsäure, Natriumsalz und dass ferner das Beizmittel in der Registrierschicht aus einem Copolymer mit wiederkehrenden Einheiten aus Styrol und N,N-Dimethyl-N-benzyl-3-maleimidopropylammoniumchlorid besteht.

Die Erfindung betrifft ein integrales analytisches Element für die Analyse von Flüssigkeiten, bestehend aus einem strahlungsdurchlässigen Schichtträger und mehreren hierauf aufgetragenen Schichten, von denen mindestens eine eine Reagensschicht ist.

Es ist allgemein bekannt, dass Flüssigkeiten, wie beispielsweise Wasser, Nahrungsmittel, z. B. Milch und biologische Flüssigkeiten, chemisch analysiert werden müssen. Für die Analyse derartiger Flüssigkeiten sind die verschiedensten analytischen Elemente bekannt geworden. In der Regel weisen derartige Elemente ein Reagens für die zu analysierende Substanz auf, das bei Kontakt mit der Flüssigkeit mit der zu analysierenden Substanz zur Ausbildung eines farbigen Stoffes führt oder eine andere erfassbare Veränderung aufgrund des Vorhandenseins der zu analysierenden Substanz herbeiführt. Derartige analytische Elemente weisen beispielsweise pH-Teststreifen auf oder andere ähnliche Indikatoren, wobei ein Papier oder ein anderer stark absorbierender Träger mit einem Material imprägniert wird, das zu einer chemischen Reaktion befähigt ist und auf Flüssigkeiten mit Wasserstoffionen oder anderen zu analysierenden Substanzen anspricht und entweder eine Farberzeugung hervorruft oder eine Farbänderung. Je nach der Auswahl der Reagenzien ist die bewirkte Farberzeugung oder Farbänderung im allgemeinen nur qualitativ oder im günstigsten Falle semiquantitativ. Oftmals sind jedoch quantitative Analysen erforderlich. So sind in den vergangenen Jahren grosse Anstrengungen unternommen worden, um analytische Elemente zu schaffen, die sich für die Durchführung diagnostischer chemischer Analysen eignen und mit denen biologische Flüssigkeiten, z. B. Körperflüssigkeiten, wie Blut, Serum, Urin und dgl. unter Erzielung quantitativer Ergebnisse schnell und in einfacher Weise analysiert werden können.

Die chemische Analyse von Lösungen, insbesondere die automatisierte Analyse von Lösungen hat in den vergangenen Jahren, insbesondere in klinischen Laboratorien breite Anwendung gefunden. Die bekannten Analyseverfahren erfordern jedoch vergleichsweise komplizierte Analysiervorrichtungen. Überdies sind Analysiergeräte für die Analyse von biologischen Flüssigkeiten, wie sie beispielsweise aus den US-PS 2 797 149, 3 036 893 und 3 526 480 bekannt sind, oftmals ausserordentlich kostspielig und erfordern ausgebildetes Bedienungspersonal.

Als eine Alternative für die Analyse von Lösungen sind verschiedene mehrschichtige integrale analytische Elemente für die Nicht-Lösungsanalyse, insbesondere die trockene chemische Analyse bekanntgeworden. Der Ausdruck «integral» bezeichnet dabei analytische Elemente, die zwei oder mehr diskrete übereinander angeordnete Schichten aufweisen, die nicht ohne Zerstörung des Elementes voneinander getrennt werden können. Obgleich praktisch trockene Analysemethoden beträchtliche Vorteile bezüglich Aufbewahrung des Analysematerials, Handhabung und dgl. im Vergleich zu den nassen Analysemethoden bieten, hat sich doch gezeigt, dass dem trockenen Verfahren nur ein begrenzter Erfolg beschieden war und dass derartige trockene Verfahren sich primär nur für qualitative und semiquantitative Analyseverfahren eignen.

Integrale analytische Elemente für die Analyse von Flüssigkeiten

sind beispielsweise aus der US-PS 3 092 465 bekannt. Kennzeichnend für derartige analytische Elemente sind absorbierende fasrige Träger, die mit einem oder mehreren Reagenzien imprägniert sind, in typischer Weise mit einem Farbbildner, wobei über dem Träger eine semipermeable Membran angeordnet ist. Bei Kontakt mit der zu analysierenden Flüssigkeit passiert die zu analysierende Substanz die Membran und gelangt in den fasrigen Träger, wobei die Substanz zu einer Färbung des Trägers entsprechend der Konzentration der Substanz führt. Die Membran verhindert den Durchtritt von störenden Komponenten und absorbiert derartige störende Komponenten, wie beispielsweise rote Blutkörperchen, welche die genaue Erkennung der erzeugten Farbe stören würden.

Analytische Elemente auf Basis von absorbierenden Filterpapieren und anderen fasrigen Medien zur Aufnahme und Verteilung von zu analysierenden Flüssigkeiten haben sich, insbesondere auf dem Gebiet der klinischen Analyse als nicht besonders populär erwiesen, im Vergleich zu den bekannten nassen chemischen Analyseverfahren, und zwar vermutlich insbesondere deshalb, weil sich mit den bekannten analytischen Elementen keine quantitativen Messergebnisse grosser Genauigkeit erhalten lassen. Aus der Literatur ist bekannt, dass für diagnostische Zwecke verwendbare Elemente, die feuchtigkeitsabsorbierend sind, beispielsweise fasrige Filterpapiere, keine gleichmässigen Testergebnisse liefern. Aus der US-PS 3 050 373 ist es ferner beispielsweise bekannt, dass Ausfällungen in den Imprägnierlösungen auftreten können, wodurch eine gleichförmige Verteilung des Reagenzes in dem Trägermaterial verhindert wird. Des weiteren hat sich gezeigt, dass analytische Elemente aus fasrigen, feuchtigkeitsabsorbierenden Stoffen zu nicht gleichförmigen Testergebnissen aufgrund eines Effektes neigen, der in der angelsächsischen Literatur als «banding» bekannt geworden ist. Unter «banding» ist dabei zu verstehen, dass verschiedene Abschnitte eines analytischen Elementes verschiedene Testergebnisse zeigen, und zwar aufgrund einer ungleichmässigen Wanderung der Komponenten der zu analysierenden Flüssigkeit oder chemischen Reagenzien innerhalb des Elementes. Aus den US-PS 3 061 523 und 3 104 209 ist es bekannt, dass Gelatine und gelatineartige Stoffe geeignete Bestandteile von Imprägnierlösungen sein können, und zwar ganz offensichtlich deshalb, weil sie die hohe Wanderungsgeschwindigkeit einzelner Substanzen zu verhindern vermögen und infolgedessen zu einer Verbesserung der Gleichförmigkeit der Testergebnisse beitragen. Es hat sich jedoch gezeigt, dass Gelatine und gelatineartige Stoffe in den fasrigen, Reagenzien enthaltenden analytischen Elementen zu einer Verminderung der Aufnahme der zu analysierenden Flüssigkeiten führen, im Vergleich zu den stark absorbierenden, gelatinefreien Materialien. Die verminderte Absorption kann dabei dazu führen, dass Flüssigkeit auf der Oberfläche des Elementes zurückbleibt und dass das Element gewaschen werden muss, um überschüssige Flüssigkeiten zu entfernen, bevor die analytische Bestimmung durchgeführt werden kann. Dies hat dazu geführt, dass die Menge an Gelatine, mit der eine feuchtigkeitsabsorbierende Matrix imprägniert werden kann, begrenzt ist. Derartige Eigenschaften sind auch gekennzeichnet für analytische Elemente, die Schichten aufweisen, die ganz aus Gelatine oder ähnlichen Stoffen aufgebaut sind, wie sie beispielsweise aus der US-PS 3 526 480 bekannt sind.

Integrale analytische Elemente für automatisierte analytische Verfahren sind beispielsweise aus den US-PS 3 368 872 und 3 526 480 bekannt. In den Patentschriften wird dabei auf Massnahmen zur Vermeidung chromatographischer Effekte verwiesen, und zwar durch Immobilisierung von Reagenzien oder durch Zusatz eines Mittels zur Verminderung der Tendenz einer auf das Element aufgetragenen Probe einen Wascheffekt auf das Reagens im Element auszuüben,

z. B. durch Verwendung einfacher poröser Schichten über einem absorbierenden, ein Reagens enthaltenden Material, z. B. fasrigem Filterpapier. In den Patentschriften findet sich jedoch kein Hinweis auf ein Element, das nicht nur eine flüssige Probe aufnimmt, sondern auch zu einer gleichförmigen Verteilung einer Flüssigkeitsprobe über der gesamten Reagensschichtoberfläche führt, die mit der flüssigen Probe in Kontakt gebracht wird. Eine derartige gleichförmige Verteilung der Probe ist jedoch extrem wichtig für eine automatisierte Auswertung der Testergebnisse, gleichgültig, ob es sich dabei um densitometrische, colorimetrische, fluorimetrische oder andere Verfahrensweisen handelt. Dies gilt auch dann, wenn grobe Ungleichförmigkeiten, wie sie beispielsweise durch chromatographische Effekte herbeigeführt werden, fehlen.

Ein Weg zur Herbeiführung einer etwas gleichförmigeren Konzentration einer zu analysierenden Substanz auf den Reagenzflächen eines Elementes für die trockene Analyse beruht auf einer Methode, die als «Proben-Beschränkung» bezeichnet werden kann. Aus der US-PS 3 368 872 ist es bekannt, analytische Elemente mit einer Art «Barriere» zu verwenden, um die Einwirkung einer Flüssigkeitsprobe auf einen vorbestimmten Bereich der Oberfläche des Elementes zu beschränken. Dies führt jedoch dazu, dass normalerweise überschüssige Flüssigkeit auf dem Element nach Aufbringung der Probe vorhanden ist. Dies kann sich nachteilig auswirken, und zwar bezüglich der Handhabung des Elementes, der Notwendigkeit der Entfernung von überschüssiger Flüssigkeit, und insbesondere deshalb, weil es erforderlich sein kann, dass eine extrem genaue Probendosierung erforderlich ist.

Die Notwendigkeit der Förderung oder Verhinderung der Wanderung von Stoffen zwischen den Schichten integraler analytischer Elemente ergibt sich beispielsweise aus den US-PS 2 761 813; 2 672 431; 2 672 432; 2 677 647; 2 923 669; 3 814 670 und 3 843 452. Jedoch finden sich derartige Hinweise im Zusammenhang mit Elementen, für die Bestimmung des Vorhandenseins von Mikroorganismen, wobei Elemente für derartige Zwecke in typischer Weise mindestens eine Schicht mit einer fasrigen Matrix aufweisen und nicht diskrete Schichten erfordern, wobei die Berührungsfläche der Schichten aus einer Mischung der benachbarten Schichten besteht, d. h. dass sich die Schichten an der Berührungsfläche vermischen.

Bis vor kurzem gab es keine Hinweise darauf, wie sich in einem analytischen Element nach Aufbringen einer zu analysierenden Probe in der Schicht des Elementes die zu analysierende Substanz, Substanzreaktionsprodukte oder andere Produkte so gleichförmig verteilen lassen, dass sie in einer benachbarten Schicht für analytische Reaktionen zur Verfügung stehen. Aufgrund der strukturellen und chemischen Charakteristika von feuchtigkeitsabsorbierenden und anderen fasrigen Materialien, die zur Herstellung der meisten bekannten analytischen Elemente verwendet werden, z. B. zur Herstellung von absorbierenden Cellulose-Filterpapieren, Glasfaserpapieren, Holz und dgl., kann die Herbeiführung gleicher gleichförmiger Konzentrationsverhältnisse in den Elementen, d. h. die gleichförmige Verteilung der zu analysierenden Substanzen behindert werden. Auch kann die Auswahl der fasrigen Materialien genaue Messungen verhindern, und zwar aufgrund grosser Ungleichförmigkeiten in den Eigenschaften der fasrigen Materialien, z. B. der Struktur und der Textur. So ist es beispielsweise bekannt, dass bei der Herstellung von Papieren, die zur Herstellung der Papiere verwendeten Fasern oftmals derart bearbeitet werden, dass kleinere Fasern entstehen, sogenannte «Tendrils», welche die Festigkeit des hergestellten Papiers erhöhen. Der Ausdruck «fasrig», der hier im Zusammenhang mit der Beschreibung von Materialien wie Papier und dgl. verwendet wird, bezieht

sich auf Materialien, die unter Verwendung vorgebildeter Fasern oder Faserstränge (strands) hergestellt werden, die in dem Endprodukt vorliegen. Beispiele für Fasern, die zur Herstellung derartiger fasriger Materialien verwendet werden können, werden näher beispielsweise in der US-PS 3 867 258 beschrieben.

