

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 35 odst. 1 zákona č. 84/1972 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

1988-8444

(19)

ČESKOSLOVENSKÁ
SOCIALISTICKÁ
REPUBLIKA

(22) Přihlášeno: **20.12.1988**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **12.10.1990**
(Věstník č. 10/1990)

(51) Int. Cl.:

G 01 N 27/30

ÚŘAD PRO
VYNÁLEZY
A OBJEVY

(72) Původce:

Krejčí Jan RNDr., Tišnov, CS

(54) Název přihlášky vynálezu:

Symetrická elektroda pro enzymová měření

CS 1988-8444

Vynález se týká elektrody, která je určena zvláště pro enzymová měření.

Velké množství látek lze detekovat enzymovou reakcí, ^{kteřá} ~~ve které~~ je spotřebováván kyslík. Úbytek kyslíku v enzymové reakci je při vhodném uspořádání membránového systému úměrný koncentraci analyzované látky. Úbytek kyslíku lze většinou detekovat elektrochemicky.

Většina měření enzymovými elektrodami v současné době je uspořádána tak, že v míchané nádobce je umístěna kyslíková elektroda, na jejíž krycí membránu je nanesen enzym nebo membránový systém s enzymem. Roztok v reakční nádobce je syčen kyslíkem, a tím je udržována konstantní hladina kyslíku v roztoku. Do reakčního roztoku jsou také přidány pufrы, které zabezpečují neměnnost pH. Celá reakční nádobka je temperována, a tím jsou omezeny vlivy teploty. V těchto podmínkách je výstupní proud kyslíkové elektrody úměrný úbytku kyslíku v enzymové reakci, který je ve vztahu s koncentrací měřené látky (mnohdy v lineárním). Hlavní nevýhodou tohoto uspořádání je složitost a nutnost přesného zabezpečení požadavků kladených na elektrodu i podmínky, v nichž probíhá reakce.

Jiný způsob měření enzymovými elektrodami spočívá v tom, že v reakční nádobce jsou umístěny dvě kyslíkové elektrody, z nichž jedna nese navíc enzymovou membránu. V tomto uspořádání je měřena základní hladina kyslíku v roztoku a koncentrace kyslíku za enzymovou membránou enzymové elektrody, tedy úbytek kyslíku v enzymové reakci. Reakční nádobka je opět temperována a obsahuje roztok pufru, aby bylo zabezpečeno konstantní pH. Nevýhodou tohoto systému je opět jeho složitost.

Další nevýhodou je to, že je obtížné zabezpečit, aby obě použité kyslíkové elektrody měly dlouhodobě stejné vlastnosti.

Tyto nevýhody jsou odstraněny symetrickou elektrodou pro enzymová měření ^{po} dle vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že je tvořena skleněným tělem symetrické elektrody, ve kterém jsou

uspořádány jednak první měřicí kovová elektroda a jednak druhá měřicí kovová elektroda, z nichž každá je spojena s přívodním drátkem, přitom v těle elektrody je vytvořen zásobník elektrolytu, v jehož ose je symetricky vůči první měřicí elektrodě i druhé měřicí elektrodě umístěna referenční argentchloridová elektroda okolo níž je uspořádána skleněná trubička, ^{ktará} ~~jež~~ je integrální součástí těla symetrické elektrody, a na které je upevněna pomocná elektroda, přičemž přes leštěnou čelní plochu těla symetrické elektrody je převlečena krycí membrána, ^{ktará} ~~jež~~ je upevněna přídržným kroužkem, zatímco tělo symetrické elektrody je upevněno v držáku, ve kterém je uspořádán kabel, který je propojen s přívodními drátky jednotlivých elektrod.

První měřicí kovová elektroda i druhá měřicí kovová elektroda je tvořena ušlechtilým kovem platinou nebo zlatem.

Pomocná elektroda je tvořena kovem, stříbrem nebo paladiem a nebo platinou.

Leštěná čelní plocha těla symetrické elektrody má drsnost od 0,1 do 5 μm .

Tělo symetrické elektrody je tvořeno křemenným sklem, jehož koeficient délkové roztažnosti je stejný jako koeficient délkové roztažnosti materiálu první měřicí elektrody druhé měřicí elektrody.

Výhody uspořádání symetrické elektrody pro enzymová měření spočívají v následujících skutečnostech:

Měřicí elektrody i přívodní drátky těchto elektrod jsou zataveny ve skle, takže je zabezpečena dostatečná izolace mezi měřicími elektrodami a dlouhodobá stálost parametrů elektrody.

Obě platinové nebo zlaté měřicí elektrody procházejí v průběhu výroby stejnou historií jsou stejným způsobem leštěny, stejným způsobem zatavovány a ^{proto} ~~tudíž~~ v symetrickém uspořádání měření jsou eliminovány vlivy, které souvisí s historií výroby elektrody.

Dále mají obě platinové měřicí ^{elektrody} ~~velmi~~ přesně definovanou aktivní plochu a jejich aktivní plochy se liší o méně než 1 %, čímž je dosaženo, že rozdíl výstupních signálů obou platinových měřicích elektrod je úměrný úbytku kyslíku v enzymové reakci a v případě, že v měřeném roztoku není přítomná detekovaná látka je rozdíl výstupních signálů platinových měřicích elektrod nulový. Referenční argentchloridová elektroda je umístěna symetricky vzhledem k platinovým měřicím elektrodám. Tím jsou chyby v nas-

upravován mají tu výhodu, že při jeho použití nevznikají problémy s biokompabilitou. Čistota materiálů jejich zpracování a opracování má podstatnou roli na tvar polarografické vlny, a tím i na funkci celého senzoru. Obecně lze konstatovat, čím nižší čistota materiálů použitých pro konstrukci katody, tím nižší limitní difuzní proud, a tím užší plato na polarografické vlně a tím méně je polarografická vlna v oblasti limitního difuzního proudu rovnoběžná s osou napětí. Tyto skutečnosti podstatně ovlivňují funkceschopnost elektrodového systému a ^{popřípadě} ~~případně~~ se projeví na linearitě jeho charakteristiky. Podobně má na tvar polarografické vlny vliv i opracování povrchu katody. Ukazuje se, že nejvhodnější drsnost je $1\text{ }\mu\text{m}$. Dále je tvar polarografické vlny ovlivněn velikostí a konstrukcí elektrody. S čistotou materiálu katody souvisí i způsob opracování a způsob připojení vodičů k materiálu katody, protože při těchto technologických operacích může dojít k povrchovému znečištění aktivního povrchu katody. Dále platí jistá specifika pro ostatní kovy. Zlato a stříbro jsou nestabilní. Stříbro se snadno otravuje ~~otravuje~~ stopovým množstvím sirovodíku a černá. Platina - její vlastnosti výrazně závisí na stavu povrchu a historii výroby (leštění, broušení). V kyselém prostředí se zpomaluje elektrodová reakce na platině. Povrch uhlíkové elektrody je nutno speciálním způsobem aktivovat. Rozměry všech katod by neměly být při běžném používání menší než $0,1\text{ mm}$. Anoda: Její rozměry by měly být řádově nejméně 10^3 - krát větší, než katody. Je požadováno, aby byla ideálně nepolarizovatelná. Klasicky jsou používány Argentchloridové elektrody. Je známo používání paladia ve spojení s enzymovými membránami, které podstatně zvyšuje stabilitu senzoru. Minimální čistota paladia je 99 %.

Elektrolyt: ze známého stavu techniky je zřejmé, že pro zajištění dlouhodobé stability je nutné, aby bylo elektrolytu dostatečné množství, aby jeho změny ve složení v důsledku elektrochemických reakcí byly zanedbatelné. Jako elektrolyt se většinou používá chlorid draselný, nikoliv však nasycený, (způsobuje nežádoucí usazování stříbra na katodě z čehož vyplývá ^{ale} ~~výběr~~ změna vlastností senzoru a vzrůstající zbytkový proud), je doporučován o koncentraci $0,75\text{ M}$. V některých případech lze použít také roztok hydroxidu draselného, který však má horší vlastnosti než chlorid draselný. Jako pufrů se používají hydrouhlícitan draselný, hydrouhlícitan sodný, směs uhličitanu draselného a hydrouhlícitanu draselného a acetátový pufr. Aby se zabránilo změnám koncentrace

elektrolytu v důsledku difuze vody přidává se dusičnan sodný. Pro další použití čidel se používají některé modifikované systémy elektrolytů. Jednak jsou to iontoměničové membrány, elektrolyt nasáklý v membránovém substrátu nebo elektrolyt obsažený v gelu vhodného složení a mediátorů.

Tělo, upevnění elektrod, geometrické uspořádání: všechny použité materiály by měly mít vysoký měrný odpor a být inertní vůči roztokům solí. Konstruktivní uspořádání musí být takové, aby mezi elektrodami byl zajištěn dlouhodobě odpor řádově 10^9 ohm a větší. Experimentálně bylo zjištěno, že katoda by se měla volně dotýkat ideální membrány. Geometrické uspořádání čidla jako celku by mělo být takové, aby vstupující látky, např. ^{příklad} kyslík difundovaly kolmo k ploše katody, to je, aby gradient koncentrace byl ve směru normály k ploše měrné elektrody (katody) a bylo zabráněno tak zvané boční difuzi, která způsobuje pomalý pokles citlivosti, hysterezi senzoru a změnu dynamické charakteristiky. Pokud jsou zabezpečeny výše uvedené požadavky je výstupní signál elektrodového systému pokrytého ideálním membránovým systémem propustným pro kyslík úměrný parciálnímu tlaku kyslíku.

