

## Biosensoren auf der Basis von Katalasemembranen unter Nutzung der enzymatischen Doppelfunktion zur molekularselektiven Carrier-Analyse von Ethanol

J. G. Schindler und K. Herna

Marburg/Lahn, ZABS Zentrum für Angewandte Bioelektrochemische Sensorik  
Gesellschaft für Forschung, Entwicklung und Produktion mbH

M. M. Schindler

Marburg/Lahn, Schindler Bio- und Chemosensoren Forschungslabor

Eingegangen am 23. Oktober 1995 bzw. 22. Februar 1996

### Biosensors Based on Catalase Membranes with Utilization of Enzymatic Bifunctionality for Molecular-selective Carrier-Analysis of Ethanol

**Abstract.** A robust bioelectrochemical measuring system for amperometric electroanalysis of ethanol is presented, which allows measurements between 0.01 and 99.8 vol. % of ethanol without preceding dilution. It is distinguished by long-lived biosensors based on bifunctional catalase membranes. Besides the O<sub>2</sub>-sensitive enzymatic biosensor the design includes components for intermediate carrier analysis such as a microdialysator for analyte uptake into buffered, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> containing carrier solution out of the sample solution

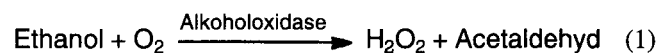
both with tangential countercurrent fluxes, an oxygenating pump for constant pO<sub>2</sub> in the carrier stream, a pressure adjusting chamber as protection from varying pressure on the enzyme membrane resulting from the roller pump's pulsations. Utilization of the membrane's catalatic and peroxidatic bifunctionality is the basis of ethanol analysis: peroxidatically acting catalase molecules cannot release oxygen by catalatic reaction of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at the same time.

Die Oxidase-Membranen zur Alkoholbestimmung gegenwärtig kommerziell verfügbarer Biosensoren weisen eine begrenzte Funktionsdauer von fünf bis sieben Tagen [1] beziehungsweise 1 bis 6 Wochen in Abhängigkeit von der jeweils bezogenen Enzymcharge [2] auf. Daher war es das Ziel, ein bioelektrochemisches Meßsystem zur Ethanolbestimmung zu entwerfen und entwickeln, bei dem die Enzymmembran des Biosensors eine Funktionsdauer von mehreren Monaten erreicht und über einen weiten Meßbereich verfügt. Diesbezüglich und aus der Sicht der Lebensdauer würden dann Enzymmembranen von Biosensoren durchaus den bewährten Carrier-PVC-Membranen [3, 4] ionenselektiver Festkontakt-Sensoren vergleichbar und für eine kontinuierliche Prozeßkontrolle in der Meß- und Regeltechnik attraktiv.

#### Material und Methodik

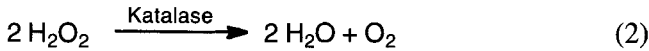
Das Konstruktionsprinzip der bioelektrochemischen Carrier-Analyse mit O<sub>2</sub>-sensitiv-enzymatischen Biosensoren, tangential angeströmtem Mikro dialysator, Druckausgleichskammer und Oxigenatorpumpe haben wir detailliert in [5] am Beispiel der Elektroanalytik von

β-D-Glucose und L-Lactat beschrieben. Der Austausch von β-D-Glucoseoxidase- oder L-Lactatoxidase-Membranen gegen eine Enzymmembran mit Alkoholoxidase (AOD) aus *Pichia pastoris* (EC 1.1.3.13) führt zu einem Ethanol-Biosensor, der bei entsprechender zusätzlicher Vorverdünnung mit Phosphat-Puffer die Bestimmung des Alkoholgehaltes von Bier, Wein und Likören im Durchflußverfahren erlaubt [2].

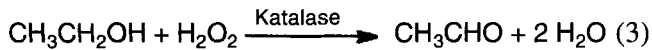


Abgesehen vom Ziel der Entwicklung eines Ethanol-Biosensors mit langer Funktionsdauer der Enzymmembran von mehreren Monaten sollte darüber hinaus das bioelektrochemische Meßsystem zur Carrier-Analyse auch Direktmessungen ohne Vorverdünnung selbst in hochprozentigen Proben zulassen. Ein weit ausgelegter Meßbereich würde die kontinuierliche Prozeßkontrolle bei der Herstellung verschiedenster alkoholischer Getränke gestatten.