Ein Nachteil von integralen analytischen Elementen fasriger Struktur besteht somit in der Ungenauigkeit, mit der die Farbanzeige oder Farbveränderung oder ein anderes Testergebnis erfassbar ist. Versuche, mit derartigen integralen analytischen Elementen zu verbesserten Ergebnissen zu gelangen, sind fehlgeschlagen. Als Beispiel sei die US-PS 3 723 064 genannt, aus der ein analytisches Element bekannt ist, das Bereiche verschiedener Permeabilität für eine zu analysierende Substanz oder ein Reaktionsprodukt einer zu analysierenden Substanz aufweist, wobei in den einzelnen Bereichen Farbanzeigen oder Farbveränderungen nur bei bestimmten verschiedenen Mindestkonzentrationen auftreten. Obgleich der Wunsch nach einem Element mit kontinuierlichem Ansprechvermögen offensichtlich ist, kann ein analytisches Element des aus der US-PS 3 723 064 bekannten Typs lediglich zu einem ungefähren analytischen Ergebnis führen, wobei das erzielbare Ergebnis um so ungenauer wird, um so grösser der Unterschied zwischen den verschiedenen Permeabilitätsbereichen ist. Wird die Differenz in der Permeabilität zwischen den verschiedenen Bereichen vermindert, um den Abstand zwischen den einzelnen Schwellwerten im Interesse einer erhöhten Ansprechgenauigkeit zu verkleinern, so steigt die Komplexität des herzustellenden Elementes stark an. In der US-PS 3 723 064 findet sich kein Hinweis darauf, wie sich die Gleichförmigkeit und Genauigkeit von Testergebnissen verbessern lässt und im optimalen Falle zeigen Elemente des aus der US-PS 3 723 064 bekannten Typs ein diskontinuierliches Ansprechvermögen, das in jedem Bereich der Permeabilität aufgrund der Ungleichförmigkeiten, die mit der Verwendung von Filterpapieren und anderen fasrigen Materialien verbunden sind, ungleichförmig ist.

Aus der US-PS 3 791 933 ist des weiteren ein Verfahren für die Untersuchung von Enzymsubstraten und Metaboliten, z. B. in Körperflüssigkeiten bekannt. Bei diesem Verfahren wird jedoch kein integrales analytisches Element verwendet. Vielmehr werden mehrere Teilelemente mittels einer Klammer für die Aufnahme einer Testprobe, zum Abfiltrieren oder zur anderweitigen Entfernung grosser Probenbestandteile, z. B. zum Entfernen von Proteinen und zur Herbeiführung einer Reaktion unter Erzeugung eines erfassbaren Ergebnisses, z. B. zur Erzeugung eines Farbtönen, zusammengefügt. Obgleich in der US-PS 3 791 933 angegeben ist, dass Glasfaserpapier dazu beitragen kann, eine Reaktionsmischung über einem plastischen Betrachterfenster zu verteilen, unterstützt ein solches Material doch ganz offensichtlich hauptsächlich die äussere Diffusion der Flüssigkeitsproben in die Glasfaserschicht, unter Vergrößerung des Bereiches des Elementes, der ein Testergebnis zeigt, so dass das Ergebnis leichter sichtbar wird. In der Patentschrift findet sich kein Hinweis darauf, wie sich im Diffusionsbereich eine gleichmässige Konzentration der zu analysierenden Substanz erzeugen lässt, was für die Erzielung gleichmässiger analytischer Ergebnisse ausserordentlich wichtig ist.

Verbesserte mehrschichtige integrale analytische Elemente sind des weiteren aus der FR-PS 2 191 734 bekannt. Beim Auftragen einer zu analysierenden Flüssigkeitsprobe auf das Element wird eine gleichförmige Verteilung oder Ausbreitung der zu analysierenden Substanz, anderer Probenbestandteile oder eines Reaktionsproduktes der zu analysierenden Substanz mittels einer Ausbreitschicht erreicht, wobei in Gegenwart der zu analysierenden Substanz ein analytisches Ergebnis erzielt wird, das aufgrund seiner Gleichmässigkeit in automatisch arbeitenden Vorrichtungen quantitativ erfasst

werden kann, beispielsweise auf spektrophotometrischem oder fluorimetrischem Wege. Die aus der FR-PS 2 191 734 bekannten Elemente weisen Ausbreit- oder Verteilerschichten sowie Reagensschichten auf, die eine reaktionsfähige oder in anderer Weise reaktive Verbindung enthalten, die aufgrund ihrer Aktivität im Element eine radiometrisch erfassbare Veränderung herbeiführt, beispielsweise eine Farbveränderung.

Eine Farberzeugung oder die Herbeiführung eines anderen analytischen Ergebnisses erfordert jedoch oftmals eine Reihe von Reaktionen, die schwierig zu steuern sind und welche chemischen und/oder anderen Störungen unterliegen. So können beispielsweise die zu analysierende Flüssigkeit oder Nebenprodukte der analytischen Bestimmung innerhalb des Elementes Bestandteile liefern, welche das Testergebnis beeinflussen.

Aufgabe der Erfindung ist es, ein integrales analytisches Element für die trockene Analyse von Flüssigkeiten anzugeben, in dem die Stoffe oder Verbindungen, die das Testergebnis charakterisieren, erfassbar oder erkennbar sind, ohne dass dabei Störungen durch solche Bestandteile hervorgerufen werden, welche zu unerwünschten Farbveränderungen oder Farbbeeinflussungen, einer Fluoreszenz und dgl., führen. Insbesondere sollten die aus der FR-PS 2 191 734 bekannten analytischen Elemente, die an sich einen wesentlichen technischen Fortschritt auf dem Gebiet der analytischen Elemente für die trockene Analyse von Flüssigkeiten darstellen, noch weiter verbessert werden. Ganz speziell sollten sich die erfindungsgemässen integralen analytischen Elemente für die Analyse von Flüssigkeiten, wie beispielsweise biologischen Flüssigkeiten, eignen.

Gegenstand der Erfindung ist ein integrales analytisches Element für die Analyse von Flüssigkeiten, bestehend aus einem strahlungsdurchlässigen Schichtträger und mehreren hierauf aufgetragenen Schichten, von denen mindestens eine eine Reagensschicht ist, das gekennzeichnet ist durch:

(a) mindestens eine für die zu analysierende Substanz oder einen Vorläufer derselben permeable Reagensschicht mit einem Stoff A, der mit der zu analysierenden Substanz oder dem Vorläufer unter Bildung eines diffundier- und erfassbaren Stoffes B zu reagieren vermag oder die Bildung eines Stoffes B bewirkt;

(b) eine zwischen Reagensschicht und Schichtträger angeordnete, für den in der Reagensschicht gebildeten diffundier- und erfassbaren Stoff B permeable Registrierschicht für die Erfassung des Stoffes B sowie mindestens eine der folgenden Schichten (c) und (d), nämlich

(c) eine zwischen Reagens- und Registrierschicht angeordnete, für den Stoff B permeable Strahlungs-Sperrschicht und

(d) eine isotrop-poröse Verteilerschicht zum Verteilen der zu analysierenden Substanz oder des Vorläufers derselben über der vom Schichtträger abgewandten Seite der Reagensschicht.

Der Ausdruck «integral» bedeutet dabei, dass es sich bei dem erfindungsgemässen analytischen Element um die «integrale» Anordnung von mindestens drei auf einem Schichtträger angeordneten Schichten handelt. Ein erfindungsgemässes Element erfüllt intern eine Vielzahl von Proben-Handhabungs- und/oder Entwicklungsfunktionen. Zu ihrer Verwendung sind keine Experten erforderlich, wobei sich bei ihrer Verwendung quantitative analytische Ergebnisse ohne einen besonderen Tüpfelprozess und ohne andere besondere zu treffende Massnahmen, beispielsweise eine Probenbeschränkung, ein Wasche des Elementes oder eine anderweitige Entfernung von überschüssiger Prüfflüssigkeit erzielen lassen. Des weiteren sind die mit einem erfindungsgemässen Element erzielbaren Testergebnisse reproduzierbar und frei von Abweichungen, so dass sich die Ergebnisse auf

automatischem Wege erfassen lassen, beispielsweise mittels elektromagnetischer Strahlung (radiometrische Verfahren), falls dies gewünscht ist, unter einem minimalen Risiko an Ungenauigkeiten.

5 Ein erfindungsgemässes analytisches Element besteht somit aus mehreren übereinander angeordneten Schichten, die innerhalb des Elementes in kurzer Zeit erfassbare Veränderung herbeiführen können als Folge des Vorhandenseins einer zu analysierenden Substanz in einer Flüssigkeit, die dem  
10 Element zugeführt wird.

Ein erfindungsgemässes analytisches Element eignet sich in besonders vorteilhafter Weise für die diagnostische Analyse von biologischen Flüssigkeiten, z. B. Blut, Blutserum und Urin.

15 Die Reagensschicht ist dabei permeabel mindestens für die zu analysierende Substanz oder eine Vorläuferverbindung derselben und weist einen Stoff oder eine Verbindung auf, der mit der zu analysierenden Substanz oder dem Vorläufer derselben unter Bildung eines diffundier- und erfassbaren  
20 Stoffes B zu reagieren vermag oder die Bildung eines Stoffes B bewirkt. Der Stoff B kann dabei beispielsweise aus einem Farbstoff bestehen, der diffundierbar innerhalb des Elementes ist. Die Registrierschicht ist permeabel für den zu bestimmenden Stoff und soll das Erfassen des zu bestimmenden  
25 Stoffes ermöglichen, z. B. auf radiometrischem Wege.

Die Registrierschichten werden dabei in vorteilhafter Weise ohne jeglichen chemisch reaktionsfähigen Stoff oder solche Stoffe hergestellt, die die Erkennung oder Erfassung des Stoffes B behindern würden. Die einzelnen Schichten des erfindungsgemässen Elementes sind dabei auf einem  
30 für Strahlung durchlässigen Schichtträger angeordnet.

Der Ausdruck «strahlungsdurchlässig» bezieht sich auf Schichten und Schichtträger, welche für elektromagnetische Strahlung durchlässig sind, die zur Erfassung eines analytischen Ergebnisses im Element verwendet wird. In vorteilhafter Weise ist dabei eine Durchlässigkeit für elektromagnetische Strahlung einer Wellenlänge oder eines Wellenlängenbereiches von etwa 200 nm bis 900 nm gemeint, sowie von erfassbarer Strahlung, wie sie durch Radioaktivität erzeugt wird. In vorteilhafter Weise sind die strahlungsdurchlässigen  
35 Schichten und Schichtträger transparent. Die Verwendung von strahlungsdurchlässigen Schichten und Schichtträgern bietet beispielsweise Vorteile im Falle von Messungen, die bei vergleichsweise geringen Strahlungsniveaus durchgeführt werden.

40 In vorteilhafter Weise weist ein erfindungsgemässes integrales analytisches Element eine Strahlungs-Sperrschicht auf, die in vorteilhafter Weise zwischen der Reagensschicht und der Registrierschicht angeordnet ist. Bei der Strahlungs-Sperrschicht handelt es sich um eine Schicht, die ein oder mehrere Trübungsmittel enthält und die Aufgabe hat, den Eintritt elektromagnetischer Strahlung in die Schicht oder durch die Schicht zu verhindern, z. B. von Strahlung einer solchen Wellenlänge oder eines solchen Wellenlängenbereiches, die bzw. der für die Anregung und/oder Erfassung einer  
45 Substanz innerhalb der Registrierschicht verwendet wird.

In vorteilhafter Weise weist ein erfindungsgemässes analytisches Element des weiteren eine Proben-Verteilerschicht oder Ausbreitschicht auf, die sich in Flüssigkeitskontakt mit den anderen Schichten des Elementes befindet, beispielsweise der Reagensschicht und der Registrierschicht. Die Proben-Verteilerschicht oder Dosierschicht hat die Aufgabe, innerhalb der Schicht eine oder mehrere Substanzen zu verteilen oder zu dosieren, einschliesslich der zu analysierenden Substanz oder einer Vorläuferverbindung derselben einer Flüssigkeitsprobe, die auf das Element aufgebracht wird, so dass eine gleichförmige Konzentration der Substanz an der  
50 Oberfläche der Verteilerschicht erzeugt wird, die der Reagensschicht gegenüberliegt. Die im Einzelfalle angewandte Probe

braucht nicht beschränkt zu sein, um eine solch gleichförmige Konzentration zu erreichen, welche, obgleich gleichförmig zu jedem Zeitpunkt, sich doch innerhalb einer bestimmten Zeitspanne ohne nachteilige Effekte verändern kann.