Nelinearity jsou způsobeny:

- a) postupnou chemisorbcí kyslíku na povrchu katody. Lze ji odstranit například pulzem proudu o vhodné délce trvání a intenzitě.
- b) absorbcí nečistot jak chemickou, tak fyzikální.

Chemisorbcí lze odstranit způsobem uvedeným v předešlém bodě.

- c) velký odpor Argentchloridové anody; postupným kumulováním chloridu stříbrného na anodě se může změnit její odpor a změni se charakteristiky elektrodového systému.
- d) zvětšováním katody; při dostatečně velké ploše katody není možné zajistit homogenní interakci mezi katodou a membránovým systémem, což vyústí v nelinearitu. Velikost aktivní plochy membrány, která se podílí na reakci se mění.
- e) interakce s membránovým systémem; nevhodně navržený membránový systém, který je v přímém styku s elektrodou může způsobit nelinearity.

Stabilita elektrodového systému: stabilitu elektrodového systému lze rozdělit na krátkodobou a dlouhodobou. Nestability lze rozdělit:

Krátkodobá nestabilita:

- a) je způsobena redukcí povrchových oxidů kovů. Je to počáteční nestabilita senzoru, která mizí po několika minutách až 10

hodinách. Tato nestabilita může mít význam při hromadné výrobě čidel. Obranou může být například udržování senzoru pod stálým polarizačním napětím jak je například řešeno u Biostatoru firmy Miles Laboratories Inc.

- b) přítomnosti bromu, kysličníku dusného, kysličníku uhličitého,
- c) znečištěním platinové katody ionty jiných kovů. Tato nestabilita často přechází do dlouhodobé nestability. Možnost této nestability si vynucuje vysokou technologičnost opracování a vysokou čistotu.
- d) interakce membránového, systému a elektrodového systému. Nestabilita tohoto druhu může být například způsobena pohybem krycí membrány. Její odstranění klade zvýšené nároky na konstrukci rozhraní membránový systém-elektrodový systém.
- e) pohyb vrstvy elektrolytu mezi katodou a membránovým systémem. Pro tento typ nestability platí totéž co bylo řečeno v předcházejícím bodě.
- f) změna pH. Jak vyplývá ze známých skutečností při činnosti senzoru dochází ke změnám pH. ^{Proto} ~~Proto~~ se mění polarografická vlna, což může vyústit ve změnu citlivosti a projevuje se jako krátkodobá nebo dlouhodobá nestabilita (což závisí na tvaru polarografické vlny a polarizačním napětí, ^{kteřím} ~~přímě~~ elektrodový systém pracuje). Odstranění této nestability vyžaduje dostatečně velký obsah elektrolytu s výhodou pufrovaného elektrolytu.

Dlouhodobá nestabilita:

- a) pomalé boční reakce; tento typ nestability je způsoben chemisorpcí, fyzikální adsorcí příměsí z elektrolytu nebo interferujícími reakcemi mezi katodou a nečistotami v elektrolytu. Tomuto typu nestability lze zabránit používáním vysoce čistých chemikálií a leštěním povrchu katody před uvedením do provozu.
- b) změny stavu anody; při pomalém rozpouštění anody a jejím pokrývání chloridem stříbrným se mohou měnit její charakteristiky. Hlavní vlivy jsou, změna účinné plochy, zvýšení odporu v důsledku příliš silné vrstvy chloridu stříbrného, spotřeba anody, vyloučení stříbra na katodě, zvýšení koncentrace iontů chlóru v elektrolytu. Těmto typům nestability je možné zabránit velkou plochou anody, vysokou čistotou anody, vhodnou koncentrací elektrolytu a technologií ^{pří}pravy.
- c) špatné chloridování Argentchloridové anody.

- d) adsorpcí malých částic na anodě. Je možno ji zabránit opět technologií a čistotou přípravy.
- e) svod mezi elektrodami. Během celého období, ^{kterém} ~~v němž~~ by měl elektrodový systém spolehlivě pracovat by měl být zajištěn odpor mezi elektrodami větší na 10^9 ohmu. U některých tmelů vznikají difuzí elektrolytu vodivé kanály, které zkratují elektrody a vzniká dlouhodobá nestabilita.

Zbytkový proud: v ideálním případě, kdy nenastane žádný z výše uvedených problémů, bez přítomnosti kyslíku mezi elektrodami neprotéká proud. V důsledku výrobních nedokonalostí, nečistot, svodů a dalších jevů i bez přítomnosti kyslíku mezi elektrodami protéká určitý proud, který se nazývá zbytkový proud. U dobře konstruovaného elektrodového systému je jeho velikost zanedbatelná (1×10^{-3}). V případech, kdy je zbytkový proud velký, ale stabilní může být elektricky kompenzován. Pokud je zbytkový proud nestabilní a dostatečně velký je čidlo nepoužitelné.

Zdroje zbytkového proudu jsou:

1. Redukce elektrochemicky aktivních nečistot na katodě, v elektrolytu nebo přicházejících z okolí. Lze je odstranit použitím materiálů o vysoké čistotě a chemické stabilitě.
2. Vylučování vodíku v roztoku elektrolytu při vysokém polarizačním napětí. Lze odstranit kontrolou polohy polarizačního napětí na polarografické vlně.
3. Nedostatečná izolace mezi elektrodami. Platí totéž co bylo řečeno při popisu dlouhodobé nestability. Materiál doporučovaný jako materiál k izolaci katody je sklo nebo polyfluoretylen. Nevýhodou skla je, že v konstrukci elektrodového systému se negativně projevují povrchové proudy a nespolehlivý stav rozhraní skla a tmelu použitých pro konstrukce elektrodových systémů.
4. Kyslík rozpuštěný v elektrolytu. Zbytkový proud je způsobován detekcí kyslíku v elektrolytu, kde může být doplňován difuzí přes stěny materiálů tvořících tělo elektrodového systému. Protože většina plastů má dobré difúzní vlastnosti pro kyslík, může to omezit použití plastů pro konstrukci těla.

Dynamické charakteristiky elektrodového systému: Dynamické charakteristiky elektrodového systému jsou jednoznačně určeny přechodovou charakteristikou elektrodového systému. Jak již bylo řečeno je pro optimální činnost elektrodového systému senzorů O nutná co nejtenčí vrstva elektrolytu. Díky tomu je role elektro-

lytu na dynamické vlastnosti senzoru zanedbatelná.
Empiricky byla zjištěna závislost

$$\tau_{95} \sim l \quad \text{je-li} \quad l \ll d \quad (1)$$

kde τ_{95} - je čas za ^{který} ~~nej~~ dosáhne odezva senzoru 95 % své maximální hodnoty

d - je průměr katody.

l - je tloušťka vrstvičky elektrolytu

Podmínka (1) je však v protikladu s požadavkem rychlého odstraňování hydroxidových iontů, což může způsobit výrazné změny pH ve vrstvičce elektrolytu, a tím i ve svém konečném důsledku změny dynamické charakteristiky, nezávisle na parciálním tlaku kyslíku. Experimentálně byly také prověřeny katody o průměru 1 až 10 μm . Při tak malých rozměrech se dostatečně rychle vyrovnává koncentrace látek v blízkosti elektrody difuzí a tyto elektrody nevyžadují míchání.

Příčiny změn dynamické charakteristiky senzoru:

1. Změna geometrického uspořádání elektrody (katody) a ideální membrány, jejímž výsledkem je boční difúze kyslíku.
2. Interakce s membranovým systémem.
3. Boční difúze kyslíku z elektrolytu
4. Nedostatečná rychlost rozkladu peroxidu vodíku.

Dynamická charakteristika senzoru v ideálním případě nevykazuje hysterezi. U reálných senzorů se však hystereze často vyskytuje, to jest výsledný signál závisí na historii polarizace elektrody.

Je způsobena následujícími vlivy:

1. velikostí, tvarem a celkovým uspořádáním rezervoáru elektrolytu.
 2. velikostí filmu elektrolytu
 3. elektrochemické příčiny (adsorbce)
 4. vlivem mechanických napětí v membránách membranového systému.
- Ze všech vlivů na dynamické vlastnosti senzoru má rozhodující význam interakce s membranovým systémem.

Vliv teploty: teplota má významný vliv na činnost senzoru kyslíku.

Zejména má vliv na citlivost a dobu odezvy. Odezva čidla je dana jednak elektrochemickou reakcí na katodě jednak transportem kyslíku.

Rychlost obou dějů závisí exponenciálně na teplotě, mechanismus obou dějů lze popsat klasickým způsobem pomocí aktivačních energií. Je známo, že průměrná změna v parametrech senzoru je $(1,42 \cdot 10^{-6})\%$ na 1 deg.

Pro přesné měření je nutná teplota na 0,1 deg. Empiricky bylo zjištěno, že nejlepší tepelné vlastnosti krycí membrany jsou při použití polytetrafluoretylenu.