Der Schlüssel zur Lösung des Problems liegt in der dualen Funktion der robusten Katalase; denn bekannterweise verfügt sie in ihren enzymatischen Eigenschaften über eine bemerkenswerte Doppelfunktion [6]. Außer der typischen katalatischen Funktion

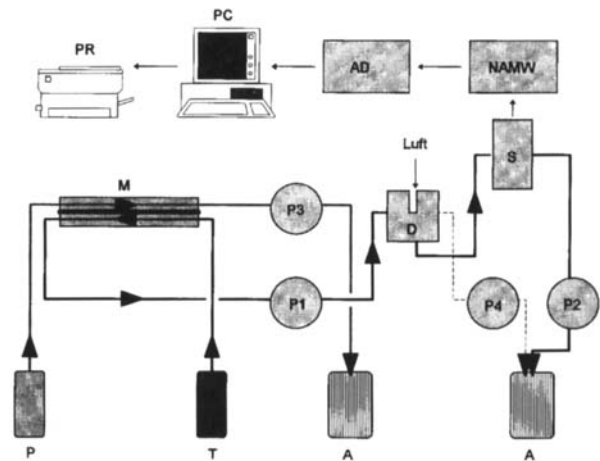


weist sie zusätzlich die gelegentlich weniger beachtete Zweitfunktion mit peroxidatischer Aktivität auf, wobei für die Oxidation von H-Donoren Wasserstoffperoxid verbraucht wird. Als H-Donoren können Ethanol, Methanol, Phenole oder Ameisensäure fungieren. Da aber die Biokatalyse von Ethanol in Gegenwart von Wasserstoffperoxid durch Katalase ohne Einfluß auf die O<sub>2</sub>-Konzentration erfolgt,



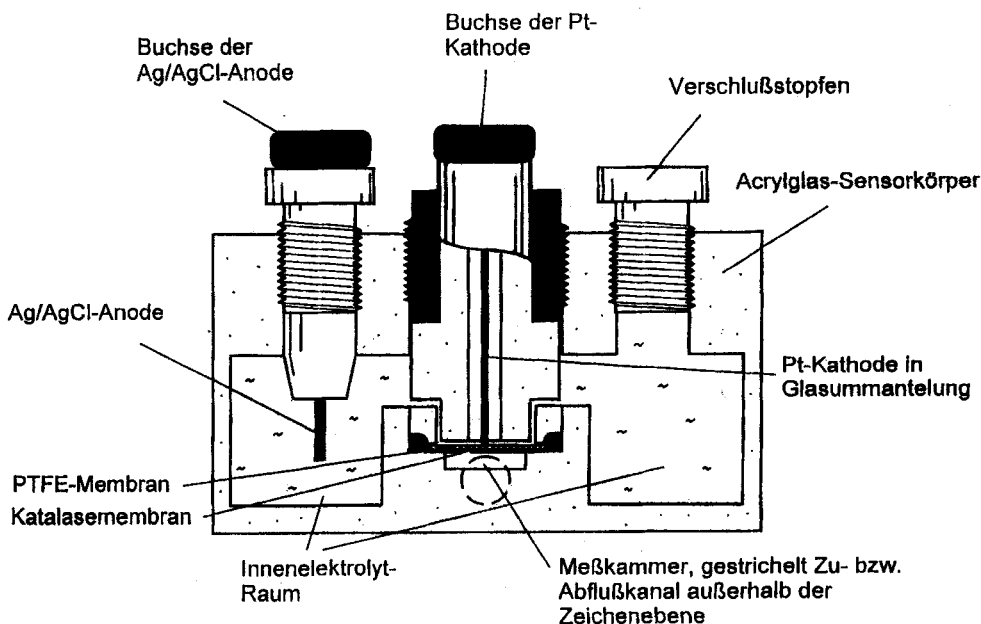
sollte sich bei einem gleichzeitigen Angebot von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH der reduzierte O<sub>2</sub>-Umsatz nach Gl. 2 analytisch sehr effektiv zur Ethanolmessung nutzen lassen. Der mit doppel funktioneller Katalasemembran ausgestattete Biosensor für Analysen im Durchflußverfahren ist in Abb. 1 wiedergegeben. Das Enzym ist zum Schutz gegen mikrobiellen Abbau zwischen zwei Dialysemembranen appliziert.