Bei der Verteilerschicht handelt es sich in vorteilhafter Weise um eine isotrop-poröse Schicht, d. h. eine Schicht, die porös in jeder Richtung ist. Der Grad der Porösität kann dabei verschieden sein, beispielsweise bezüglich der Porengrösse, des Prozentsatzes des Porenvolumens oder in anderer Weise. Der Ausdruck «isotrope Porösität» oder «isotrop-porös» ist dabei nicht zu verwechseln mit den Ausdrücken isoporös und ionotrop, die oftmals im Zusammenhang mit Filtermembranen gebraucht werden, und zwar zur Kennzeichnung von solchen Membranen, die Poren aufweisen, die sich zwischen den Membranoberflächen befinden. Des weiteren ist eine isotrope Porösität nicht zu verwechseln mit dem Ausdruck isotrop, der das Gegenteil des Ausdruckes anisotrop ist, und der zur Kennzeichnung von Filtermembranen verwendet wird, die eine dünne «Haut» auf mindestens einer Oberfläche der Membran aufweisen. Verwiesen wird in diesem Zusammenhang beispielsweise auf das Buch von James Flinn, «Membrane Science and Technology», Verlag Plenum Press, New York (1970).

Die Reagensschicht ist vorzugsweise von praktisch gleichförmiger Permeabilität gegenüber mindestens einer Substanz, die innerhalb der Verteilerschicht verteilt oder ausgebreitet wird und gegenüber dem diffundier- und erfassbaren Stoff B, der in der Reagensschicht erzeugt wird. Die Registrierschicht weist vorzugsweise eine praktisch gleichförmige Permeabilität gegenüber dem erfassbaren Stoff B auf.

Eine gleichförmige Permeabilität einer Schicht liegt dann vor, wenn eine homogene Flüssigkeit gleichförmig auf eine Oberfläche der Schicht aufgebracht wird und wenn gleiche Messungen der Konzentration der Flüssigkeit in der Schicht, jedoch in verschiedenen Bereichen einer Oberfläche der Schicht zu praktisch den gleichen Ergebnissen führen. Aufgrund einer gleichförmigen Permeabilität können unerwünschte Konzentrationsgradienten vermieden werden, beispielsweise innerhalb einer Reagensschicht. Es ist nicht erforderlich, dass alle möglichen Messverfahren zu solchen Ergebnissen führen. Das Erwünschtsein einer speziellen Technik und von speziellen Mess-Parametern hängt ab von den physikalischen Charakteristika der Schicht, z. B. der Tendenz der Schicht, Strahlung durchzulassen, zu absorbieren oder zu streuen. Die Auswahl einer geeigneten Messmethode, z. B. einer colorimetrischen, sensitometrischen oder fluorimetrischen Messmethode sowie von geeigneten Mess-Parametern, z. B. Blendenöffnungen und Konfiguration ist dem Fachmann geläufig, dem derartige analytische Verfahren vertraut sind.

Eine gleichförmige Permeabilität ist bekanntlich nicht charakteristisch für faserige Materialien, beispielsweise Filterpapier. Es ist anzunehmen, dass Faktoren, wie beispielsweise unterschiedliche Verflechtungsgrade innerhalb des faserigen Materials, Unterschiede in der Fasergrösse, im Faserabstand und dgl., die Ausbildung von Veränderungen in den Flüssigkeitskonzentrationen in dem faserigen Material und hiermit in Kontakt stehenden Materialien beeinflussen können. Dies führt naturgemäss zu unerwünschten Effekten bei Testen, die mit verschiedenen Konzentrationsbereichen durchgeführt werden. Dies bedeutet, dass eine gleichförmige Permeabilität von Reagensschicht, Registrierschicht und anderen Schichten innerhalb eines analytischen Elementes für die Erleichterung der Erfassung analytischer Ergebnisse wichtig ist. Die Wirksamkeit der Erfassung analytischer Ergebnisse kann des weiteren beispielsweise durch irreguläre Konzentrations- und anderer Diskontinuitäten des Aufzeichnungsmaterials beeinträchtigt werden.

Die einzelnen Schichten eines erfindungsgemässen integra-

len analytischen Elementes befinden sich in einem «Strömungskontakt» (fluid contact) miteinander. Dies bedeutet, dass ein Fluidum, und zwar eine Flüssigkeit oder ein Gas, ein solches Element passieren kann. Ein integrales analytisches Element nach der Erfindung ist somit dadurch gekennzeichnet, dass die Komponenten einer Flüssigkeit zwischen den im Strömungskontakt miteinander stehenden Schichten befördert werden können. Im Falle der Analyse von Stickstoff enthaltenden Verbindungen beispielsweise, können Ammoniak oder andere Stickstoff enthaltende Gase das Fluidum darstellen, das durch die Schichten befördert wird. Obgleich die sich in «Strömungskontakt» (oder Flüssigkeitskontakt) miteinander befindlichen Schichten einander benachbart sind, können sie gegebenenfalls durch Zwischenschichten voneinander getrennt sein. Auch diese Schichten befinden sich dann mit den anderen Schichten im Strömungskontakt und behindern den Durchtritt von Flüssigkeiten oder Gasen durch die einzelnen Schichten nicht.

Unter «diffundierbar» sind hier Substanzen oder Verbindungen zu verstehen, welche in dem analytischen Element zu diffundieren vermögen, wenn die Substanz bzw. Verbindung in einer Flüssigkeit im Element vorliegt, z. B. dem Lösungsmittel- oder Dispersionsmedium der Flüssigkeitsprobe, die auf das Element aufgebracht worden ist. In entsprechender Weise kennzeichnet der Ausdruck «permeabel» die Fähigkeit einer Schicht, wirksam von einer Substanz oder einem Stoff durchsetzt zu werden, der z. B. gelöst oder dispergiert in einer Flüssigkeitsprobe vorliegt.

Bei seiner Verwendung wird einem erfindungsgemässen analytischen Element eine Flüssigkeitsprobe zugeführt, wobei, falls die zu analysierende Substanz zugegen ist, eine chemische Reaktion oder irgendeine andere Einwirkung innerhalb der Reagensschicht erfolgt, unter Erzeugung einer diffundierbaren, vorzugsweise radiometrisch erfassbaren Substanz oder Verbindung, die aus der Reagensschicht in die Registrierschicht diffundiert, in der sie erfasst werden kann. Wie bereits dargelegt, kann in vorteilhafter Weise eine Strahlungsspererschicht zwischen Reagensschicht und Registrierschicht angeordnet werden. Auch kann in vorteilhafter Weise eine Verteilerschicht oder Dosierschicht vorhanden sein, in welchem Falle eine auf das Element aufgebrachte Probe durch die Verteiler- bzw. Dosierschicht gelangt, bevor sie auf die Reagensschicht auftrifft, wobei die zu analysierende Substanz oder die entsprechende Vorläufersubstanz in dieser Schicht verteilt wird unter Erzeugung einer gleichförmigen Konzentration der Substanz oder Substanzvorläuferverbindung an der Oberfläche der Verteilerschicht, die der Reagensschicht gegenüberliegt oder an diese anstösst. Es hat sich gezeigt, dass eine solche gleichförmige Konzentration über einen breiten Bereich von Probenvolumina, die auf das Element aufgebracht werden, erzielt werden kann. Aufgrund des Strömungs- oder Flüssigkeitskontaktes zwischen der Verteilerschicht oder Bemessungsschicht einerseits und der Reagensschicht andererseits sowie aufgrund der vorteilhaften gleichförmigen Permeabilität der Reagensschicht für Substanzen, die in der Ausbreitschicht oder Verteilerschicht verteilt werden oder der gleichförmigen Permeabilität der Reagensschicht gegenüber Produkten, die aufgrund einer Reaktion oder einer Aktion derartiger Substanzen erzeugt worden sind, standteilen aus der Verteiler- oder Ausbreitschicht in die erfolgt eine gleichförmige Zufuhr oder Dosierung von Bestandteilen aus der Verteiler- oder Ausbreitschicht in die Reagensschicht, welche die Reagensschicht durchdringen, ohne dass dabei Konzentrationsveränderungen der Substanzen oder von Produkten hiervon auftreten. Aufgrund des Vorhandenseins einer aktiven, z. B. chemisch reaktiven Substanz oder Verbindung und einer gleichförmigen Konzentration der Substanz, die durch die Verteilerschicht für die Reagensschicht hervorgerufen wird, kann im Element eine

gleichförmige quantitativ erfassbare Veränderung hervorgehoben werden. Eine solche Veränderung, die in der Erzeugung oder einem Abbau oder einer Zerstörung einer Farbe oder Färbung oder Fluoreszenz bestehen kann, kann quantitativ durch radiometrische Verfahren erfasst werden, gegebenenfalls durch automatisch arbeitende radiometrische Abtastvorrichtungen, z. B. photometrische oder fluorimetrische Vorrichtungen.

In der Zeichnung sind in den Fig. 1 bis 4 vier vorteilhafte integrale analytische Elemente nach der Erfindung schematisch vergrössert im Schnitt dargestellt.

Wie bereits dargelegt, weisen die erfindungsgemässen integralen analytischen Elemente eine Reagensschicht auf, die sich in Strömungs- oder Flüssigkeitskontakt mit einer Registrierschicht befindet, die vorzugsweise strahlungsdurchlässig ist. Die Schichten sind dabei auf einem Schichtträger angeordnet, der vorzugsweise ebenfalls strahlungsempfindlich ist.

Gemäss einer vorteilhaften Ausgestaltung eines integralen analytischen Elementes nach der Erfindung besteht das Element aus einem strahlungsempfindlichen Schichtträger mit hierauf im Strömungs- oder Flüssigkeitskontakt, nicht-fasrigen Schichten, einschliesslich (1) einer Reagensschicht, die permeabel ist für mindestens eine zu analysierende Substanz oder eine Vorläufersubstanz und welche einen Stoff oder eine Substanz enthält, die in Gegenwart der zu analysierenden Substanz oder der Vorläufersubstanz einen diffundierbaren und erfassbaren Stoff B zu liefern vermag; (2) einer Strahlungs-Sperrschicht, die für den erfassbaren Stoff B permeabel ist und (3) einer strahlungsdurchlässigen Registrierschicht, die für den erfassbaren Stoff permeabel ist und in welcher der erfassbare Stoff erfasst werden kann. Gegebenenfalls kann die Registrierschicht in vorteilhafter Weise ein Beizmittel für den erfassbaren Stoff B enthalten. Die Registrierschicht befindet sich dabei vorzugsweise zwischen Schichtträger und der Strahlungs-Sperrschicht, wobei die Strahlungs-Sperrschicht zwischen der Registrierschicht und der Reagensschicht angeordnet ist. Die Reagensschicht weist des weiteren vorzugsweise eine gleichförmige oder praktisch gleichförmige Permeabilität gegenüber der zu analysierenden Substanz bzw. der entsprechenden Vorläuferverbindung und gegenüber dem diffundierbaren, erfassbaren Stoff auf. Die Registrierschicht ist von einer solchen Permeabilität bezüglich des erfassbaren Stoffes. Die Strahlungs-Sperrschicht, obgleich normalerweise nicht als «disruptiv» bezüglich der Konzentration des erfassbaren Stoffes betrachtet, der der Strahlungs-Sperrschicht von der Reagensschicht zugeführt wird, weist vorzugsweise eine ebenfalls gleichförmige Permeabilität gegenüber dem erfassbaren Stoff auf. In vorteilhafter Weise kann die Strahlungs-Sperrschicht ein Trübungsmittel enthalten, z. B. ein Pigment, ein Polymer in geeigneter Form, z. B. ein sog. «Blushed-Polymer», d. h. getrübbtes Polymer, oder beides.

Gemäss einer weiteren, besonders vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung weist ein integrales analytisches Element nach der Erfindung auf einem Schichtträger in Strömungs- oder Flüssigkeitskontakt miteinander die folgenden Schichten auf: eine Reagensschicht, eine Registrierschicht und gegebenenfalls eine Strahlungs-Sperrschicht, wobei die einzelnen Schichten den Schichten der bereits beschriebenen Ausführungsform entsprechen, wobei zusätzlich jedoch gilt, dass das Element eine zusätzliche Verteiler- oder Bemessungsschicht aufweist, die vorzugsweise isotrop-porös ist und derart im Element angeordnet ist, dass sich die Reagensschicht zwischen Registrierschicht und der Verteilerschicht befindet.

Gemäss einer vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung sind die Schichten der Elemente nicht-fasrig.