Eliminace vlivu teploty:

1. termostatování čidla
2. spojení čidla s termistorem nebo jiným detektorem teploty a kompenzace výsledků.

Vliv tlaku: Ze známých skutečností vyplývá, že vlivem změn tlaku se mění tvar a tloušťka vrstvičky elektrolytu, a tím i všech charakteristik, které jsou na ni vázány. Na tlaku bude tedy záviset zejména citlivost, dynamická charakteristika, méně stabilita.

Je nutno připomenout, že pro krytí senzorů jsou používány membránové systémy o tloušťce přibližně 10 μm . (Malá tloušťka membránových systémů je vynucena požadavkem rychlé odezvy).

Změny tlaku řádově jednotek Pa mohou mít nezanedbatelný vliv na měření.

Rozbor konstrukce membránového systému.

Membránový systém zabezpečuje vlastní analytickou reakci. Ve většině případů se skládá z krycí membrány, která odděluje enzymové membrány v nichž probíhají analytické reakce od elektrodového systému. Enzymové membrány jsou odděleny řídicími membránami, které zabezpečují vhodný tok látek do jednotlivých komponentů enzymových membrán.

Obecné charakteristiky membránového systému:

Pro funkceschopný senzor je nutno zabezpečit, aby parametry membránového systému byly konstantní (tloušťka jednotlivých membrán, jejich difuzivita, mechanické vlastnosti).

Membránový systém může ovlivňovat linearitu senzoru.

Hlavní příčiny nelinearity jsou:

- a) nestejněměrné přiložení membránového systému k elektrodovému systému, nestejně tloušťky jednotlivých membrán membránového systému, přičemž jejich význam klesá se vzdáleností od katody.
- b) mechanická napětí v membránovém systému. Experimentálně bylo zjištěno, že membránový systém by měl být "volně přiložen" na elektrodový systém.

- c) Nelineární závislost permeability membrán v závislosti na koncentraci. Změna difuzivity (permeability) s mechanickým napětím.

Nelinearitu těchto typů lze většinou odstranit vhodným upevněním membránového systému.

Krátkodobá nestabilita senzoru je způsobena:

- a) špatným upevněním membránového systému, jeho pohybem vůči elektrodovému systému.
b) hydratací membrán a s tím spojenými změnami parametrů (difuzivita, rozměry)

Dlouhodobá nestabilita je způsobena:

- a) degradací membránového systému. Pomalým snižováním difuzivit, změnami mechanických napětí v membráně, vymýváním a denaturací použitých enzymů.
b) difuzí vody nebo inotů do elektrodového systému, z čehož plynou změny koncentrace elektrolytu. (nevhodné vlastnosti některých membrán)
c) difuzí látek, které jsou schopny otrávit katodu, do elektrodového systému.

Citlivost: je v ideálním případě určena " difuzním " odporem membránového systému.

Dynamická charakteristika senzoru.

Mezi jevy, které se týkají membránového systému a nejpodstatněji ovlivňují dynamické charakteristiky senzoru patří:

- a) nepravidelný styčný povrch membránového systému s elektrodovým systémem
b) mechanická napětí v membránovém systému
c) kapalinový film na povrchu membránového systému
d) deponované látky z měřeného roztoku na povrchu membránového systému.

Body c) a d) mohou způsobit závažné chyby při měření pomocí elektrochemického senzoru.

Vliv teploty:

Vliv teploty na činnost membránového systému je podstatný, protože jak přenosové jevy, tak probíhající chemické reakce závisí na teplotě exponenciálně.

Popis obou dějů lze provádět standartně pomocí aktivační energie. Lze provést odhad (horní) velikosti teplotní závislosti. Na každou membránu a chemickou reakci přibližně připadají 2% změny na deg

a výsledek je dán součinem jednotlivých teplotních změn.

Vliv tlaku:

Vliv tlaku se projevuje změnou rozměrů membránového systému a vznikem mechanických napětí v membránovém systému. Celková změna polohy membránového systému se projeví ve změně tloušťky vrstvy elektrolytu. Tento vliv byl diskutován v případě elektrodového systému. Mechanická napětí v membránovém systému mohou způsobit změnu jeho difuzních charakteristik, a tím ovlivnit jeho citlivost, dynamickou charakteristiku a v případě dlouhodobé relaxace materiálů membránového systému se projevit jako dlouhodobá nestabilita.

Většina současných typů elektrod je konstruována tak, aby splnila některé z teoretických požadavků, které byly vypsány výše.

a) Makroelektrody. Pro detekci enzymatických reakcí, které spotřebovávají kyslík jsou většinou využívány kyslíkové elektrody, na ~~ktéře~~ ^{kteře} je připevněna enzymová membrána. Protože kyslíková elektroda má pouze jednu měřicí elektrodu je nutno měření provádět v prostředí s definovaným parciálním tlakem kyslíku. Anody jsou argentschloridové. Elektroda jako celek je masivní (je snaha standartizovat průměr na 12 mm). Elektrolyt je možné snadno vyměnit. Nevýhodou těchto typů elektrod je relativně vysoká cena. Další nevýhodou je nemožnost miniaturizace při sériové výrobě. Další nevýhodou je, že v mnoha typech elektrod není přesně definována opora membrány, a tím je způsobena závislost výstupního signálu z elektrody na tlaku. Senzory tohoto typu je možné používat pouze ve speciálních laboratořích a nelze u nich počítat s využitím u laika. (například senzor glukózy v osobním glukometru diabetika). Tyto nevýhody jsou odstraněny regenerovatelným senzorem ^{po} dle vynálezu.

b) Planární mikrosenzory. Tyto jsou vyráběny mikrotechnologiemi na vhodném substrátu. Tím je dosaženo vysoké sériovosti a i nízké ceny. Užití ^m/mikroelektronických technologií je možné vytvořit miniaturní elektrodové systémy, které obsahují více elektrod, ^{popřípadě} ~~případně~~ i prvky pro měření teploty pro teplotní kompenzaci. Tyto systémy jsou ve fázi vývoje a nelze proto jednoznačně specifikovat jejich nevýhody. Z prvních výsledků však vyplývá, že nedořešeným problémem z hlediska dlouhodobého kontinuálního použití je způsob uchycení membrán a zabezpečení přítomnosti elektrolytu. Tyto nevýhody odstraňuje regenerova-

telný senzor ^{po} dle vynálezu, tím, že používá masivní (vzhledem k rozměrům ostatních elektrod) porézní anodu, jejíž pory slouží jako zásobník elektrolytu.

c) Jehlové elektrody. Příklady jehlových elektrod jsou popsány v těchto literárních pramenech:

M. Schiriri, R. Kawamori, Glycaemic Control in Pancreatonized Dogs with a Wearable artificial Endocrine Pancreas.

Diabetologia, 1983, 24, 179 - 184

M. Schichiri, R. Kawamori, Wearable artificial endocrine pancreas with needle-type glucose sensor. The Lancet, November 20, 1982 pp 1129 - - 1131.

M. Schichiri, R. Kawamori, Long - term Glycemic Control with a Portable system for insulin delivery, edited by P. Brunetti et al. Raven Press, New York c 1983.

Jehlová elektroda publikovaná v těchto uvedených pracech je vytvořena zatavením platinového drátku do skleněné trubičky, která je vsunuta do stříbrného obalu, který současně slouží jako referenční elektroda. Čelní část zatavené trubičky je vyleštěna a na vyleštěnou plochu je imobilizován enzym, který je překryt celulozovou membránou, obsahující heparin. Celý hrot jehlové elektrody je překryt polyuretanovou membránou.

Ikedo, S. Kimura, M., Ito, K., Needle type glucose sensors based on oxygen electrodes with a new concept. extended abstracts, Electrochemia Society meeting 18 - 23. 10. 1987.

Jehlová elektroda publikovaná v této práci je složena ze dvou za sebou uspořádaných samostatných kyslíkových elektrod, z nichž jedna je pokryta enzymem.

Nevýhodami jehlových elektrod je, že není definován elektrolyt, přesný povrch elektrod a obecně jsou velmi špatně splněny podmínky pro funkci elektrochemického senzoru.

Dosavadní nevýhody, popsané v bodech a), b), c) jsou odstraněny regenerovatelným enzymovým senzorem s výměnným membránovým systémem, jehož podstata spočívá v tom, že je tvořen tělem z korundové keramiky ve tvaru válce, které je zakončeno komolým kuželem, v němž je vytvořen zásobník, ve tvaru válce s podstavou mezikruží, uvnitř kterého je uspořádána jednak proudová elektroda tvořená ^v porezním kovem a jednak elektrolyt, například chlorid draselný, přičemž v řezu rovnoběžném se základnou má první keramická vrstva zásobníku tvar mezikruží, ^{kterým} ve které je uspořádána nej-

méně jedna měřicí elektroda a druhá keramická vrstva zásobníku má tvar válce, ve kterém je uspořádána referenční elektroda, a dále je tělo překryto krycí membránou a spojeno s krytem senzoru, na kterém je upevněn výměnný membránový systém tvořený držákem opatřeným nejméně jedním otvorem, ^{kterém} ve kterém jsou uspořádány alespoň jedna enzymová membrána, alespoň jedna ochranná membrána a alespoň jedna řídící membrána.

Tělo je vytvořeno ze slinované korundové keramiky, jejíž měrný odpor má hodnotu 10^6 až 10^{15} ohm./m.