Obwohl unsere bisherigen Katalasemembranen für molekularselektive H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Biosensoren bereits eine Funktionsdauer von 4 bis 6 Monaten im Dauereinsatz er-



**Abb. 2** Bioelektrochemisches Durchflußmeßsystem mit den Funktionselementen Mikrodialysator M, Oxigenatorpumpe P1, Druckausgleichskammer D und Biosensor S nach Abb. 1 sowie rechnergestützter Auswertung zur direktamperometrischen Ethanolbestimmung mit 75,0 mg/l H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> im gepufferten Trägerstrom. P2 bis P4 Kanäle der Rollenpumpe – P Probe bzw. Kalibrierlösungen K<sub>1</sub> und K<sub>2</sub> – T Zwischenträgerlösung (Carrier) – A Abfall – NAMW nA-Meßwandler – AD AD-Wandler – PC Computer – PR Drucker.

reichten [2], wurden für die bioelektrochemische Ethanol-Carrier-Analyse noch zwei weitere, leistungsfähigere Varianten dieser Enzymmembran mit Katalase aus Rinderleber (hydrogen-peroxide oxidoreductase, EC 1.11. 1.6) für den O<sub>2</sub>-Detektor entwickelt (vgl. Legende in Abb. 4).



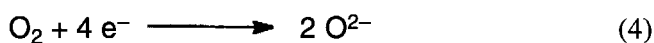
**Abb. 1** Molekularselektiver Biosensor zur Durchflußmessung mit doppel funktioneller Katalasemembran.

Das bioelektrochemische Durchflußmeßsystem zur Ethanolbestimmung nach Abb. 2 führt im Carrier-Strom 75,0 mg/l H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> permanent mit. Die Trägerlösung ist zur Messung der alkoholischen Getränke (vgl. Tab. 1) mit einem Phosphat-Puffer auf den Wert pH=7,04 eingestellt. Über die Dialysemembran des Mikro dialysators nimmt der Trägerstrom Ethanol aus dem nicht verdünnten Probenstrom auf. Während der Passage der Oxigenatorpumpe erfolgt die Einstellung auf einen konstanten pO<sub>2</sub> durch Gasaustausch zwischen der umgebenden Atmosphäre und dem gepufferten Carrier-Strom, so daß mit einer dem Biosensor nachgeschalteten Rollpumpe die Zwischenträgerlösung aus der Druckausgleichskammer angesaugt wird und dann mit konstantem Gehalt an physikalisch gelöstem Sauerstoff die Katalasemembran erreicht.

Eine Zweipunktkalibrierung erfolgte über die Proben-seite des Mikro dialysators, um die Austausch-eigenschaften der Dialysemembran zu berücksichtigen. Ein Meßzyklus bestand aus Messungen in Kalibrierlösung K<sub>1</sub> mit niedrigerer Ethanolkonzentration, dann in der Probe und schließlich in Kalibrierlösung K<sub>2</sub> mit höherer Ethanolkonzentration.

Die Kalibrierlösungen sind den Proben in der Matrix soweit als möglich anzugleichen (s. Ergebnisse). Alle Chemikalien besaßen p.a.-Qualität. Die bekannte Volumenkontraktion wurde beim Ansetzen von Ethanol-Lösungen in Vol.% beachtet. Um Gasblasenbildung beim Ansaugen von Sekt oder Bier zu vermeiden, mußte CO<sub>2</sub> durch Anwendung von Ultraschall vor der Messung entfernt werden.

Die Pt-Kathode mit vorgeschaltetem PTFE/Enzym-membransystem ist durch eine Ag-Anode in einem gepufferten KCl-haltigen Innenelektrolyten zur amperometrischen sauerstoff-sensitiven Meßzelle komplettiert,



die gemäß dem aufgenommenen Polarogramm plateauangepaßt bei 750,0 mV betrieben wurde. Mit einem nA-Meßwandler erfolgte eine 1:1-Signalwandlung (1,0 nA entspricht 1,0 mV) von der gemessenen Stromstärke in die in einen 21-Bit-AD-Wandler eingespeiste Spannung, der Anschluß an einen PC erfolgte über eine serielle Schnittstelle RS 232. Das speziell erstellte Auswerteprogramm erlaubt die On-line-Darstellung sowohl von Stromstärke-Zeit-Kurven als auch von auf der Basis von Zweipunktkalibriermessungen errechneten Konzentrations-Zeit-Kurven (s. Abb. 3 und 5).