Die Reagensschichten der erfindungsgemässen Elemente sind in vorteilhafter Weise gleichförmig permeabel und gege-

benenfalls in vorteilhafter Weise porös gegenüber Substanzen, die innerhalb der Verteilerschicht oder Ausbreitschicht verteilt bzw. ausgebreitet werden und gegenüber Produkten hiervon oder Produkten, die das Ergebnis einer Reaktion oder einer Aktion solcher Substanzen sind. Der Ausdruck «Permeabilität» schliesst hier die Permeabilität ein, die sich aus einer Porosität, der Fähigkeit zu quellen oder anderen Charakteristika ergibt.

Die Reagensschichten können einen Matrix oder einen Träger aufweisen, in der bzw. in dem die reaktionsfähige Substanz verteilt vorliegt, d. h. gelöst oder dispergiert. Zur Herstellung der Schichten können die verschiedensten Träger- oder Bindemittel verwendet werden. Sie können dabei beispielsweise aus hydrophilen Stoffen bestehen, und zwar natürlich vorkommenden Stoffen, z. B. Gelatine, Gelatine-derivaten, hydrophilen Cellulosederivaten, Polysacchariden, z. B. Dextran, Gummiarabicum, Agarose und dergleichen wie auch aus synthetischen Stoffen, z. B. wasserlöslichen Polyvinylverbindungen, z. B. Polyvinylalkohol und Polyvinylpyrrolidon, Acrylamidpolymeren und dergleichen. Auch können in vorteilhafter Weise organophile Stoffe verwendet werden, z. B. Celluloseester, wobei der im Einzelfalle verwendete Stoff von dem Verwendungszweck des im Einzelfalle herzustellenden Elementes abhängt. Um die Permeabilität der Reagensschicht zu fördern, ist es oftmals vorteilhaft, falls die Reagensschicht nicht porös ist, einen Träger oder eine Matrix zu verwenden, der bzw. die in dem Lösungsmittel oder Dispersionsmittel der zu analysierenden Flüssigkeit quellbar ist. Ausserdem kann es erforderlich sein, das Träger- oder Bindemittel derart auszuwählen, dass eine Verträglichkeit mit den benachbarten Schichten gewährleistet ist, z. B. beim Auftragen der Schichten, während der Herstellung des Materials und dergleichen. Ist beispielsweise die Ausbildung diskreter Schichten erwünscht und ist beabsichtigt, wässrige Flüssigkeiten zu analysieren, so kann es vorteilhaft sein, ein wasserlösliches oder im wesentlichen wasserlösliches Bindemittel für die Reagensschicht auszuwählen und ein organolösliches oder organodispersierbares oder im wesentlichen organolösliches oder im wesentlichen organodispersierbares Bindemittel für die benachbarte Schicht, beispielsweise die Verteilerschicht. Auf diese Weise kann eine wechselseitige Lösungsmittelleinwirkung auf ein Minimum vermindert werden und eine klar abgegrenzte Schichtenstruktur erzeugt werden.

In vielen Fällen kann es vorteilhaft sein, zur Erleichterung der Konzentrationsgleichförmigkeit innerhalb der Verteiler- oder Ausbreitschicht, eine Reagensschicht vorzusehen, deren Permeabilität geringer ist als die der Verteilerschicht. Relative Permeabilitäten lassen sich dabei nach bekannten Methoden bestimmen.

Innerhalb der Reagensschicht liegt ein Stoff A vor, der in Gegenwart der zu analysierenden Substanz zu einer Reaktion oder Aktion befähigt ist. Der Stoff A hängt dabei davon ab, für welche Aufgabe das integrale analytische Element bestimmt ist. Gegebenenfalls kann dieser Stoff A auch mit einem Vorläufer der zu analysierenden Substanz reagieren, z. B. im Falle von Elementen, die für die Bestimmung von Cholesterin bestimmt sind, das im Serum in veresterter Form vorliegt und im Falle von Triglyzeriden, die oftmals auf Basis der Glycerinkomponente der Triglyzeride analysiert werden. Der Stoff A kann ein chemisch reaktionsfähiger Stoff sein, kann eine katalytische Aktivität aufweisen, beispielsweise im Falle der Bildung eines Enzym-Substratkomplexes oder kann zu einer anderen Form einer chemischen oder physikalischen Reaktion oder Aktion befähigt sein unter Erzeugung eines diffundierbaren Stoffes, der radiometrisch erfassbar ist, d. h. durch eine geeignete Messung im Licht oder einer anderen elektromagnetischen Strahlung.

Die Verteilung des Stoffes A kann durch Lösen oder Dispergieren des Stoffes in dem Träger oder Bindemittel er-

reicht werden. Obgleich eine gleichförmige Verteilung des Stoffes A vorteilhaft sein kann, ist sie doch nicht unbedingt erforderlich, wenn es sich bei dem Stoff A beispielsweise um ein Enzym handelt. Reagenzien oder andere reaktionsfähige oder aktive Stoffe und Verbindungen, die in der zu analysierenden Flüssigkeit löslich sind, können in vorteilhafter Weise in der Reagensschicht immobilisiert werden, und zwar insbesondere dann, wenn die Reagensschicht porös ist. Der im Einzelfalle in der Reagensschicht vorhandene Stoff A hängt von dem Verwendungszweck des analytischen Elementes ab. Gemäss einer vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung enthält die Reagensschicht als Stoff A ein Enzym, z. B. eine Oxidase, z. B. Glucoseoxidase oder Cholesterin-oxidase, wenn das Element für die Analyse einer Substanz bestimmt ist, die ein Substrat für ein solches Enzym darstellt. Beispielsweise kann in der Reagensschicht ein oxidatives Enzym vorliegen, gemeinsam mit Peroxidase oder ein peroxidativer Stoff und eine Verbindung oder eine Mischung von Verbindungen der bzw. die bei Oxidation in Gegenwart der Peroxidase (oder einer anderen Substanz mit peroxidativer Aktivität) und dem Wasserstoffperoxid, das bei Einwirkung einer Oxidase und ihrem Substrat einen Farbstoff liefert oder einen anderen erfassbaren Stoff. Erfindungsgemäss soll der erfassbare Stoff diffundierbar sein, so dass er in die permeable Registrierschicht diffundieren kann. Eine solche Diffusionsfähigkeit kann im Falle von erfassbaren Stoffen, die nicht von Natur aus diffundierbar sind, durch bekannte Massnahmen erreicht werden, beispielsweise durch Zuführung chemischer Reste, welche die gewünschte Löslichkeit bewirken. In den Fällen, in denen wässrige Flüssigkeiten zu analysieren sind, können beispielsweise löslich machende Reste wie Hydroxyl-, Carboxyl- und Sulfonsäurereste zum Löslichmachen herangezogen werden.

Verbindungen oder Substanzen, die einen oxidierbaren Rest aufweisen und einen erfassbaren Stoff liefern können, können bestimmte Farbstoffe liefernde Verbindungen bzw. Substanzen sein. So kann ein Element beispielsweise eine Verbindung enthalten, die im oxidierten Zustand mit sich selbst oder mit ihrer reduzierten Form unter Bildung eines Farbstoffes kuppeln kann. Zu derartigen zu einer «Autokuppelungsreaktion» befähigten Verbindungen gehören eine Vielzahl von hydroxylierten Verbindungen, beispielsweise Orthoaminophenole, 4-Alkoxy-naphthole, 4-Amino-5-pyrazolone, Polyhydroxyverbindungen wie Kresole, Pyrogallol, Guaiacol, Orcinol, Bronzkatechin, Phloroglucinol, p,p-Dihydroxydiphenyl, Gallussäure, Dihydroxybenzoesäuren, z. B. 2,3-Dihydroxybenzoesäure und Salicylsäure. Verbindungen dieses Typs sind bekannt und werden beispielsweise in dem Buch von Mees und James, «The Theory of the Photographic Process», 1966, insbesondere Kapitel 17, näher beschrieben.

Gemäss einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung kann der erfassbare Stoff durch Oxidation eines Leucofarbstoffes unter Bildung des entsprechenden Farbstoffes erzeugt werden. Typische Leucofarbstoffe sind beispielsweise Leucomalachitgrün und Leucophenolphthalein. Weitere Leucofarbstoffe, die verwendbar sind, sind beispielsweise als oxichromogene Verbindungen bezeichneten Leucofarbstoffe des aus der US-PS 3 880 658 bekannten Typs. Aus dieser Patentschrift geht auch hervor, dass derartige Verbindungen mit bestimmten Substituenten diffundierbar sein können. In besonders vorteilhafter Weise werden erfindungsgemäss die nicht stabilisierten oxichromogenen Verbindungen des aus der US-PS 3 880 658 bekannten Typs verwendet.

Gemäss einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung werden die analytisch erfassbaren Stoffe durch Farbstoffe bildende Verbindungen oder Massen erzeugt, z. B. einem Kuppler und einer oxidierbaren Verbindung, die zu einer oxidativen Kondensation mit einer Kupplerverbindung befähigt ist, z. B. mit einem Kuppler mit phenolischen Resten

oder aktivierten Methylenresten. Beispiele für derartige oxidierbare Verbindungen sind Benziden und seine Homogen, p-Phenylendiamine, p-Aminophenole, 4-Aminoantipyrin und dergleichen. Derartige Kuppler und autokuppelnde Verbindungen sind aus der Literatur bekannt, beispielsweise aus dem bereits zitierten Buch von Mees und James und aus dem Buch von Kosar «Light-Sensitive Systems», 1965, Seiten 215 bis 249.

In vorteilhafter Weise verwendbare Farbstoffe erzeugende Verbindungen sind 4-Methoxy-1-naphthol, eine autokuppelnde Substanz und ferner die Kombination von 4-Aminoantipyrin (HCl) als oxidierbare Verbindung gemeinsam mit 1,7-Dihydroxynaphthalin als Kuppler.

Zur Erleichterung der Erfassung oder Bestimmung einer jeden Änderung, die in einem der erfindungsgemässen Elemente hervorgerufen wird, z. B. der Erfassung einer Farbveränderung, einer Veränderung der optischen Dichte oder der Fluoreszenz, weisen die erfindungsgemässen Elemente eine Schicht auf, die der Aufnahme eines jeden Reaktionsproduktes oder anderen Stoffes dient, das in der Reaktionsschicht erzeugt wurde, wobei das relative Vorhandensein oder die relative Abwesenheit desselben zur Erfassung oder Erkennung eines analytischen Ergebnisses in Beziehung steht. Eine solche Schicht, die hier als Registrierschicht bezeichnet wird, ist permeabel gegenüber erfassbaren Stoffen oder Substanzen, die im Element erzeugt werden. Die Schicht befindet sich im Strömungskontakt oder Flüssigkeitskontakt mit einer Reagensschicht. Gegebenenfalls kann die Registrierschicht von der oder den Reagensschichten durch eine Strahlungs-Sperrschicht getrennt sein, z. B. eine reflektierende und/oder opake Schicht, um die Erfassung oder Ermittlung der analytischen Ergebnisse nach den verschiedensten radiometrischen Methoden zu erleichtern. Die Registrierschicht, die in vorteilhafter Weise auch in den zu analysierenden Flüssigkeiten quellbar ist, kann ein oder mehrere hydrophile Kolloide enthalten, beispielsweise solche, die zur Herstellung der Reagensschicht oder Reagensschichten verwendet werden. In vorteilhafter Weise soll die Registrierschicht des weiteren strahlungsdurchlässig sein, um die Erfassung der Ergebnisse zu erleichtern. Handelt es sich bei dem erfassbaren Stoff, der im Element erzeugt wird, um einen Farbstoff, so kann die Registrierschicht zusätzlich ein Beizmittel für den Farbstoff enthalten, z. B. ein Beizmittel, wie es üblicherweise in der Farbphotographie zum Beizen von Bildfarbstoffen verwendet wird. Beispiele für geeignete Beizmittel sind Vinylpyridinverbindungen, z. B. des aus der US-PS 2 484 430 bekannten Typs, Polymere mit quaternären Ammoniumresten, beispielsweise des aus den US-PS 3 625 694; 3 758 445; 3 709 690; 3 488 706 und 3 557 006 bekannten Typs. Ein Beispiel für ein geeignetes Beizmittel ist beispielsweise N,N-Dimethyl-N-benzyl-3-maleimidopropylammoniumchlorid.