První keramická vrstva zásobníku je opatřena alespoň jedním výstupkem, uspořádaným na vnitřním obvodu mezikruží, přičemž ve výstupcích jsou uspořádány měřicí elektrody.

Kryt senzoru je vytvořen z elastomeru nebo houževnatého plastu, například telfonu, polypropylenu nebo polykarbonátu vytvářejícími těsný spoj krycí membrány a kužele těla elektrodového systému.

Držák je vytvořen z plastu, například teflonu nebo polypropylenu a je rozebíratelně spojen s krytem senzoru.

Držák je opatřen aretačním výstupkem.

Otvory držáku, ^{kterých} ve kterých jsou uspořádány membránové systémy, jsou umístěny nad jednotlivými měřicími elektrodami.

Držák má tvar kruhu a je opatřen otvory, ve kterých jsou uspořádány enzymová membrána, opatřená příslušným enzymem, například glukozooxyázou a dále řídící membrána, ^{která} která má velikost póru odpovídající velikosti molekul měřené látky a ochranná membrána. Otvorech jsou dále uspořádány sítky.

Měřicí elektroda je kovová a je tvořena jedním z vybraných kovů, platiny, stříbra, zlata, tantalu, molybdenu, iridia, osmia nebo wolframu.

Čelní ploše kužele těla je struktura měřících elektrod, vytvořená překrytím jinými kovy, například zlatem, stříbrem, a platinou nebo jejich slitinami v poměru zlata 0,1 až 99,9 % hmot., stříbra 0,1 až 99,9 % hmot. a platiny 0,1 až 99,9 % hmot.

Čelní plocha kužele těla je leštěna a její drsnost je od 0,1 do 50 μ m.

Čelní plocha kužele těla převyšuje o 1 až 10 μ m měřicí elektrodu. Měřicí elektroda je tvořena slitinou zlata a platiny v poměru zlata 0,0 až 99,9 % hmot. a platiny 0,1 až 99,9 % hmot. Měřicí elektroda je vytvořena jako nekovová, například z uhlíku.

Referenční elektroda je vytvořena z kovu, například platiny a její čelní plocha je pokryta vrstvou stříbra nebo paladia.

Proudová elektroda je tvořena stříbrem o čistotě alespoň 97 % .
V porézním kovu proudové elektrody je obsažen elektrolyt.
Tělo, kryt i držák jsou vzájemně rozebíratelně spojeny.
Proudová elektroda je pokryta vrstvou chloridu stříbrného.

Nový a vyšší účinek lze spatřovat nejen v tom, že senzor současně splňuje hlavní požadavky, které vyplývají ze současného stavu techniky (viz. úvod), ale jeho konstrukční uspořádání umožňuje dále:

Vytváření katod ze stříbra, a to jednak nanášením stříbrné pasty a následným vypálením nebo nanášením stříbra některou z mikroelektrotechnických technologií na místa výstupu platiny-
vých elektrod. Tento postup je podmíněn použitím korundové kera-
miky ~~ke~~^{kte}~~re~~^{re} má stříbro velmi dobrou adhezi. Obdobná výhoda platí i pro zlato.

V případě platiny lze využít přímo platinové katody v korundové keramice.

Jsou-li platinové elektrody vyrobeny z kalibrovaných drátů, lze dosáhnout vysoké symetrie povrchu elektrod. Protože elektrody jsou velmi blízko sebe budou v procesu opracovávání^í (například leštění) podléhat stejným vlivům a výsledný senzor má symetrické elektrody. Protože měření probíhá diferenciálně, bude vliv historie výroby u platinových elektrod eliminován.

Anoda senzoru^{pr} dle vynálezu je vyrobena sintrováním stříbrného prášku ve vodíkové atmosféře a následným chloridováním v plynném chloru. Tím je dosaženo plochy anody o několik řádů vyšší, než plochy katod ve velmi malém objemu. Sintrováním ve vodíkové atmosféře je dosaženo dokonalého očištění stříbra a následné chlór-
ování vytváří homogenní kompaktní vrstvu chloridu stříbrného.
Anoda je porená. Tím se současně v malém objemu vytváří zásobník pro elektrolyt. Tím je možné dosáhnout toho, aby v relativně malém senzoru byl obsažen i zásobník elektrolytu.

Tělo senzoru je vyrobeno z korundové keramiky, která má vysoký měrný elektrický odpor a je inertní vůči roztokům solí, takže dlouhodobě zajišťuje odpor mezi elektrodami 10^{10} ohmů a více i v přítomnosti elektrolytu. Při použití korundové keramiky lze dosáhnout vysoce homogenního spojení mezi kovem katody (například platiny) a keramikou (heliová těsnost). Tím je dosaženo, že elektrodo-
va reakce probíhá pouze na čelní straně senzoru a neprobíhají boční elektrochemické reakce ve větší vzdálenosti

od membránového systému. Tím je odstraněna hystereze, změny dynamické charakteristiky a změny nebo pokles citlivosti.

Konstrukcí senzoru^{po} dle vynálezu jsou také omezeny některé zdroje nelinearity. V důsledku stejného průběhu opracování čela senzoru a diferenciálního způsobu měření se méně projevuje chemisorbce, adsorbce nečistost jak chemická, tak i fyzikální. Chlorováním v plynném chloru, a tím, že anoda má velký povrch (je porezní) je omezen vliv nelinearity způsobené nehomogením rozložením chloridu stříbrného.

Vzhledem k tomu, že elektrody jsou vpáleny do korundové keramiky, není možné postupné zvětšování plochy katody a s ní spojená nelinearita.

Styk membránového systému je zajištěn mechanicky. Protože je měření prováděno diferenciálně na symetrických katodách, bude částečně eliminován i vliv nelinearity způsobené membránovým systémem, protože tyto vlivy se kompenzují v diferenciálním měření.

Senzor^{po} dle vynálezu omezuje i některé vlivy dlouhodobé nestability. Jednak omezuje některé nestability způsobené bočními reakcemi, a to tím způsobem, že tělo je vyrobeno z inertní slinované korundové keramiky, kterou lze kompaktně spojit s elektrodami. Dále omezuje dlouhodobé nestability způsobené změnami parametrů anody tím, že používaná anoda má velký povrch. Dále omezuje dlouhodobé nestability způsobené špatným chloridováním, a to tím způsobem, že anoda je během slinování ve vodíkové atmosféře dokonale očištěna a následné chloridování plynným chlorem vytváří homogenní vrstvu chloridu stříbrného. Dále omezuje dlouhodobé nestability způsobené vznikem vodivého mostu tím způsobem, že je tělo senzoru vyrobeno z inertní slinované korundové keramiky, která je stálá v prostředí elektrolytu.

Senzor dle vynálezu významně omezuje zdroje zbytkového proudu.

Použitím korundové keramiky je dosaženo vysokého stupně izolace mezi elektrodami, a tím je eliminován zbytkový proud v důsledku špatné izolace a svodů nebo vodivých mostů mezi elektrodami.

Geometrickým uspořádáním, kdy je zásobník elektrolytu umístěný uvnitř těla senzoru a uzavřen masivními stěnami z korundové keramiky je eliminován zbytkový proud způsobený difuzí kyslíku z elektrolytu.

Konstrukcí senzoru^{po} dle vynálezu lze zlepšit i dynamické charakteristiky vzhledem k známým enzymovým elektrodám. Použitím

korundové keramiky, která má vysokou tvrdost, lze dosáhnout vysoké kvality čelního povrchu senzoru, a tím zabezpečit těsné přiložení membránového systému; dále použití korundové keramiky umožňuje vytvořit definovanou vrstvu elektrolytu, a to tím způsobem, že při konečném leštění plochy senzoru je použito brusiv o menší tvrdosti, než je tvrdost korundové keramiky a současně o větší tvrdosti, než je materiál katod. Tímto způsobem lze dosáhnout zahlbouní elektrod v materiálu senzoru. Na toto zahlbouní je možné nanést další kovy katod a ^{případně} ~~případně~~ znovu přeleštit. Tím způsobem lze definovaně připravit vrstvičky elektrodového systému mezi katodami a membránový systém o tloušťce ⁹² ~~1~~ $10 \mu\text{m}$.

Senzor ^{po} dle vynálezu také významně eliminuje vliv teploty, a to tím způsobem, že měřicí elektrody používané pro diferenciální měření jsou blízko sebe, jsou odděleny stříbrnou anodou (o vysoké tepelné vodivosti) a jsou symetrické. Proto budou pracovat ve stejné teplotě a v teplotní závislosti senzoru se neuplatní ty děje, které jsou symetrické vzhledem k měřicím elektrodám a jsou ovlivňovány teplotou. Je kompenzována teplotní závislost elektrodového děje, teplotní závislost difuzivity krycí membrány a difuzní parametry všech membrán, které jsou symetrické v membránovém systému pro různé měřicí elektrody. Teplotní závislost senzoru je tedy hlavně určována teplotní závislostí reakční rychlosti enzymu, který je použit k detekci látky (látek).

Senzor ^{po} dle vynálezu také významně ovlivňuje vliv tlaku na činnost senzoru, a to tím způsobem, že sintrovaná stříbrná anoda vytváří současně oporu pro membránový systém, která eliminuje větší pohyby membránového systému v důsledku tlaku.