## Ergebnisse

Gemäß der in Abb. 1 und 2 dargestellten Meßanordnung liefert die Enzymmembran aufgrund ihrer katalatischen

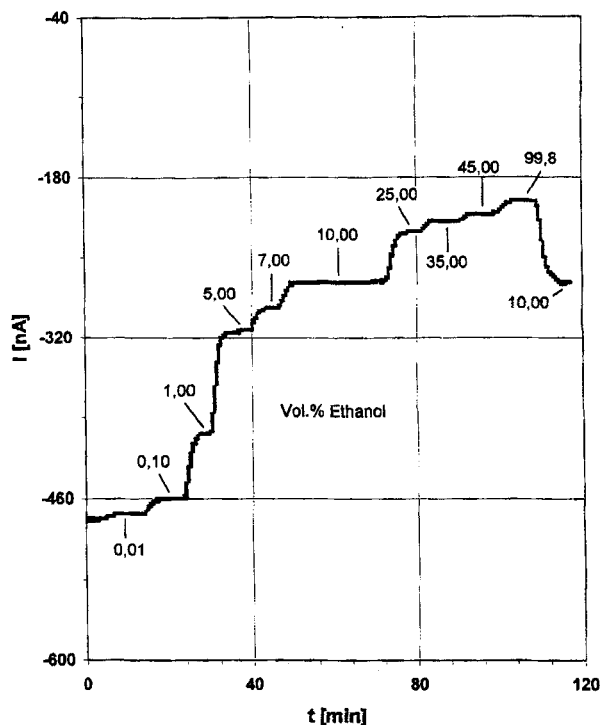
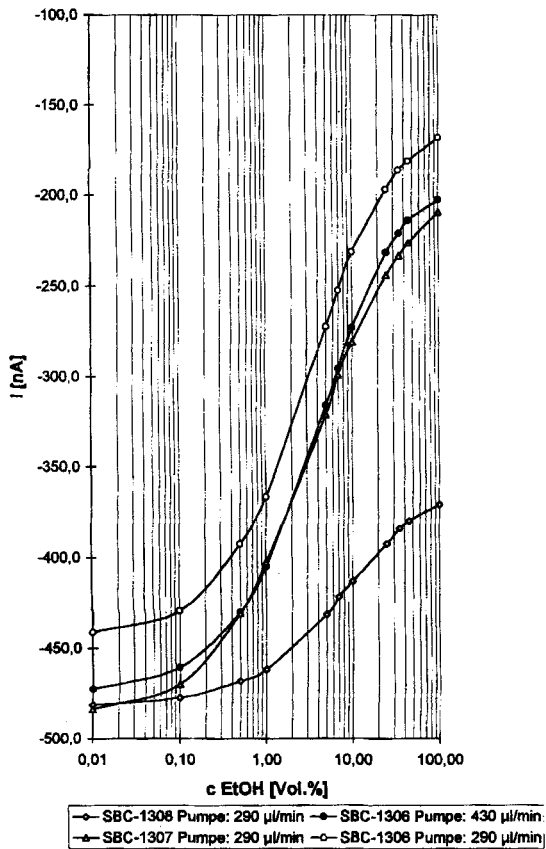


Abb. 3 Ausdruck einer kontinuierlichen Originalregistrierung: Stromstärke-Zeit-Kurve von Ethanolmessungen zwischen 0,01 und 99,8 Vol.%, mit Ausnahme von 99,8 Vol.% in phosphatgepufferten Lösungen mit einem pH-Wert von 7,04 und einem ebenso gepufferten Trägerstrom mit 75,0 mg/l H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bei einer Durchflußrate von 430 µl/min (vgl. Abb. 4); Membran SBC-1306.