Wie bereits erwähnt, können die erfindungsgemässen Elemente in vorteilhafter Weise eine Strahlungs-Sperrschicht aufweisen, die vorzugsweise zwischen einer Reagensschicht und der Registrierschicht angeordnet ist. Derartige Strahlungs-Sperrschichten sind permeabel gegenüber den erfassbaren Stoffen, die im Element erzeugt werden und dienen dazu, den Durchtritt von elektromagnetischer Strahlung zu verhindern oder zu inhibieren, z. B. der elektromagnetischen Strahlung der Wellenlänge oder der Wellenlängen, die zur Erfassung oder Ermittlung des zu analysierenden Stoffes bestimmt sind. Bei Verwendung einer solchen Schicht können störende Farbkomponenten und andere störende Verbindungen von der Registrierschicht fern gehalten werden. Derartige Schichten enthalten ein Trübungsmittel, das aufgrund seiner Absorptionsfähigkeit, seines Reflexionsvermögens oder dergleichen, einen strahlungsinhibierenden Effekt bei Einverleibung in die Schicht ausübt. Gemäss einer vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung kann die Strahlungs-

Sperrschicht ein Bindemittel oder Träger mit einem Trübungsmittel enthalten oder hieraus bestehen. Geeignete Trübungsmittel sind beispielsweise Pigmente wie Russ und andere anorganische Pigmente, z. B. Metalloxide und Metallsalze, wie Titaniumdioxid, Zinkoxid, Bariumsulfat und dergleichen. Als Trübungsmittel können des weiteren sog. «blushed» Polymere verwendet werden, die im allgemeinen von Natur aus reflektiv sind, wobei gilt, dass Schichten aus derartigen «blushed» Polymeren, die zur Herstellung von Verteilerschichten oder Ausbreitschichten verwendet werden können, auch zur Erzeugung der Strahlungs-Sperrschichten verwendet werden können. Zu beachten ist dabei, dass, wird eine mikroporöse Schicht aus einem derartigen Polymeren als Strahlungs-Sperrschicht verwendet, eine solche Schicht auch als Filterschicht dienen kann.

Gemäss einer vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung können derartige aus «blushed» Polymeren aufgebauten Schichten auch ein reflektierendes anorganisches Pigment enthalten, z. B. eines der bekannten hoch-reflexionsfähigen Pigmente, um die Verteilung oder Ausbreitung und/oder das Reflexionsvermögen zu erhöhen. Die Konzentration des Pigmentes in einer Schicht gemeinsam mit einem «blushed» Polymer kann sehr verschieden sein. In vorteilhafter Weise werden Konzentrationen von etwa 5 Gew.-% bis etwa 1000 Gew.-% Pigment, bezogen auf das Gewicht des Polymeren, verwendet, wobei sich Pigmentkonzentrationen von etwa 100 Gew.-% bis etwa 600 Gew.-%, bezogen auf das Gewicht des Polymeren, als ganz besonders vorteilhaft erwiesen haben.

Gemäss einer vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung weist das analytische Element eine isotrop poröse Verteilerschicht in Strömungs- oder Flüssigkeitskontakt mit einer Reagensschicht auf. Die Verteilerschicht ist eine Schicht, die isotrop-porös ist oder in anderer Weise porös, die eine Flüssigkeitsprobe aufnehmen kann, die direkt auf die Verteiler- oder Ausbreitschicht aufgebracht wurde oder von einer Schicht oder Schichten zugeführt wird, die sich in Flüssigkeitskontakt mit der Verteilerschicht befinden und in welcher das Lösungsmittel oder das Dispersionsmedium der zu analysierenden Flüssigkeit und mindestens ein aufgelöster Stoff, Dispersoid (Bestandteil der dispergierten oder internen Phase) oder ein Reaktionsprodukt des gelösten Stoffes oder des Dispersoids verteilt ist, so dass eine gleichförmige Konzentration einer solchen Substanz, d. h. des gelösten Stoffes, Dispersoides oder Reaktionsproduktes hiervon (welches aus einer zu analysierenden Substanz oder einer Vorläuferverbindung hiervon bestehen kann) auf der Oberfläche der Verteilerschicht erzeugt wird, die der Reagensschicht (Schichten) des Elementes gegenüberliegt oder an diese angrenzt. Zu beachten ist, dass eine solche Konzentration erreicht werden kann mit vorhandenen Konzentrationsgradienten über die Dicke der Ausbreitschicht. Derartige Gradienten führen zu keinen Schwierigkeiten bezüglich der Beziehung quantitativer Testergebnisse und können unter Verwendung üblicher bekannter Eichmethoden berücksichtigt werden.

Der Mechanismus der Verteilung oder Ausbreitung ist noch nicht restlos geklärt. Es wird jedoch angenommen, dass die Verteilung oder Ausbreitung von einer Kombination von Kräften bewirkt wird, z. B. einem hydrostatischen Druck einer Flüssigkeitsprobe, einer Kapillarwirkung innerhalb der Verteiler- oder Ausbreitschicht, der Oberflächenspannung der Probe, einer Dochtwirkung von Schichten im Flüssigkeitskontakt mit der Verteilerschicht und dergleichen. Das Ausmass der Verteilung oder Ausbreitung hängt dabei teilweise von den Volumen der zu verteilenden oder auszubreitenden Flüssigkeit ab. Die gleichförmige Konzentration, die bei Verwendung einer solchen Verteilerschicht erreicht wird, ist jedoch praktisch unabhängig von dem Volumen der Flüssigkeitsprobe und tritt ein bei verschiedenen Ausbreitsgraden. Demzufolge ist es bei Verwendung erfindungsgemässer Ele-

mente nicht erforderlich, die Mengen der aufzubringenden Flüssigkeitsproben genau zu dosieren. Zur Erzielung vorteilhafter Verweilzeiten und dergleichen hat es sich jedoch als vorteilhaft erwiesen, im Einzelfalle spezielle Volumina von Flüssigkeitsproben zu verwenden. Da die erfindungsgemässen Elemente zu quantitativen Ergebnissen bei Verwendung sehr geringer Probenvolumina führen, die vollständig von einem geeigneten Bereich der Verteilerschicht aufgenommen werden können (z. B. einem Quadratzentimeter) besteht keine Notwendigkeit dazu, überschüssige Feuchtigkeit von dem Element nach der Aufbringung der Flüssigkeitsprobe zu entfernen. Da des weiteren die Verteilung oder Ausbreitung in der Verteiler- bzw. Ausbreitschicht erfolgt und die verteilte Substanz der Reagensschicht zugeführt wird, und zwar ohne einen ins Gewicht fallenden lateralen hydrostatischen Druck, tritt kein sog. «Ringing»-Problem auf, das oftmals bei analytischen Elementen des Standes der Technik zu beobachten ist.

Die Ausbreitschicht braucht lediglich eine gleichförmige Konzentration der zu verteilenden Substanz pro Flächeneinheit an der Oberfläche, die der Reagensschicht gegenüberliegt, zu erzeugen, und zwar mit der Reagensschicht, mit welcher sich die Verteilerschicht in Strömungs- oder Flüssigkeitskontakt befindet. Ob eine besondere Schicht für Verteilerzwecke geeignet ist, lässt sich leicht bestimmen. Eine solche Gleichförmigkeit der Konzentration lässt sich ermitteln durch densitometrische Analyse oder eine andere analytische Methode, z. B. durch Abtasten einer Oberfläche der Reagensschicht oder einer anderen, mit dieser Schicht in Verbindung stehenden Schicht unter Bestimmung der Konzentration der verteilten Substanz oder eines Reaktionsproduktes der Substanz.

Der folgende Test ist lediglich ein Beispiel und die hierzu verwendeten Verbindungen und Testparameter besagen nicht, dass nicht auch andere Stoffe und Verbindungen bzw. Parameter für entsprechende Zwecke geeignet sind.

Bei Durchführung eines solchen Testes kann man auf einen transparenten photographischen Filmschichtträger, beispielsweise einen Schichtträger aus Polyäthylenterephthalat mit einer Haftschrift, eine transparente Gelatineschicht mit einer Gelatinebeschichtung von etwa 200 mg/dm<sup>2</sup> aufbringen. Der Härtegrad der Gelatine kann verschieden sein. Für Testzwecke hat es sich als besonders vorteilhaft erwiesen, wenn eine Gelatineschicht verwendet wird, die derart gehärtet ist, dass die Schicht um etwa 300 % quillt, wenn die Schicht 5 Minuten lang in Wasser von 22° C getaucht wird. Im trockenen Zustand hat die Gelatineschicht eine Dicke von etwa 30 Mikron. Auf die Gelatineschicht kann beispielsweise durch Verwendung einer Lösung oder Dispersion die Schicht aufgetragen werden, deren Eignung als Verteiler- oder Ausbreitschicht ermittelt werden soll. Die Verteilerschichten können eine verschiedene Trockendicke aufweisen, wobei sich eine Dicke von etwa 100 bis etwa 200 Mikron für Testzwecke als besonders geeignet erwiesen hat. Nach dem Trocknen der Schichten kann eine Probe der Testlösung oder Dispersion auf die Oberfläche der zu testenden Verteilerschicht aufgebracht werden, vorzugsweise in geringer Menge, so dass nicht alle Teile der Schicht mit dem Prüfling befeuchtet werden, jedoch mit einer ausreichenden Menge, so dass ein Bereich befeuchtet wird, der aus einem runden Flecken eines Durchmessers von etwa 8 bis 10 mm besteht.

Die Auswahl der Testlösung oder Testdispersion hängt vom Typ des Prüflings oder der zu analysierenden Substanz ab, die auf die Schicht aufgebracht wird.

Im Falle von Stoffen mit vergleichsweise geringem Molekulargewicht, haben sich wässrige Farbstofflösungen als geeignet erwiesen, z. B. eine 0,0005 Gew.-%ige Lösung von Solatine Pink. Im Falle von Stoffen mit vergleichsweise hohem Molekulargewicht, z. B. im Falle von Proteinen, haben

sich beispielsweise wässrige Dispersionen von Rinder-Albumin, gefärbt mit Solatine Pink als geeignet erwiesen.

Nach Aufbringen der Flüssigkeitsprobe auf die zu untersuchende Schicht und nach dem die Flüssigkeit von der Oberfläche der Schicht verschwunden und von der Schicht aufgenommen worden ist, kann das Testelement umgedreht werden und die untere Seite der Verteilerschicht kann durch den transparenten Schichtträger und die Gelatineschicht hindurch betrachtet werden. Falls vor einer wesentlichen Verdunstung des Lösungsmittels oder des Dispersionsmediums, der gefärbte Fleck von einer praktisch gleichförmigen Farbdichte ist, wenn er von einem Densitometer mit einer Öffnung von etwa 5 bis 100 Micron abgetastet wird, dann erfolgt eine gleichförmige Verteilung und Ausbreitung auf der Unterseite der Testschicht und/oder in der Gelatineschicht. Unter einer praktisch gleichförmigen Dichte ist dabei eine Dichte quer über den Flecken gemeint, mit Ausnahme der Peripherie des Fleckens mit Maximum- und Minimumwerten von nicht mehr als etwa  $\pm 10\%$  von der mittleren Dichte. Aufgrund von Kanteneffekten können nicht charakteristische Dichtegradienten an der Fleckenperipherie auftreten, welche jedoch keinen Effekt auf die Bedeutung des analytischen Ergebnisses zu haben brauchen. Die Peripheriebezirke können zwischen einzelnen Flecken verschieden sein, sie machen jedoch in der Regel nicht mehr als etwa 20% des gesamten Fleckens aus und können viel geringer sein.

Wie bereits erwähnt, können die Verteiler-, Ausbreiter- oder Bemessungsschichten isotrop-poröse Schichten sein. Derartige Schichten können unter Verwendung von verschiedenen Komponenten hergestellt werden. Gemäss einer besonderen Ausgestaltung der Erfindung kann ein teilchenförmiges Material (particulate material) zur Erzeugung solcher Schichten verwendet werden, wobei die isotrope Porosität durch die Zwischenräume zwischen den Teilchen hervorgerufen wird. Zur Erzeugung der Schichten können die verschiedensten teilchenförmigen Materialien verwendet werden, die gegenüber den Bestandteilen der zu analysierenden Flüssigkeit inert sind. Geeignet sind beispielsweise Pigmente, wie beispielsweise Titandioxid, Bariumsulfat, Zinkoxid, Bleioxid und dergleichen. Andere geeignete Partikel sind Diatomeenerde und mikrokristalline kolloidale Stoffe, die sich von natürlichen oder synthetischen Polymeren ableiten.