Senzor ^{po} dle vynálezu řeší některé problémy imobilizace, dlouhodobé stability enzymů, jejich degradace tím způsobem, že enzymová membrána společně s řídicí membránou je snadno výměnná a slouží pro omezený počet měření, a tím odstraňuje dlouhodobou nestabilitu způsobenou degradací enzymových membrán. Dále je membránový systém vytvářen symetricky, to je pro každou měřicí elektrodu obsahuje membránový systém membrány o stejných parametrech jako membránový systém referenční a liší se pouze použitým enzymem.

Senzor ^{po} dle vynálezu řeší dále problém aretace držáku membránového systému tím způsobem, že obsahuje aretační výstupek, který zabraňuje pootočení nebo nedefinovanému přiložení držáku membrán-

nového systému s membránami. Takto vytvořený držák zmenšuje vlivy nelinearity způsobené nestejným přiložením membránového systému^a společně s konstrukcí elektrodového systému zabráňuje vytvoření mechanických napětí v membránovém systému a realizuje "volné přiložení".

Membránový systém senzoru^{po} dle vynálezu, jehož část, krycí membrána, která je vyrobena z polypropylenu nebo teflonu nebo polyetylentereftalátu, a která je upevněna k tělu senzoru kuželovou přichytkou zmenšuje dlouhodobou nestabilitu tím, že výše zmíněné membrány mají nízké hodnoty difuzivity pro molekuly vody a látky, které jsou schopny otrávit katodu. Dále tím, že uchycením membrány na kuželové ploše lze dosáhnout dobrého utěsnění zásobníku elektrolytu.

Membránový systém senzoru^{po} dle vynálezu omezuje svou konstrukcí i některé negativní vlivy na dynamické charakteristiky. Konstrukcí membránového systému a elektrodového systému jsou eliminována mechanická napětí v membránovém systému. Tím, že je membránový systém konstruován symetricky, je částečně eliminován vliv kapalinového filmu a deponovaných látek na povrchu membránového systému.

Vliv teploty na membránový systém je částečně eliminován symetrickým upořádáním tak, že převažuje pouze teplotní závislost určená vlastnostmi enzymu.

V případě, kdy je nutno zabezpečit rychlé odstraňování hydroxidových iontů od katod je výhodné upravit čelo senzoru tak, jak je zobrazeno na obr.3 b.

připojených^{po} Princip senzoru^{po} dle vynálezu je vysvětlen i znázorněn na ~~pří-~~ přílohách^{po} výkresech, kde na obr. 1 je znázorněna jedna z variant konstrukčního provedení senzoru^{po} dle vynálezu, na obr. 2 je znázorněna další varianta konstrukčního provedení senzoru^{po} dle vynálezu, na obr. 3 a je v řezu znázorněno tělo senzoru s elektrodovým systémem podle obr. 1, ^{na obr.} 3 b je v řezu znázorněno tělo senzoru s elektrodovým systémem podle obr.2, na obr. 4a je znázorněna jedna z konstrukčních variant provedení držáku v půdorysu, na obr.4b je znázorněna ^{stejná} ~~stejná~~ varianta v bokorysu, na obr. 5 je znázorněn membránový systém v řezu umístěný v držáku a na obr. 6 je znázorn detail proudové elektrody podle vynálezu. Senzor^{po} dle vynálezu bude popsán na dvou variantách jeho konstrukce.

Předmětem vynálezu je senzor, který sestává z těla 3, ukončeného kuželem 12, které je vytvořeno ze slinované korundové keramiky jejíž měrný odpor je 10 ohm/m, ^{ve kterém} je dále vytvořen zásobník 10 elektrolytu ve tvaru mezikruží, ve kterém je uspořádána proudová elektroda 5 tvořená porézním kovem 22, například stříbrem. Tato je vytvořena sintrováním stříbrného prášku při teplotě 800 až 900 °C ve vodíkové atmosféře a je následně chlorována plyným chlorem. Do těla 3 jsou dále zalisovány jednak referenční elektroda 4, vytvořená z platiny, jejíž čelní plocha 21 je například postříbřena a chloridována a jednak alespoň jedna měřicí elektroda 6 vytvořená z platiny. Kužel 12 těla 3, jehož čelní plocha 13 je leštěna a její drsnost je od 1 do 10 μm, je překryt krycí membránou 9, ^{která} je na něm upevněna krytem 2 senzoru. Na něm je upevněn držák 1, ve kterém jsou upořádány jednak enzymová membrána 8 a jednak ochranná membrána 11.

Je nárokován senzor, který sestává z těla 3, které je vytvořeno z korundové keramiky, jejíž měrný odpor je větší, než 10 ohm/m. Tělo 3 je provedeno jako válec ukončený komolým kuželem a je v něm vytvořen zásobník 10 ve tvaru válce s podstavou mezikruží. Přitom v řezu rovnoběžném se základnou má první keramická vrstva 17 tvar mezikruží po jehož vnitřním obvodu jsou uspořádány čtyři výstupky 19, ve kterých jsou zalisovány měřicí elektrody 6. Tyto výstupky 19 zasahují do prostoru zásobníku 10 kde je uspořádána proudová elektroda 5, tvořená porézním kovem 22, jehož póry jsou nasyceny elektrolytem 7, například chloridem draselným. Tato elektroda obklopuje druhou vrstvu 18 keramiky, ve tvaru válce, ^{která} je nalisována referenční elektroda 4, vytvořená, z platiny, jejíž čelní plocha 21 je například postříbřena a chloridována. Dále je kužel 12 těla 3, jehož čelní plocha 13 je leštěna a její drsnost je od 0,1 do 25 μm, překryt krycí membránou 9, ^{která} je na něm upevněna krytem 2 z plastu, ^{který} vykazuje takové mechanické vlastnosti, které zaručí vzduchotěsný spoj krycí membrány 9 s kuželem 12 těla 3 elektrodového systému. Na krytu 2 je ^{potom} upevněn držák 1, vytvořený z plastu, ^{který} zaručí rozebiratelné spojení s krytem 2 senzoru. Přitom držák 2 je opatřen aretačním výstupkem 16 a jeho průřez může mít tvar kruhu a jsou v něm vytvořeny otvory 14 ve kterých jsou upevněny sítky 15, které slouží pro mechanické zpevnění membránového systému, ^{který} je tvořen alespoň jednou enzymovou membránou 8, napuštěnou enzymem například glukooxydázou nad ^{kterou} je uspořádána alespoň

jedna řídicí membrána 20 a nad ní je uspořádána alespoň jedna ochranná membrána 11.

Další varianty konstrukce regenerovatelného enzymového senzoru vyplývají z jednotlivých podnároků předmětu vynálezu.

Funkce regenerovatelného enzymového senzoru je následující: referenční elektroda 4 je připojena na vstup operačního zesilovače a snímá potenciál v blízkosti krycí membrány. Proudové elektrody 5, tvořené porézním kovem 22, je vnucován takový proud, aby potenciál snímáný referenční elektrodou 4 měl předem definovanou hodnotu. Měřicí elektrody 6, při vhodném potenciálu vůči referenční elektrodě 4, měří proud, který je úměrný například toku kyslíku do prostoru elektrodového systému. Koncentrace měřené látky je úměrná množství této látky, která vzniká v příslušném membránovém systému. Membránový systém se skládá z několika membrán, které lze obecně rozdělit do tří skupin. První skupinu tvoří enzymové membrány 8, které katalyzují reakce mezi jednotlivými chemickými látkami a jejich výsledkem je látka, která je ^{pak} detekována elektrodovým systémem nebo úbytek látky v důsledku enzymových reakcí, který lze také detekovat elektrodovým systémem. Druhou skupinu tvoří řídicí membrány 20, ^{kteřa} ~~jež~~ difúzně omezují tok jednotlivých látek k enzymovým membránám 8, a tím nastavují koncentrační rozsah, ^{kteřím} ~~ve kterém~~ ^{potom} ~~pak~~ senzor pracuje. Poslední skupinu tvoří ochranné membrány 11, tyto buď pokrývají membránový systém jako celek, nebo i jednotlivé enzymové membrány 8, a tím zabraňují vstupu látek, které mohou deaktivovat enzym. Vlastní měření probíhá tak, že měřená látka je přiváděna k membránovému systému, kde prostupuje přes ochrannou membránu 11 k řídicí membráně 20, kde je upraven její tok k enzymové membráně 8, tak, aby množství produktu vznikajícího pomocí enzymu imobilizovaného v enzymové membráně 8 bylo optimální vzhledem ke koncentraci měřené látky. Produkt ^{potom} ~~pak~~ postupuje k další řídicí membráně 20 a celý děj se opakuje dokud nevznikná výsledný produkt, který je detekován elektrodovým systémem.

Využití regenerovatelného enzymového senzoru ^{po} dle vynálezu má vzhledem ke své konstrukci velmi široké uplatnění, zvláště při zavádění biotechnologických metod. Přímé použití lze hledat ^v následujících oborech: výroba sér a očkovacích látek, potravinářství a biochemické technologie, lékařství, chemická technologie, mikrobiologie, řízení biotransformací, řízení fermentačních procesů. U všech těchto oborů lze předpokládat využití enzymových senzorů.