Funktion nach Gl. 2 bei einem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Angebot von 75,0 mg/l in der Träger-Lösung dem O<sub>2</sub>-Detektor hinter der Enzymmembran Sauerstoff in hoher Konzentration. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Ethanol setzt nunmehr ein Teil der Katalasemoleküle durch peroxidatische Wirkung nach Gl. 3 den Analyten ohne Beeinflussung der O<sub>2</sub>-Konzentration um. Da aber diese peroxidatisch aktiven Enzymmoleküle nicht gleichzeitig aus H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> auch O<sub>2</sub> nach Gl. 2 katalatisch freisetzen können, sinkt der an der Platinkathode fließende sauerstoffabhängige Reduktionsstrom in Abhängigkeit von der Ethanolkonzentration (vgl. Gl. 4).

Das Meßsystem zeigte sogar in absolutem Ethanol (min. 99,8%, zur Analyse getrocknet auf max. 0,02% H<sub>2</sub>O) ein auf 1 nA stabiles Meßsignal (Abb.3). Unter laufender Mittelwertbildung ließ sich eine Meßwertfassung auf 0,1 nA Genauigkeit realisieren. Der S-förmige Verlauf der Stromstärke-Konzentrations-Kurve von 0,01 bis 99,8 Vol.% Ethanol (mit Ausnahme von 99,8 Vol.% in phosphatgepufferten Lösungen) weist im Bereich zwischen 1,00 und 10,00 Vol.% Linearität im semilogarithmischen Maßstab auf (Abb. 4). Der funktionelle Zusammenhang zwischen der Stromstärke I und



**Abb. 4** Stromstärke-Konzentrations-Diagramm im semilogarithmischen Maßstab bei Ethanolmessungen zwischen 0,01 und 99,8 Vol.% unter den in Abb. 3 genannten Bedingungen bei den Durchflußraten 290 und 430 µl/min. Membran SBC-1308 mit  $2,6 \cdot 10^4$  U Katalase; Membran SBC-1306 mit  $5,2 \cdot 10^4$  U Katalase; Membran SBC-1307 mit  $7,8 \cdot 10^4$  U Katalase. Nur die Membran SBC-1307 weist einen nach unten erweiterten Meßbereich bis 0,001 Vol.% Ethanol auf (hier nicht dargestellt).

der Ethanolkonzentration  $c$  läßt sich als Gleichung einer Geraden mit der Steigung  $S$  wiedergeben:

$$I = S \cdot \lg c_{\text{Ethanol}} \quad (5)$$

Daher kann für die Berechnung der Ethanolkonzentration aus der in der Probe gemessenen Stromstärke  $I$  unter Zugrundelegung einer Zweipunktkalibrierung (Abb. 5) die abgeleitete Gleichung 6 herangezogen werden.

Darüber hinaus gestatten Messungen in Kalibrierlösungen und Proben innerhalb quasilinearer Segmente der Stromstärke-Konzentrations-Kurve auch unter- und oberhalb des Bereiches von 1,00 bis 10,00 Vol.% auf der Basis der Gleichungen 5 und 6 eine direktanalytische Ausnutzung des gesamten angegebenen Meßbereiches. Deshalb wurden als Kalibrierpunkte für die Elektroanalyse von Wein und Sekt 5,00 und 10,00

$$c_P = c_{K1} \left( \frac{c_{K2}}{c_{K1}} \right)^{\frac{\Delta I_{P-K1}}{\Delta I_{K2-K1}}} \quad (6)$$

- $c_P$  Ethanolkonzentration in der Probe
- $c_{K1}$  Ethanolkonzentration in Kalibrierlösung  $K_1$  mit niedrigerer Konzentration
- $c_{K2}$  Ethanolkonzentration in Kalibrierlösung  $K_2$  mit höherer Konzentration
- $\Delta I_{P-K1}$  Differenz zwischen den in Probe und Kalibrierlösung  $K_1$  gemessenen Stromstärken
- $\Delta I_{K2-K1}$  Differenz zwischen den in Kalibrierlösungen  $K_2$  und  $K_1$  gemessenen Stromstärken

Vol.%, von Bier 1,00 und 5,00 Vol.%, von sogenannten alkoholfreien Bieren 0,10 und 0,50 Vol.% und hochprozentigen alkoholischen Getränken 25,00 und 35,00 Vol.% Ethanol gewählt.