Geeignete mikrokristalline Stoffe sind beispielsweise solche, die in einem Aufsatz von O. A. Battista und Mitarbeitern unter der Bezeichnung «Colloidal Macromolecular Phenomena, Part II, Novel Microcrystals of Polymers» in der Zeitschrift «Journal of Applied Polymer Science», Band II, Seiten 481 bis 498 (1967) beschrieben werden. Derartige mikrokristalline Stoffe sind des weiteren im Handel erhältlich, beispielsweise mikrokristalline Cellulose (Handelsbezeichnung Avicel, Hersteller FMC Corporation, USA). Sphärische Teilchen gleichförmiger Grösse, z. B. Kügelchen aus Glas oder Harzen können ebenfalls verwendet werden und können besonders vorteilhaft dann sein, wenn gleichförmige Poren vorteilhaft sind, beispielsweise zum Zwecke einer selektiven Filtration. Haften die einzelnen Teilchen nicht, was beispielsweise dann der Fall ist, wenn Glasteilchen oder Glas-kügelchen verwendet werden, so können diese Teilchen so vorbehandelt werden, dass Teilchen erhalten werden, die Haften, und zwar miteinander an Kontaktpunkten, wodurch die Bildung einer isotrop-porösen Schicht erleichtert wird. So können beispielsweise nicht haftende Teilchen mit einer dünnen Haftschrift überzogen werden, und zu diesem Zweck beispielsweise mit einer Lösung eines hydrophilen Kolloids, beispielsweise Gelatine oder Polyvinylalkohol, behandelt werden. Durch Trocknung der Kolloidbeschichtung wird eine haftende Schicht erhalten, wobei Zwischenräume zwischen den einzelnen Partikeln verbleiben.

Als Alternative oder zusätzlich zu solchen teilchenförmigen Stoffen kann die Verteiler- oder Ausbreitschicht auch unter Verwendung von isotropen porösen Polymeren hergestellt werden. Derartige Polymere lassen sich nach Methoden herstellen, wie sie zur Herstellung von sog. «blushed» Polymeren angewandt werden. Blushed-Polymerschichten lassen sich auf einem Substrat durch Lösen eines Polymeren in einer Mischung von zwei Flüssigkeiten, von denen eine einen vergleichsweise niedrigen Siedepunkt hat und ein gutes Lösungsmittel für das Polymer ist und die andere einen vergleichsweise höheren Siedepunkt hat und ein Nicht-Lösungsmittel oder mindestens ein schlechtes Lösungsmittel für das Polymer ist, herstellen. Eine solche Polymerlösung wird dann auf dem Schichtträger aufgetragen und unter bestimmten Bedingungen getrocknet. Das niedrig-siedende Lösungsmittel verdampft dabei leichter, so dass sich die aufgetragene Schicht an der Flüssigkeit anreichert, die ein schlechtes Lösungsmittel oder kein Lösungsmittel für das Polymer ist. In dem Masse, in dem die Verdampfung fortschreitet, bildet das Polymer eine isotrop-poröse Schicht. Zur Herstellung derartiger Schichten können die verschiedensten Polymeren verwendet werden, und zwar einzeln oder in Kombination miteinander. Typische geeignete Polymere zur Herstellung von isotrop-porösen blushed-Polymerschichten sind Polycarbonate, Polyamide, Polyurethane und Celluloseester, z. B. Celluloseacetat.

Bei der Herstellung integraler analytischer Elemente nach der Erfindung können die einzelnen Schichten separat vorgebildet werden und dann zu dem Element laminiert werden. In diesem Falle werden die Schichten in typischer Weise aus Lösungen oder Dispersionen auf eine Oberfläche aufgetragen, von welcher die getrockneten Schichten leicht auf physikalischem Wege wieder abgestreift werden können. Ein vorteilhaftes Verfahren zur Herstellung erfindungsgemässer Elemente, das einzelne Abstreif- und Laminierungsstufen verhindert, besteht darin, auf einen Schichtträger zunächst eine und dann die anderen Schichten successive aufzutragen. Ein solches Auftragen verschiedener Schichten auf einen Schichtträger kann von Hand erfolgen oder durch Beschichtung unter Verwendung eines Beschichtungsmessers oder einer Beschichtungsvorrichtung, wobei übliche bekannte Beschichtungsmethoden angewandt werden können, beispielsweise eine Tauchbeschichtung oder eine Bettbeschichtung. Erfolgt die Beschichtung eines Schichtträgers mit einer Beschichtungsvorrichtung, so kann es vorteilhaft sein, einander benachbarte Schichten gleichzeitig aufzutragen, beispielsweise unter Verwendung bekannter Beschichtungsverfahren, wie sie zur Herstellung lichtempfindlicher photographischer Aufzeichnungsmaterialien üblich sind. Falls es wichtig oder wünschenswert ist, dass diskrete einander benachbarte Schichten erzeugt werden und sich eine Schichtentrennung durch Einstellung oder Überwachung des spezifischen Gewichtes der Beschichtungsmassen nicht erreichen lässt oder nicht zufriedenstellt, wie es im Falle von porösen Verteilerschichten möglich ist, so kann die geeignete Auswahl von Komponenten für eine jede Schicht, einschliesslich des Lösungsmittels- oder Dispersionsmediums eine Wanderung von Komponenten zwischen den einzelnen Schichten und Lösungsmittelfekte auf ein Minimum herabdrücken oder gar ausschalten, wodurch die Bildung gut ausgebildeter, diskreter Schichten gefördert wird. Zwischenschichten-Adhäsionsprobleme lassen sich ohne nachteilige Effekte dadurch beseitigen, dass Oberflächenbehandlungen vorgenommen werden, einschliesslich der Aufbringung extrem dünner Haftschriftenmaterialien, wie sie beispielsweise von der Herstellung photographischer Aufzeichnungsmaterialien bekannt sind.

Im Falle der Reagensschichten kann eine Beschichtungslösung oder Beschichtungsdispersion mit dem Träger oder dem Bindemittel und einem hierin verteilten Stoff A herge-

stellt, auf einen Schichtträger in der beschriebenen Weise aufgetragen und unter Erzeugung einer dimensionsstabilen Schicht aufgetrocknet werden. Die Dicke der Reagensschicht sowie ihr Permeabilitätsgrad können sehr verschieden sein und hängen von dem Verwendungszweck des Materials ab. Trockendichten von etwa 10 Mikron bis etwa 100 Mikron haben sich als vorteilhaft erwiesen, obgleich auch dünnere und dickere Schichten verwendet werden können. Werden beispielsweise vergleichsweise grosse Mengen an Stoff A in der Schicht untergebracht, z. B. polymere Stoffe, wie beispielsweise Enzyme, so kann es vorteilhaft sein, vergleichsweise dickere Reagensschichten zu erzeugen.

Die Strahlungs-Sperrschichten und Registrierschichten können nach Methoden hergestellt werden, wie sie zur Herstellung der Reagensschichten angewandt werden, jedoch unter Verwendung geeigneter Ausgangsstoffe. Die Schichtstärken dieser Schichten können den Schichtstärken der Reagensschichten entsprechen. Die Registrierschichten sind abgesehen von ihrer Permeabilität und Strahlungsdurchlässigkeit in vorteilhafter Weise frei von solchen Charakteristika, welche zu einer Fleckenbildung oder anderen Störungen bei der Feststellung eines analytischen Ergebnisses durch das integrale Element nach der Erfindung führen würden. So kann beispielsweise eine jede Veränderung der Farbe oder Textur in der Registrierschicht, wie sie beispielsweise im Falle fasriger Materialien auftritt, beispielsweise bei einigen Papieren, sich nachteilig auswirken, aufgrund der nicht gleichförmigen Reflexion oder Durchlässigkeit der zur Analyse verwendete Energie. Obgleich fasrige Materialien, wie Filterpapiere und andere Papiere im allgemeinen insgesamt permeabel sind, können derartige Materialien in typischer Weise doch stark verschiedene Permeabilitätsgrade aufweisen und nicht gleichförmig permeabel sein, beispielsweise aufgrund struktureller Unterschiede, wie beispielsweise unterschiedlicher Faserdimensionen und Faserabstände. Demzufolge sind derartige Stoffe nicht vorzugsweise verwendbare Stoffe zur Bereitung der Registrierschichten und anderer Schichten von erfindungsgemässen Elementen.

Die Verteiler- oder Ausbreitschichten können auch durch Beschichtung unter Verwendung von Lösungen oder Dispersionen erzeugt werden. Wie bereits dargelegt, sind die Verteilerschicht und die anderen Schichten eines Elementes nach der Erfindung übereinander angeordnet, und zwar derart, dass sich die Verteilerschicht in einem Strömungs- oder Flüssigkeitskontakt mit einer Reagensschicht befindet. Die zum Aufbau der Verteilerschichten verwendeten Stoffe und Materialien können, wie bereits dargelegt, sehr verschieden sein, wobei zum Aufbau der Schichten mindestens zum überwiegenden Teile Stoffe verwendet werden, die gegenüber den zu analysierenden Flüssigkeiten resistent sind, d. h. die in diesen Flüssigkeiten unlöslich oder praktisch unlöslich sind und bei Kontakt mit diesen Flüssigkeiten mindestens nicht stark quellen. Quellungen von etwa 10 bis 40 %, bezogen auf die Trockendicke der Schichten sind dabei normal. Die Dicke der Verteilerschichten kann sehr verschieden sein und hängt im einzelnen von dem aufzubringenden Probenvolumen ab, das aus Zweckmässigkeitsgründen und Gründen der Sauberkeit der Verteilerschicht absorbiert werden sollte, sowie von dem Leerstellenvolumen der Schicht, das auch die Menge des Prüflings, der von der Schicht absorbiert werden kann, beeinflusst. Als besonders vorteilhaft haben sich Verteilerschichten einer Schichtstärke von etwa 50 bis etwa 300 Mikron erwiesen. Jedoch können auch Verteilerschichten grösserer oder kleinerer Schichtstärke verwendet werden.

Bei der Herstellung einer isotropen porösen Verteilerschicht kann es vorteilhaft sein, ein Leerstellen- oder Porenvolumen von mindestens etwa 25 %, bezogen auf das Volumen der Gesamtschicht zu haben. In vorteilhafter Weise soll das Porenvolumen bei etwa 50 bis 95 % liegen. Durch Ver-

änderungen im Porenvolumen der porösen Verteilerschichten lassen sich die Elementarcharakteristika in vorteilhafter Weise modifizieren, beispielsweise die Gesamtpermeabilität der Verteilerschicht oder die Zeit, die erforderlich ist, um eine Probe zu verteilen. Das Porenvolumen einer Schicht lässt sich leicht steuern, beispielsweise durch Auswahl von geeigneten teilchenförmigen Stoffen geeigneter Grösse oder durch Variation der Lösungsmittel oder Trockenbedingungen, wenn isotrope poröse Blushed-Polymere zur Herstellung der Verteilerschicht verwendet werden. Das Porenvolumen einer solchen Schicht lässt sich leicht mit ausreichender Genauigkeit nach verschiedenen bekannten Methoden ermitteln, beispielsweise nach statistischen Methoden, wie sie z. B. von Chalkley in der Zeitschrift «Journal of the National Cancer Institute», 4, 47 (1943) beschrieben werden und durch direktes Wiegen und Bestimmung des Verhältnisses von tatsächlichem Gewicht der Schicht zum Gewicht der Feststoffe, deren Volumen gleich ist dem Volumen der Schicht. Die Porengrösse sollte in jedem Falle so bemessen sein, dass eine Verteilung oder Ausbreitung der Komponenten der zu analysierenden Probe oder anderer Substanzen, die in wünschenswerter Weise einer Reagensschicht zugeführt werden sollen, möglich ist.

Geeignete Schichtträger für die Herstellung integraler analytischer Elemente nach der Erfindung sind übliche Schichtträger aus polymeren Stoffen, z. B. Celluloseacetat, Polyäthylenterephthalat, Polycarbonaten und Polyvinylverbindungen, beispielsweise Polystyrol. Besonders vorteilhafte Schichtträger sind solche, die strahlungsdurchlässig sind und elektromagnetische Strahlung einer Wellenlänge oder eines Wellenlängenbereiches zwischen etwa 200 nm und etwa 900 nm wie auch radioaktive Strahlung durchlassen.

Im Falle fluorimetrischer Bestimmungen durch den Schichtträger hindurch hat es sich als zweckmässig erwiesen, wenn der Schichtträger für einen etwas breiteren Wellenlängenbereich durchlässig ist als im Falle nicht fluoreszierender Messungen oder alternativ wenn der Schichtträger durchlässig ist, bei den Absorptions- und Emissionsspektren der fluoreszierenden Stoffe, die für die Bestimmung verwendet werden. Es kann des weiteren vorteilhaft sein, Schichtträger zu verwenden, die nur eine oder vergleichsweise sehr enge Wellenlängenbanden durchlassen und die gegenüber benachbarten Wellenlängenbanden opak oder undurchlässig sind. Dies lässt sich beispielsweise dadurch erreichen, dass in den Schichtträger ein oder mehrere färbende Komponenten eingebracht oder aufgetragen werden, die geeignete Absorptionscharakteristika aufweisen.