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

1. Regenerovatelný enzymový senzor s vyměnitelnou enzymovou membranou, vyznačující se tím, že je tvořen tělem (3) z korundové keramiky ve tvaru válce, které je zakončeno komolým kuželem (12), ^{kteřím} ~~ve kterém~~ je vytvořen zásobník (10), ve tvaru válce s podstavou mezikruží, uvnitř kterého je uspořádána jednak proudová elektroda (5) tvořená porézním kovem (22) a jednak elektrolyt (7), například chlorid draselný, přičemž v řezu rovnoběžném se základnou má první keramická vrstva (17) zásobníku (10) tvar mezikruží, ^{kteřím} ~~ve kterém~~ je uspořádána nejméně jedna měřicí elektroda (6) a druhá keramická vrstva (18) zásobníku (10) má tvar válce, ve kterém je uspořádána referenční elektroda (4), a dále je tělo (3) překryto krycí membránou (9) a spojeno s krytem (2) senzoru, na kterém je upevněn výměnný membránový systém, tvořený držákem (1), opatřeným nejméně jedním otvorem (14), ^{kteřím} ~~ve kterém~~ jsou uspořádány alespoň jedna enzymová membrána (8), alespoň jedna ochranná membrána (11) a alespoň jedna řídící membrána (20).

2. Regenerovatelný enzymový senzor, podle bodu 1, vyznačující se tím, že tělo (3) je vytvořeno ze slinované korundové keramiky, jejíž měrný odpor má hodnotu 10^6 až 10^{15} ohm. m.

3. Regenerovatelný enzymový senzor podle bodů 1 a 2, vyznačující se tím, že první keramická vrstva (17) zásobníku (10) je opatřena alespoň jedním výstupkem (19) uspořádanými na vnitřním obvodu mezikruží, přičemž ve výstupcích (19) jsou uspořádány měřicí elektrody (6).

4. Regenerovatelný enzymový senzor_x podle bodů 1, vyznačující se tím, že kryt (2) senzoru je vytvořen z elastomeru nebo houževnatého plastu, například telfonu, polypropylenu nebo polykarbonátu, vytvářejícími těsný spoj krycí membrány (9) a kužele těla (3) elektrodového systému.

5. Regenerovatelný enzymový senzor_x podle bodu 1, vyznačující se tím, že držák (1) je vytvořen z plastu, například teflonu nebo polypropylenu a je rozebiratelně spojen s krytem (2) senzoru.

6. Regenerovatelný enzymový senzor, podle bodu 1 a 5, vyznačující se tím, že držák (1) je opatřen aretačním výstupkem (16).

7. Regenerovatelný enzymový senzor podle bodů 1, vyznačující se tím, že otvory (14) držáku (1), ^{kterých} ~~ve kterých~~ jsou uspořádány membránové systémy, jsou umístěny nad jednotlivými měřicími elektrodami (6).

8. Regenerovatelný enzymový senzor, podle bodů 1 a 7, vyznačující se tím, že držák (1) má tvar kruhu a je opatřen otvory (14), ve kterých jsou uspořádány enzymová membrána (8), opatřená příslušným enzymem, například glukooxyázou a dále řídicí membrána (20), ^{kteřá} ~~ve které~~ má velikost póru odpovídající velikosti molekul měřené látky a ochranná membrána (11).

9. Regenerovatelný enzymový senzor_x podle bodu 7, vyznačující se tím, že v otvorech (14) jsou dále uspořádány sítky (15).

10. Regenerovatelný enzymový senzor_x podle bodu 1, vyznačující se tím, že měřicí elektroda (6) je kovová a je tvořena jedním z vybraných kovů, platiny, stříbra, zlata, tantalu, molybdenu, iridia, osmia nebo wolframu.

11. Regenerovatelný enzymový senzor_x podle bodů 1, 3_x a 10, vyznačující se tím, že na čelní ploše (13) kužele (12) těla (3) je struktura měřicích elektrod (6), vytvořena překrytím jinými kovy, například zlatem, stříbrem, a platinou nebo jejich slitinami v poměru zlata 0,1 až 99,9 % hmot., stříbra 0,1 až 99,9 % hmot. a platiny 0,1 až 99,9 % hmot.

12. Regenerovatelný enzymový senzor podle bodu 11, vyznačující se tím, že čelní plocha (13) kužele (12) těla (3) je leštěna a její drsnost je od 0,1 do 50 μm .

13. Regenerovatelný enzymový senzor podle bodu 12, vyznačující se tím, že čelní plocha (13) kužele (12) těla (3) převyšuje o 1 až 10 μm měřicí elektrodu (6).

14. Regenerovatelný enzymový senzor_x podle bodů 1, 3 a 11 vyznačující se tím, že měřicí elektroda (6) je tvořena slitinou zlata a platiny v poměru zlata 0,0 až 99,9 % hmot. a platiny 0,1 až 99,9 % hmot.

15. Regenerovatelný enzymový senzor_x podle bodů 1 a 3, vyznačující se tím, že měřicí elektroda (6) je vytvořena jako nekovová, například z uhlíku.

16. Regenerovatelný enzymový senzor_x podle bodu 1_x, vyznačující se tím, že referenční elektroda (4) je vytvořena z kovu, například platiny a její čelní plocha (21) je pokryta vrstvou stříbra nebo paladia.

17. Regenerovatelný enzymový senzor_x podle bodu 1_x, vyznačující se

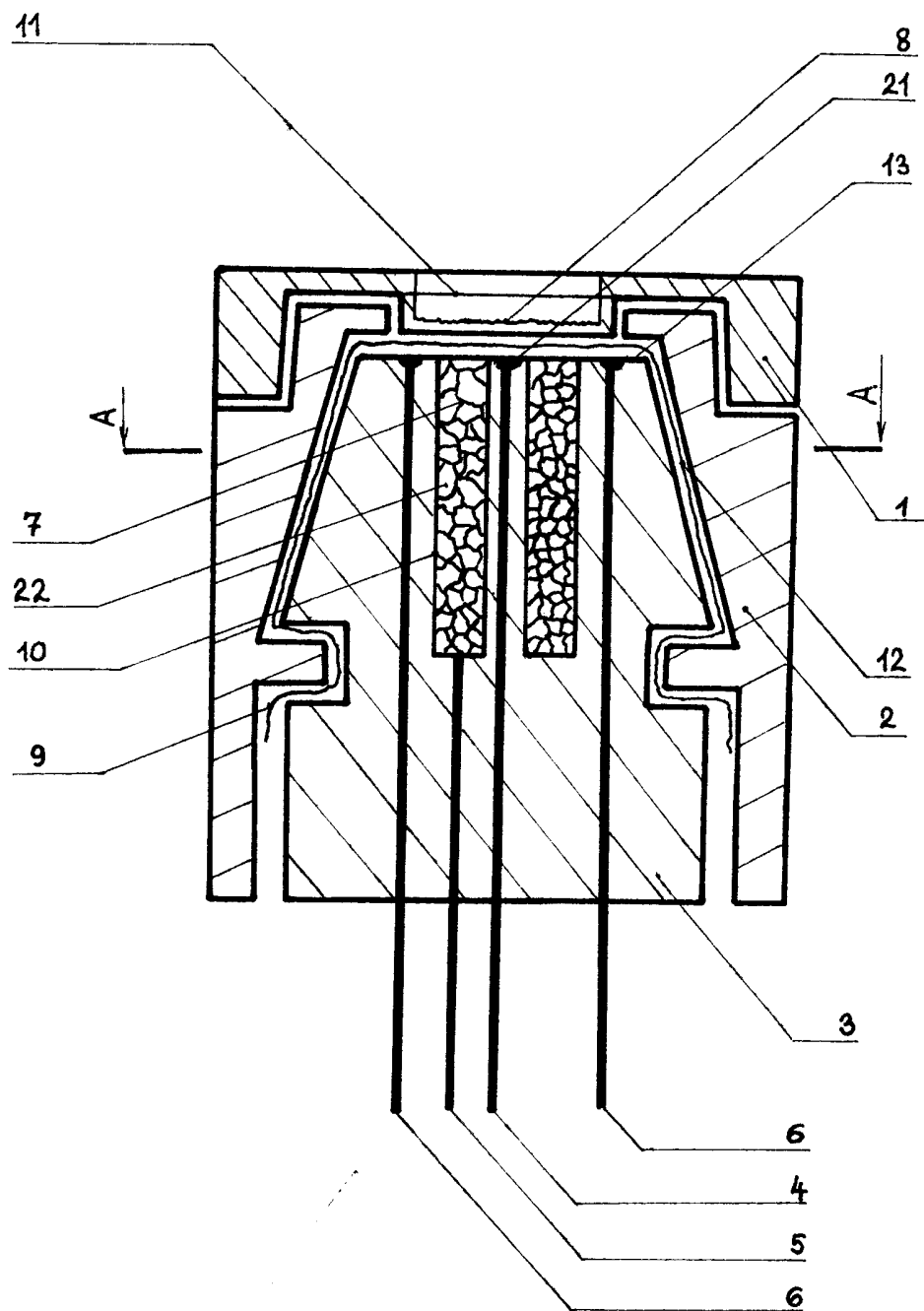
tím, že proudová elektroda (5) je tvořena stříbrem o čistotě alespoň 97 % .