Eine Phosphatpufferung der Kalibrierlösungen kann nicht generell empfohlen werden, da Fehlkalibrierungen (z.B. bei der Messung von Franken-Weinen) beobachtet wurden. Bei dem Entwurf einer Matrix für Kalibrierlösungen sind mit Rücksicht auf die pH-abhängige Enzymaktivität drastische Abweichungen von den pH-Werten der Proben zu vermeiden, auch wenn der gepufferte Carrier-Strom korrigierend wirkt. Eine einfach handhabbare Matrix lieferte das Marburger Trinkwasser. Da allerdings die Herstellung einer diesem Medium analogen Elektrolytlösung einen unvermeidbar hohen Aufwand erfordert, wurde für die Messung von Bier, Wein, Sekt und hochprozentigen Getränken wie Doppelkorn als definierte, reproduzierbare Matrix eine Elektrolytlösung aus 140,0 mmol/l NaCl, 4,50 mmol/l KCl und 1,00 mmol/l  $\text{CaCl}_2$  erfolgreich eingesetzt. An einer geeigneten Matrix für die Kalibrierung von Likören mit hohem Gehalt an Zuckern und aromatischen Stoffen wird gearbeitet.

Eine Zusammenstellung der gemessenen Ethanolkonzentrationen in alkoholischen Getränken unterschiedlicher Konzentrationen findet sich als Vergleich zu den Etikettangaben in Tab. 1.

Eine fortlaufende Elektroanalyse über einen Zeitraum von 2 Stunden (Beispiel in Abb. 3) mit hervorragender Meßwertstabilität und -reproduzierbarkeit (vgl. die Reproduzierbarkeit der Messungen in 10,00 Vol.% Ethanol) beweist ferner die prinzipielle Einsatzfähigkeit und Eignung des beschriebenen Verfahrens zur Prozeßkontrolle. In Abb. 5 ist ein Beispiel für die rechnergestützte Darstellung einer Konzentrations-Zeit-Kurve auf der Basis der entsprechenden Stromstärke-Zeit-Kurve unter kontinuierlicher Konzentrationsberechnung im Rahmen einer Zweipunktkalibrierung wiedergegeben.

Zwei Meßsysteme zur Carrier-Analyse von Ethanol befinden sich seit ca. drei Monaten kontinuierlich mit uneingeschränkter Funktion in Betrieb. Damit wird

unsere eingangs formulierte Forderung nach einem bioelektrochemischen Meßsystem für Ethanol mit langer Funktionsdauer und zur Bestimmung auch hochprozentiger Proben erfüllt.

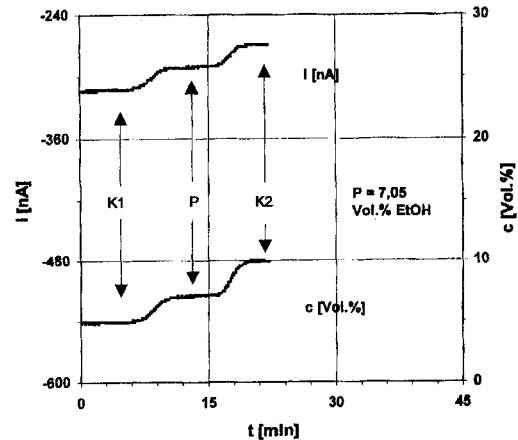
## Diskussion

Ethanol-Biosensoren basieren bisher auf Enzymmembranen mit der Alkohol-Dehydrogenase [7, 8] oder -Oxidase [1, 2, 9] beziehungsweise den vom Chemismus her ganz andersartigen Carrier-PVC-Membranen für Optoden [10]. Dagegen verfügt das hier beschriebene neuartige Meßsystem zur bioelektrochemischen Analyse von Ethanol über eine robuste Katalasemembran mit gezieltem Einsatz der enzymatischen Bifunktionalität. Die lange Funktionsdauer sowie die Möglichkeit von Durchflußmessungen sogar in hochprozentigen Proben liefern entscheidende Voraussetzungen für die Anwendung zur kontinuierlichen Prozeßüberwachung in der Regeltechnik.