Die Reagensschicht, die Strahlungs-Sperrschicht (sofern eine solche vorhanden ist) und die Registrierschicht befinden sich im Element zwischen Schichtträger und der Verteilerschicht (sofern eine solche vorhanden ist), die gewöhnlich die äussere Schicht des Elementes ist.

Die einzelnen Komponenten, aus denen jede einzelne Schicht eines integralen analytischen Elementes nach der Erfindung aufgebaut sind und der Aufbau der Schichten hängen von dem Verwendungszweck des Elementes ab. Wie bereits dargelegt, kann die Porengrösse der Verteilerschicht derart ausgewählt werden, dass die Schicht unerwünschte Probenkomponenten ausfiltrieren kann, d. h. solche Komponenten, die beispielsweise die analytische Reaktion stören würden oder welche die Ermittlung des Testergebnisses innerhalb des Elementes beeinträchtigen würden.

Für die Analyse von Blut beispielsweise haben sich poröse Schichten mit einer Porengrösse von etwa 1 bis etwa 5 Mikron als besonders vorteilhaft erwiesen, um Blutzellen abzufiltrieren, welche in typischer Weise eine Grösse von etwa 7 bis etwa 30 Mikron aufweisen.

Gegebenenfalls kann ein erfindungsgemässes Element mehrere Verteilerschichten aufweisen, wobei jede dieser Schichten verschieden bezüglich der Fähigkeit der Verteilung

und Filtration der Proben ist. Ist eine Hemmung oder Behinderung des Transportes von Substanzen innerhalb des Elementes, zuzüglich zu der Behinderung, die durch die Verteilerschicht bewirkt wird, notwendig, so kann eine Filter- oder Dialyserschicht an geeigneter Stelle des Elementes untergebracht werden. Bei der Analyse von Blutglucose beispielsweise kann eine Dialyserschicht, z. B. eine semipermeable Cellulosemembran, die Passage von Proteinen oder anderen potentiellen störenden Substanzen in die Reagensschicht verhindern.

In vorteilhafter Weise können in eine oder mehrere der Schichten eines erfindungsgemässen Elementes eine oder mehrere oberflächenaktive Stoffe, z. B. anionische und/oder nicht ionische oberflächenaktive Verbindungen eingearbeitet werden. Derartige Verbindungen können die Beschichtungsfähigkeit der Beschichtungsmassen verbessern und das Ausmass und die Geschwindigkeit der Verteilung der zu analysierenden Flüssigkeiten in den Verteilerschichten fördern, welche von flüssigen Proben in Abwesenheit eines oberflächenaktiven Stoffes nicht leicht benetzbar sind. Des weiteren können beispielsweise in der Verteilerschicht gegebenenfalls für die Durchführung bestimmter Analysen reaktionsfähige oder aktive Substanzen bzw. Verbindungen vorhanden sein. So können beispielsweise Proteine oder andere Stoffe von höherem Molekulargewicht in vorteilhafter Weise in mehrere leicht verteilbare oder ausbreitbare Komponenten von geringerem Molekulargewicht geteilt oder gespalten werden, die sich leichter für analytische Reaktionen eignen, in dem beispielsweise in der Verteilerschicht geeignete reaktionsfähige oder aktive Stoffe oder Substanzen untergebracht werden, z. B. ein Enzym, beispielsweise eine Protease oder Esterase.

Es kann des weiteren vorteilhaft sein, in Schichten des Elementes Stoffe oder Substanzen unterzubringen, die durch chemische Reaktion oder in anderer Weise Stoffe oder Substanzen nicht aktiv machen können, welche sich für die Durchführung der Analyse nachteilig auswirken würden. So lässt sich beispielsweise Ascorbatoxidase in einem Element unterbringen, um Ascorbationen zu entfernen, die die Analyse von Glucose stören können.

Eine Analyse kann des weiteren gegebenenfalls eine mehrstufige Reaktion erfordern, die am besten in einem Element mit mehreren Reaktionsschichten durchgeführt werden kann, wobei jede dieser Reaktionsschichten derart aufgebaut ist, dass in ihr eine spezielle Reaktionsstufe ablaufen kann. Bei der Bestimmung eines Enzyms, das bekannt ist als Serum-Glutamin-Oxalacetattransaminase (serum glutamic-oxalacetic transaminase) beispielsweise, können verschiedene aufeinanderfolgende Reaktionen ablaufen. Dieses Enzym katalysiert bei einem pH-Wert von etwa 7,4 die Umwandlung von  $\alpha$ -Ketoglutarat- und Aspartationen zu dem entsprechenden Oxalacetat und Glutamat. Das Oxalacetat lässt sich messen nach Kupplung mit dem Diazoniumsalz des Farbstoffes, bekannt als «Fast Ponceau L». Zur Erleichterung des ersten Gleichgewichts, das vor der Kupplung erreicht werden soll, ist es wünschenswert, die Reagenzien voneinander zu trennen und jedes der Reagenzien in einer besonderen separaten Schicht unterzubringen, um zu erreichen, dass das erste Gleichgewicht eingestellt werden kann, ohne Behinderung der Einstellung des Gleichgewichtes durch einen zu frühen Beginn der zweiten Reaktionsstufe. Dies bedeutet, dass die  $\alpha$ -Ketoglutarat- und Aspartationen in einer ersten Reagensschicht untergebracht werden kann, die über einer zweiten Reagensschicht angeordnet wird, die das Salz des Farbstoffes «Fast Ponceau L» enthält.

Erfindungsgemässe integrale analytische Elemente können zur Durchführung der verschiedensten chemischen Analysen verwendet werden, und zwar nicht nur auf dem Gebiet der klinischen Chemie, sondern vielmehr auch zur Durchführung von Analysen auf dem Gebiet der chemischen

Forschung und in Kontrollaboratorien, die chemische Prozesse überwachen. Die erfindungsgemässen Elemente eignen sich insbesondere für den klinischen Test von Körperflüssigkeiten, z. B. Blut, Blutserum und Urin, da auf diesem Gebiet eine grosse Anzahl von zu wiederholenden Testen durchzuführen ist und die Testergebnisse in der Regel in einer sehr kurzen Zeitspanne nach der Probenahme vorliegen müssen. Auf dem Gebiet der Blutanalyse beispielsweise kann ein mehrschichtiges erfindungsgemässes Element derart ausgestaltet sein, dass mit dem Element eine quantitative Analyse von mehreren oder vielen Blutkomponenten möglich ist, die routinemässig ermittelt werden müssen. So kann ein erfindungsgemässes Element beispielsweise so ausgestaltet sein, dass die Analyse von solchen Blutkomponenten wie Albumin, Bilirubin, Harnstoff-Stickstoff, Serum-Glutamin-Oxalacetat-Transaminase, Chlorid, Glucose, Harnsäure und alkalischen Phosphatasen sowie anderen Komponenten durch geeignete Auswahl der Testreagenzien oder anderer reagierender Stoffe möglich ist. Bei der Analyse von Blut beispielsweise können bei Verwendung eines analytischen Elementes nach der Erfindung zunächst die Blutzellen vom Serum getrennt werden, beispielsweise durch Zentrifugieren, worauf das Serum auf das Element aufgebracht wird. Jedoch kann eine solche Trennung auch unterbleiben, und zwar insbesondere dann, wenn spektrophotometrische Reflexionsanalysen angewandt werden, um das im Element erzeugte Reaktionsprodukt zu ermitteln, da auf das Element auch Blut aufgebracht werden kann, in welchem Falle die Blutzellen durch die Wirkung der Filterschicht abgefiltert werden. Die Gegenwart dieser Zellen stört dabei nicht die spektrophotometrische Analyse, wenn diese nach der Reflexionsmethode durchgeführt wird, wobei Licht durch den Schichtträger und die Registrierschicht gelangt und von der Strahlungs-Sperrschicht oder einer anderen reflektierenden Schicht reflektiert wird, so dass die Zellen den Strahlengang nicht behindern. Ein wesentlicher Vorteil eines integralen analytischen Elementes nach der Erfindung besteht darin, dass es sowohl zur Analyse von Serum als auch Blut verwendet werden kann.

Die erfindungsgemässen Elemente können je nach ihrem Verwendungszweck einen verschiedenen Aufbau und verschiedene Form aufweisen, d. h. sie können beispielsweise in Streifen- oder Bandform jeder gewünschten Breite vorliegen, in Form von Blättern oder kleineren Abschnitten. Des weiteren können die Elemente gegebenenfalls zur Durchführung von einem oder mehreren Testen eines Typs oder einem oder mehreren Testen verschiedener Typen ausgestaltet sein. Im letzteren Falle kann es vorteilhaft sein, einen Schichtträger mit einem oder mehreren Streifen oder Kanälen von gegebenenfalls verschiedenen Beschichtungsmassen zu beschichten und ein sog. Mehrfachelement oder zusammengesetztes Element herzustellen, das für die Durchführung verschiedener Teste geeignet ist.

In der Zeichnung sind beispielsweise vier verschiedene erfindungsgemässe Elemente im Schnitt und schematisch dargestellt.

Das in Fig. 1 dargestellte analytische Element nach der Erfindung besteht aus einem strahlungsdurchlässigen Schichtträger 10, auf dem angeordnet sind: eine Registrierschicht 12, eine Strahlungs-Sperrschicht 14, welche sowohl als Filterschicht dienen kann, als auch als Schicht, die einen weissen Hintergrund für analytische Zwecke bildet, beispielsweise für reflexions-spektrophotometrischen Messungen und eine Reagensschicht 16. Die Ermittlung des analytischen Ergebnisses kann durch den Schichtträger hindurch erfolgen, welcher für die zur Feststellung des analytischen Ergebnisses verwendete Strahlungswellenlänge durchlässig ist. Die Registrierschicht 12 kann aus einer hydrophilen Kolloidschicht bestehen, z. B. einer Gelatineschicht. Die Reagensschicht 16 kann aus einer Lösung oder Dispersion von einem oder mehreren

Testreagenzien in einem Bindemittel, z. B. Gelatine bestehen, während die Schicht 14 aus einem sog. «Blushed»-Polymer mit isotroper Porosität und/oder einer solchen Porengröße, wie sie zum Abfiltrieren einer Komponente benötigt wird, aufgebaut sein kann. Die einzelnen Schichten befinden sich dabei im Strömungs- oder Flüssigkeitskontakt.

Das in Fig. 2 dargestellte analytische Element nach der Erfindung besteht aus einem strahlungsempfindlichen Schichtträger 20, mit einer hierauf aufgetragenen Registrierschicht 22 im Flüssigkeitskontakt mit einer Reagensschicht 24 und einer Verteilerschicht 27, die auch die Funktion einer Filterschicht ausüben kann und auch einen geeigneten reflektierenden Hintergrund haben kann, so dass spektrophotometrische Reflexionsmessungen durch den Schichtträger 20 durchgeführt werden können. Alternativ kann die Schicht 26 auch derart beschaffen sein, dass sie nicht reflektiert, in welchem Falle die Ermittlung des analytischen Ergebnisses nach der Transmissionsmethode erfolgen kann. Die Schicht 26 kann beispielsweise aus einem isotrop-porösen «Blushed»-Polymer aufgebaut sein, welches auf die Schicht 24 aufgetragen sein kann oder auf diese Schicht 24 auflaminiert worden sein kann.

Das in Fig. 3 dargestellte erfindungsgemäße Element besteht aus einem Schichtträger 30, einer Registrierschicht 32, einer Strahlungs-Sperrschicht 34, z. B. aus einer Dispersion eines Pigmentes, z. B. Titandioxid in einem hydrophilen Kolloid, wie beispielsweise Gelatine, einer Reagensschicht 36 und einer Verteilerschicht 38, z. B. aus einem isotrop-porösen «Blushed»-Polymer, welche die Funktion der Verteilung und Ausbreitung und ferner die Funktion einer Filterschicht haben kann. Die verschiedenen Schichten befinden sich wiederum im Strömungs- bzw. Flüssigkeitskontakt.

Das in Fig. 4 dargestellte erfindungsgemäße Element besteht aus einem Schichtträger 40, einer Registrierschicht 42, einer Strahlungs-Sperrschicht und Filterschicht 44, einer Reagensschicht (A) 46, einer weiteren Reagensschicht (B) 48 und einer Verteiler-Filterschicht 50. Die Schicht 44 kann beispielsweise aus einer Dispersion von Titandioxid in Celluloseacetat (in Form eines «Blushed»-Polymeren) bestehen und die Schicht 50 kann beispielsweise aufgebaut sein aus einer Dispersion von Diatomeenerde in Celluloseacetat («Blushed»-Polymer) oder aus Glaskügelchen oder Glasteilchen, die aneinander durch Beschichtung mit einem hydrophilen Kolloid, beispielsweise Gelatine, anhaften.