18. Regenerovatelný enzymový senzor_x podle bodů 1_x a 17, vyznačující se tím, že v porézním kovu (22) proudové elektrody (5) je obsažen elektrolyt (7).

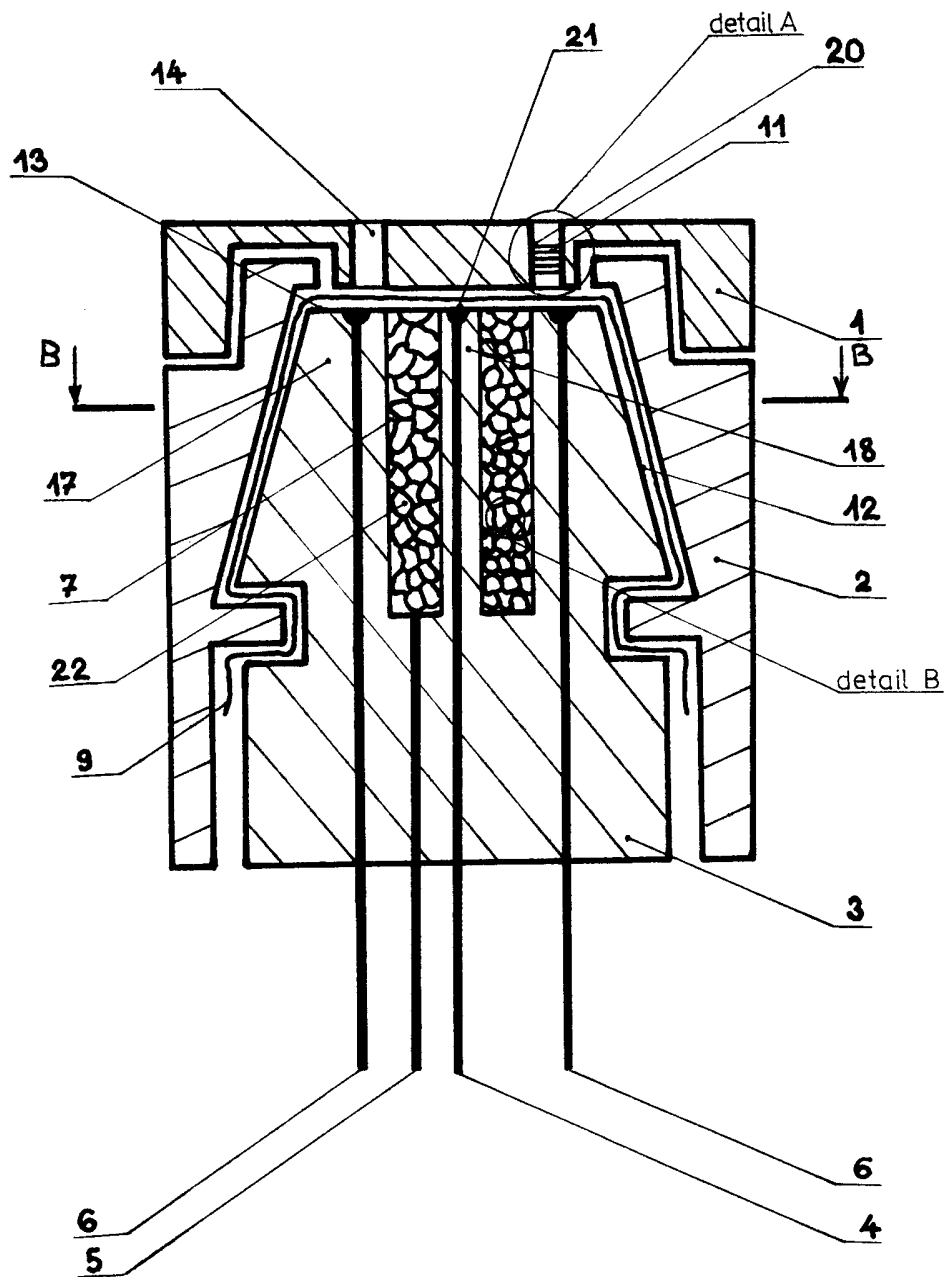
19. Regenerovatelný enzymový senzor_x podle bodů 1 a 4, vyznačující se tím, že tělo (3), kryt (2) i držák (1) jsou vzájemně rozebitelně spojeny.

20. Regenerovatelný enzymový senzor_x podle bodu 1 a 17, vyznačující se tím, že proudová elektroda (5) je pokryta vrstvou chloridu stříbrného.

TISK NV 7992-88

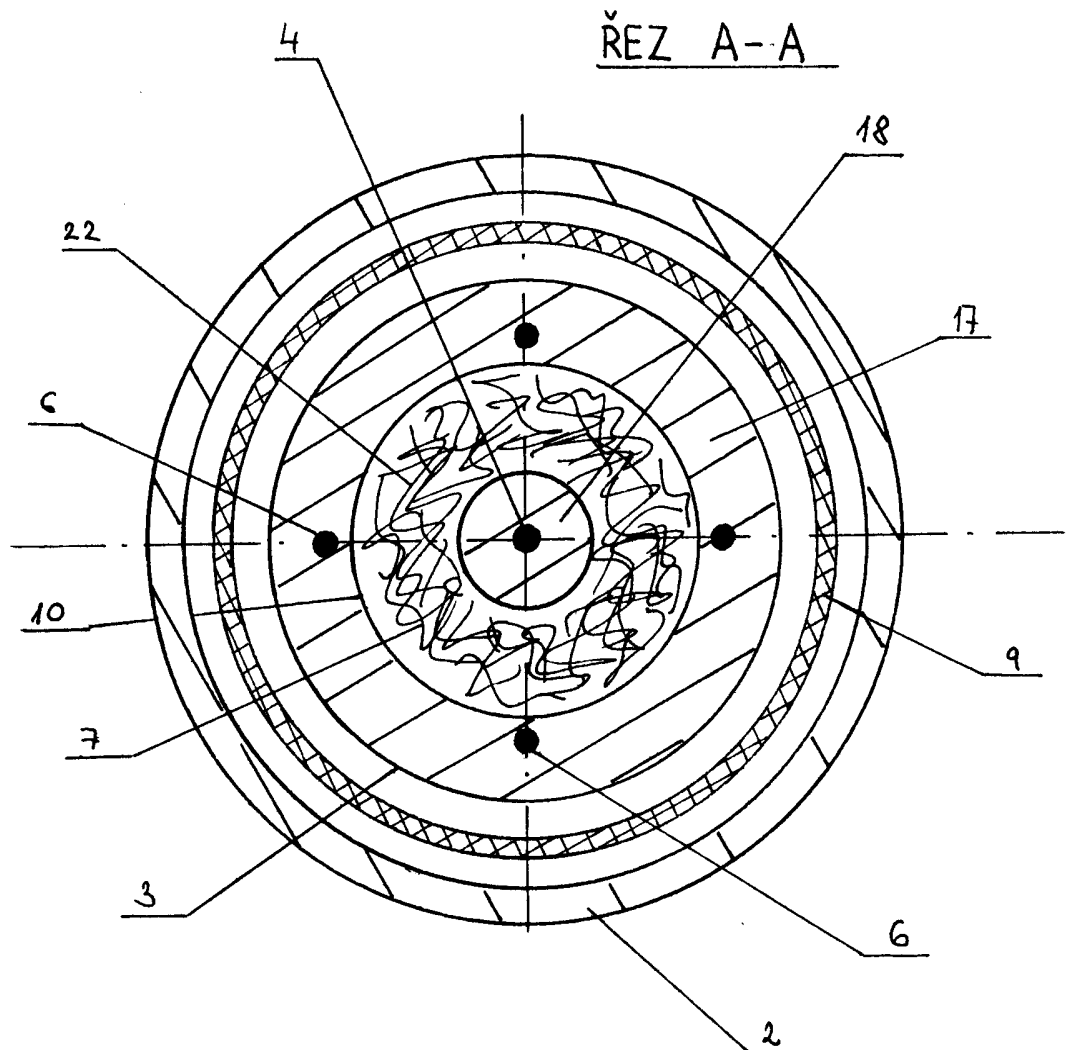


obr. 1



obr. 2

TAK IV 7992-88

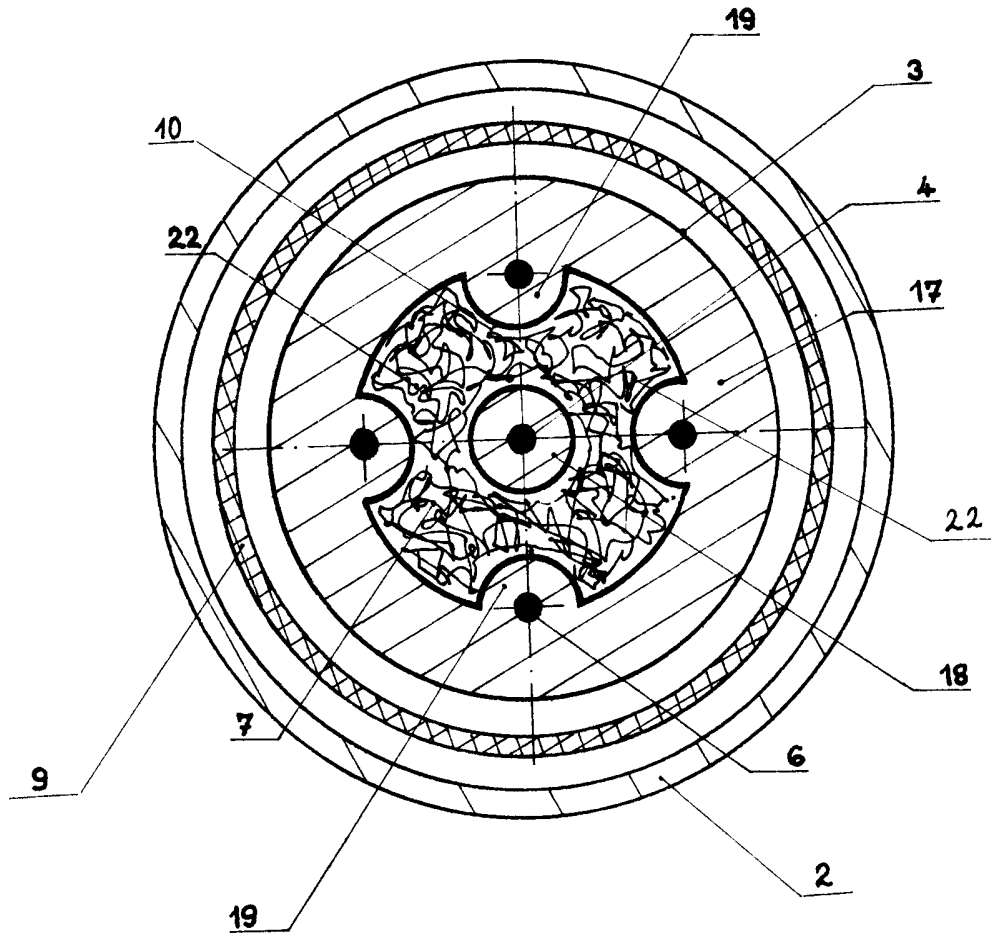


obr. 3a

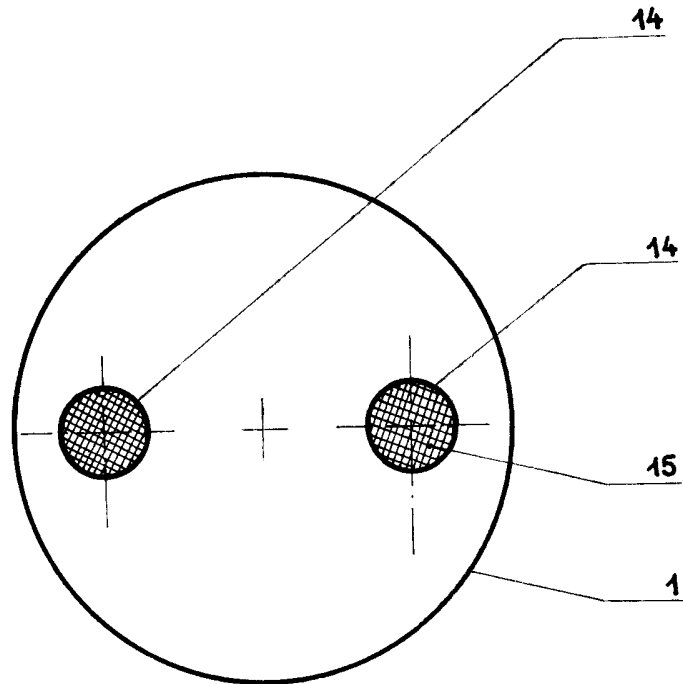
[Handwritten signature]

TICK N 7992-68

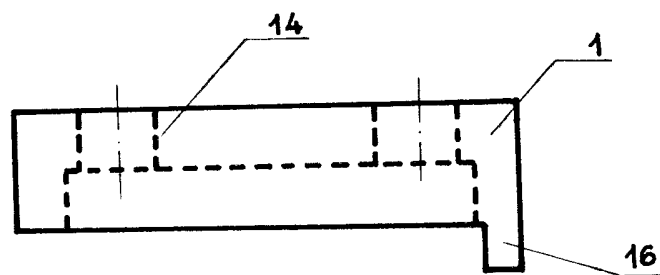
ŘEZ B-B



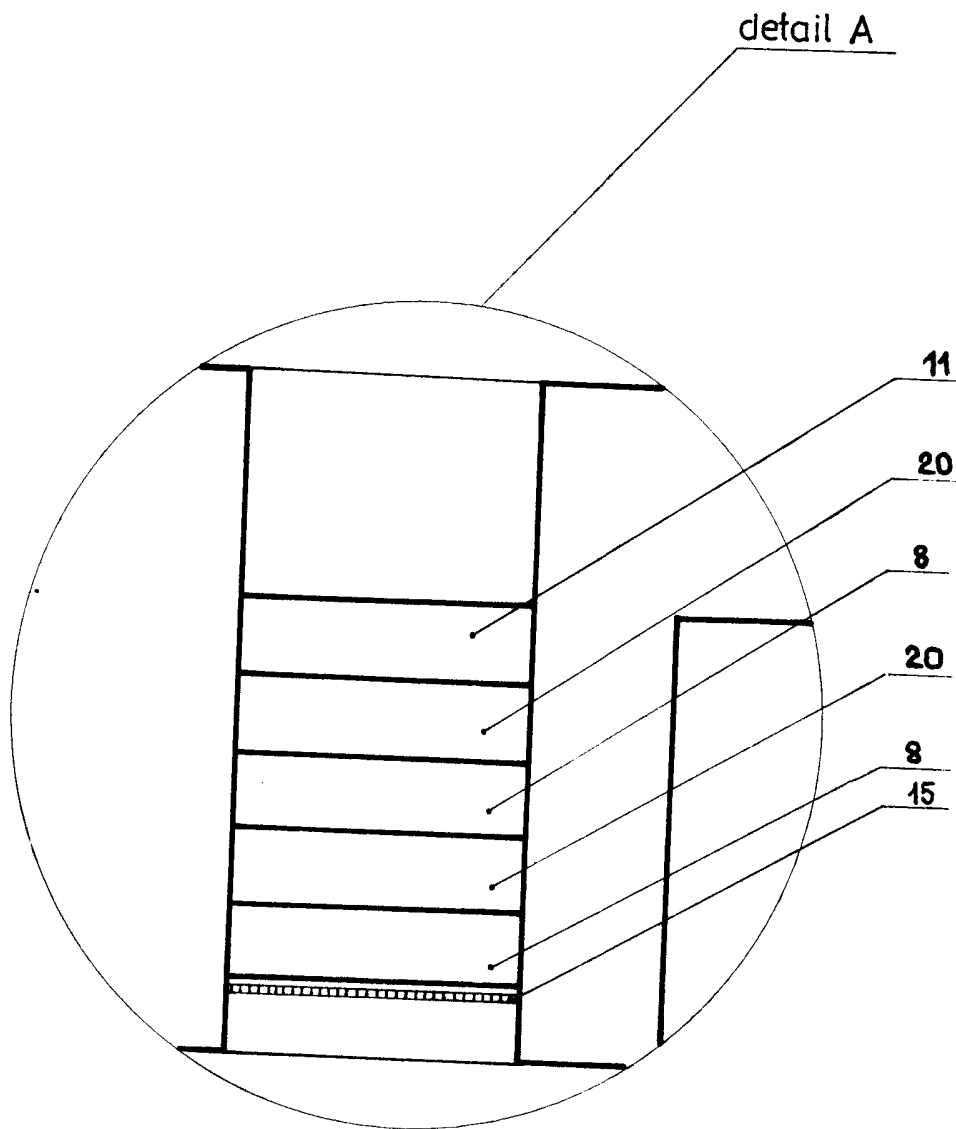
obr. 3b



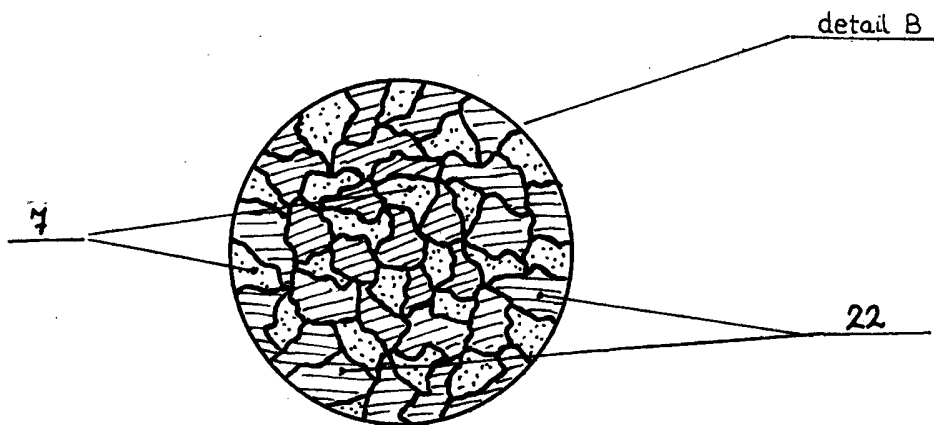
obr. 4 a



obr. 4 b



obr. 5



obr. 6