Bei der Verwendung der Elemente wird auf diese eine Probe der zu analysierenden Flüssigkeit aufgebracht. In typischer Weise sind die Elemente derart aufgebaut, dass die aufgebrachte Probe zunächst mit einer Verteiler- oder Ausbreitschicht in Kontakt gelangt, bevor die Probe auf eine nicht-verteilende Reagensschicht gelangt, wobei die Probe zunächst auf die Seite der Verteilerschicht gelangt, die von der Reagensschicht weiter entfernt ist. Da die analytische Genauigkeit der erfindungsgemäßen Elemente nicht oder praktisch nicht durch Veränderungen des Volumens der aufgebrachten Proben verändert wird, und zwar insbesondere dann nicht, wenn eine Verteilerschicht vorhanden ist, kann das Aufbringen der zu analysierenden Proben von Hand oder auch auf maschinelle Wege erfolgen. Aus Gründen der Einfachheit und Bequemlichkeit der Erkennung analytischer Ergebnisse jedoch hat es sich in der Regel als vorteilhaft erwiesen, wenn die zu analysierenden Proben das gleiche oder etwa das gleiche Volumen haben. Wie bereits dargelegt, besteht ein weiterer Vorteil der Verteilerschicht darin, dass sie das Auftreten des «Ringling-Effektes» weitestgehend vermindert, wenn lösliche reaktionsfähige oder aktive Stoffe oder Substanzen in einer Reagensschicht verwendet werden.

In typischer Weise erfolgt eine manuelle oder maschinelle Analyse unter Verwendung eines erfindungsgemäßen Analyseelementes in der Weise, dass das Element zunächst aus

einem Vorratsbehälter entnommen oder von einer Vorratsrolle abgezogen wird, worauf das Element in eine solche Lage gebracht wird, dass es einen freien Tropfen der zu analysierenden Flüssigkeit aufnehmen kann oder einen Kontaktflecken oder irgendeine andere Form einer Flüssigkeitsprobe, beispielsweise von einem Dosiergerät. Nach dem Aufbringen der zu analysierenden Probe sowie zweckmässig nach dem die Probe von einer Verteilerschicht aufgenommen worden ist, falls eine solche vorhanden ist, kann das Element konditioniert werden, beispielsweise durch Erwärmen oder Aufheizen, Feuchtmachen und dergleichen, was den durchzuführenden Test beschleunigen oder erleichtern kann. Bei einer automatisierten Verfahrensweise kann es gegebenenfalls wünschenswert sein, dass die Verteilerschicht ihre Funktion innerhalb weniger Sekunden ausübt, dass jedoch eine ausreichende Zeitspanne für die Dosierung zur Verfügung steht, im Gegensatz zu der sofortigen, ungleichförmigen Diffusion, wie sie bei der Verwendung von absorbierenden faserigen Papieren auftritt. Dies kann in vorteilhafter Weise erreicht werden durch geeignete Auswahl oder Abstimmung von verschiedenen Parametern, beispielsweise der Schichtdicke, des Porenvolumens in porösen Schichten und dergleichen.

Nachdem das analytische Ergebnis in Form einer erfassbaren Veränderung vorliegt, wird es gemessen, in vorteilhafter Weise dadurch, dass das Element durch eine Messzone geführt wird, in welcher die Messung mit einer geeigneten Vorrichtung für Reflexionsmessungen, Transmissions- oder Fluoreszenz-Spektrophotometrie durchgeführt wird. Mittels einer solchen Vorrichtung wird ein Energiestrahle, z. B. ein Lichtstrahl durch den Schichtträger und die Registrierschicht gerichtet. Der Lichtstrahl wird dann von der Strahlungs-Sperrschicht in dem Element zurückreflektiert oder gelangt durch das Element zu einem Detektor, im Falle der Transmissionsmethode.

In vorteilhafter Weise wird das analytische Ergebnis in einem Bezirk oder Bereich des Elementes erfasst, der vollständig innerhalb des Bereiches liegt, in dem das analytische Ergebnis erzeugt wird. Die Anwendung der Reflexions-Spektrophotometrie kann in vielen Fällen besonders vorteilhaft sein, da dieses Verfahren in vielen Fällen Störungen von Rückständen z. B. Blutzellen, vermeidet, welche auf oder in Schichten des Elementes zurückgeblieben sein können. In vorteilhafter Weise können jedoch auch übliche Methoden der Fluoreszenz-Spektrophotometrie angewandt werden, wenn die zu erfassenden Substanzen oder Stoffe aus fluoreszierenden Substanzen oder Stoffen bestehen. In diesem Falle wird zur Erfassung der analytischen Ergebnisse eine Energie verwendet, die die fluoreszierenden Substanzen oder Stoffe anregt sowie ein Detektor, der die Fluoreszenz-Emission abtastet. Die Erfassung der analytischen Ergebnisse erfolgt dabei unter Verwendung von Energie, welche die fluoreszierende Substanz oder Verbindung anregt und unter Verwendung eines Detektors, der die fluoreszierende Emission der fluoreszierenden Substanz oder Verbindung abtastet. Wird des weiteren beispielsweise Blutserum analysiert oder werden Massnahmen getroffen zur Eliminierung unerwünschter Blutrückstände, so können Transmissionsmethoden angewandt werden zur Ermittlung und quantitativen Erfassung der anzeigenden Reaktionsprodukte, in dem ein Energiestrahle, beispielsweise aus UV-Licht, sichtbarem Licht oder von Infrarotstrahlung auf eine Oberfläche des Elementes gerichtet wird, worauf der Ausgangswert des Strahles aus der entgegengesetzten Seite des Elementes gemessen wird. Ganz allgemein hat sich die Verwendung von elektromagnetischer Strahlung eines Strahlungsbereiches von 200 bis etwa 900 nm für derartige Messungen als vorteilhaft erwiesen, obgleich jede Strahlung verwendet werden kann, der gegenüber das Element permeabel ist und die dazu befähigt ist, das in der Reagensschicht erzeugte Produkt quantitativ zu erfassen.

Verschiedene Eichmethoden können angewandt werden, um die Analyseergebnisse zu überwachen. Beispielsweise lässt sich eine Probe einer Standardlösung der zu analysierenden Substanz oder Verbindung benachbart zu der Probe aufbringen, die zu analysieren ist.

Die folgenden Beispiele sollen die Erfindung näher veranschaulichen.

#### Beispiel 1

Auf einen dicken (180 Mikron) Schichtträger aus Polyäthylenterephthalat mit einer Gelatinehaftschrift wurden nacheinander folgende Schichten aufgetragen:

1. eine Registrier-(Empfangs-)schicht mit pro Quadratmeter 2,15 g Gelatine, 2,15 g eines Beizmittels, und zwar eines Copolymeren aus Styrol und N,N-Dimethyl-N-3-maleimidopropylammoniumchlorid;
2. eine poröse reflektierende Strahlungs-Sperrschicht mit pro Quadratmeter 151 g Gelatine und 11,4 g Titandioxid;
3. eine Reagensschicht (analytische Schicht) mit pro Quadratmeter 17,5 g Gelatine, 1,5 g 1-Naphthol-2-sulfonsäure, Kaliumsalz, 0,73 g Dinatriumphosphatpuffer, 0,45 g Monokaliumphosphatpuffer, 0,38 g 4-Aminoantipyrin (HCl), 1,6 g Glycerin als Weichmacher, 0,09 g Peroxidase (14014 U/m<sup>2</sup>) und 0,374 g Glucoseoxidase (40440 U/m<sup>2</sup>);
4. eine Verteilerschicht mit pro Quadratmeter 97 g Celluloseacetat und 65,5 Titandioxid.

Das hergestellte Element wurde für die Analyse von Glucoselösungen verwendet, deren Konzentrationen zwischen 0 und 800 mg Glucose pro Deziliter Lösung lagen.

Auf Abschnitte des hergestellten Elementes wurden dann Tropfen aufgebracht, und zwar jeweils 10 µl einer der wässrigen Glucoselösungen. Nach einer Stunde wurde die Dichte der erzeugten Färbungen durch Reflexion gemessen, und zwar unter Verwendung eines handelsüblichen Densitometers vom Typ Macbeth (Model TD-504). Die dabei erhaltenen Ergebnisse sind in der später folgenden Tabelle zusammengestellt.

Die auf die Oberfläche der Testelemente aufgebrachten Glucoselösungen verteilten sich in der Schicht (4) und wurden der Schicht (3) zugeführt, in welcher die Glucose mit Sauerstoff und Wasser in Gegenwart der Glucoseoxidase reagierte unter Bildung von Gluconsäure und Wasserstoffperoxid. Diese Verbindungen in Gegenwart von Peroxidase reagierten mit dem 4-Aminoantipyrin, das oxidiert wurde. Das Oxidationsprodukt des 4-Aminoantipyrins reagierte dann durch

Kupplung mit dem Kaliumsalz der 1-Naphthol-2-sulfonsäure unter Erzeugung eines Farbstoffes, der aus der Reagensschicht (3) durch die Strahlungs-Sperrschicht (2) in die Registriererschicht (1) diffundierte, in welcher er durch die Messung mit dem Densitometer erfasst wurde. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

#### Beispiel 2

- Es wurde ein weiteres erfindungsgemässes analytisches Element wie in Beispiel 1 beschrieben hergestellt, mit der Ausnahme jedoch, dass die Registriererschicht (1) lediglich aus Gelatine als einziger Komponente bestand, bei einer Beschichtungsstärke von 4,30 g pro Quadratmeter. Das Element wurde dann wie in Beispiel 1 beschrieben zur Analyse von Glucoselösungen verwendet. Die dabei erhaltenen Ergebnisse sind ebenfalls in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle

Element gemäss Beispiel Nr.	Glucose-Gehalt des Prüflings (mg/Deziliter)	Dichte, gemessen durch Reflexion von weissem Licht
1	0	0,28
	100	0,36
	150	0,37
	200	0,40
	300	0,47
	400	0,52
	600	0,53
2	0	0,23
	100	0,36
	150	0,42
	200	0,47
	300	0,54
	400	0,55
	600	0,56
800	0,60	

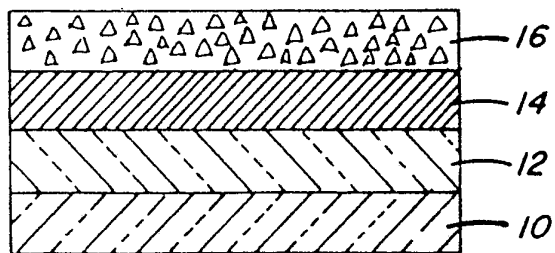


FIG. 1

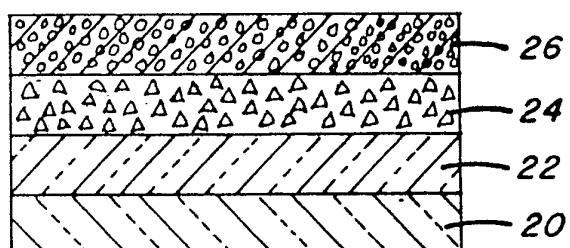


FIG. 2

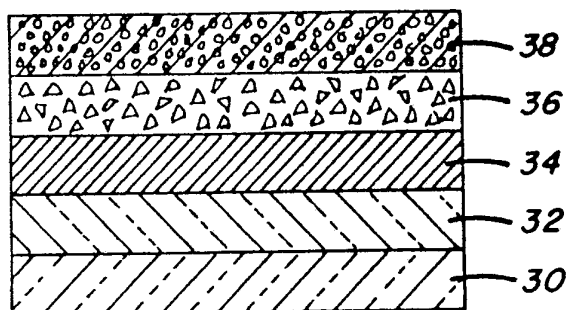


FIG. 3

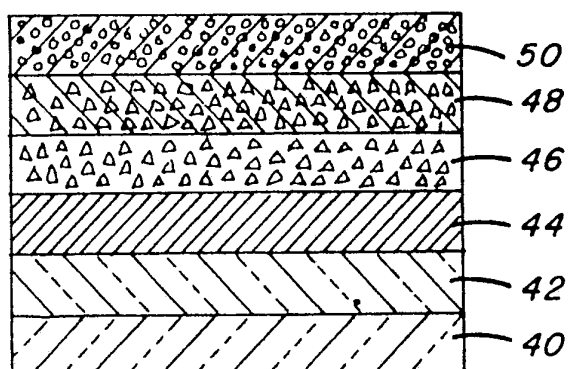


FIG. 4