Da Katalasemembranen auf Methanol und Phenol ansprechen [11], werden wir in Zukunft weitere Anwendungsgebiete unter Ausnutzung der katalatischen und peroxidatischen Doppelfunktion dieses Enzyms erschließen. Prinzipiell sollte es daneben auch möglich

**Tab. 1** Ergebnisse der Direktmessungen nach Abb. 2 mit dem Biosensor nach Abb. 1 sowie der Membran SBC-1307 (vgl. Abb. 4) in alkoholischen Getränken

Getränk	Etikett [% vol.]	Meßwert [Vol.%]	Abw. [%]
<b>Wein</b>			
Volkacher Kirchberg, 1992, Müller-Thurgau (Franken)	10,0	10,23	+2,30
»Ehrentrudis«, 1993, Spätburgunder Weissherbst (Baden)	10	10,26	+2,60
Merdinger Bühl, 1994, Spätburgunder Rotwein (Baden)	12	11,71	-2,42
»Martin Schongauer«, 1993, Grauer Burgunder (Baden)	11,5	11,88	+3,30
<b>Sekt</b>			
Henkel Trocken, Pikkolo	11,5	11,44	-0,52
Fürst von Metternich	11,5	11,44	-0,52
<b>Bier</b>			
Licher Pilsner Premium	4,9	4,86	-0,82
Binding Römer Pils	4,9	4,87	-0,61
Clausthaler Premium	alkoholfrei	0,34	
Beck's Spitzen-Pilsener	alkoholfrei	0,28	
<b>Malzgetränk</b>			
Karamalz	alkoholfrei	0,097	
<b>Kornbrand</b>			
Echter Hasebrink Doppelkorn	38	37,78	-0,58
<b>Rum</b>			
Asmussen Jamaica Rum	40	40,63	+1,58



**Abb. 5** Rechnergestützte Darstellung einer Konzentrations-Zeit-Kurve (unten), errechnet auf der Basis der korrespondierenden Stromstärke-Zeit-Kurve (oben) anhand einer Zweipunktkalibrierung mit den Kalibrierlösungen  $K_1$  (5,00 Vol.% Ethanol) und  $K_2$  (10,00 Vol.% Ethanol), Ist-Wert der zu bestimmenden Probe  $P$ : 7,05 Vol.% Ethanol, Sollwert: 7,00 Vol.% Ethanol. Meßbedingungen vgl. Abb. 3, Membran SBC-1306.

sein, beispielsweise Ameisensäure elektroanalytisch zu erfassen.

Enzymmembranen mit AOD aus *Pichia pastoris* zeigen die Selektivitätssequenz Methanol > Ethanol > 1-Propanol > 2-Propanol. Sogar ein Ansprechen auf Aldehyde und Carbonsäuren wurde für AOD aus *Basidiomyceten* mitgeteilt [9]. Hiervon unterscheidet sich die Alkohol-Dehydrogenase aus *Gluconobacter suboxydans* IFO 3172 unter anderem im Selektivitätsmuster durch fehlende Sensitivität bezüglich Methanol [8].

Obwohl bereits 1973 Aizawa, Karube und Suzuki die Beschreibung eines  $O_2$ -sensitiv-enzymatischen  $H_2O_2$ -Sensors mit einer Katalase-Kollagen-Membran vorlegten [12], finden  $H_2O_2$ -Sensoren erst jetzt ein zunehmendes Interesse in der Textilindustrie zur Prozeßoptimierung kontinuierlicher Bleichverfahren [13]. Aktuell wird auch ihr Einsatz bei photochemischen Oxidationsprozessen mit UV-Lampen und Wasserstoffperoxid zur Zerstörung organischer Komponenten [14] wie PCBs. Gegenwärtig werden in der Textilindustrie bereits Chemosensoren mit direkter anodischer Oxidation von  $H_2O_2$  an Pt eingesetzt [13].

Untersuchungen an Richtigkeitskontroll-Seren über die elektroanalytische Verlässlichkeit (Präzision und Richtigkeit) von L-Lactat- und  $\beta$ -D-Glucose-Biosensoren in der klinisch-chemischen Analytik belegen, daß ein Arbeiten mit Platinanoden und Oxidasemembranen über  $H_2O_2$ -Detektion im Plateaubereich nach Maßgabe des Polarogrammes durch Querempfindlichkeiten zu hohe Meßströme mit Ergebnissen außerhalb des Sollbereichs liefert [15]. Als Verursacher sind beispielsweise Harnsäure und Ascorbinsäure bekannt [16]. Zur Inter-

ferenzeinschränkung werden bei abgesenkter Arbeitsspannung Redoxmediatoren als Elektronenvermittler zwischen Glucoseoxidase und Redoxelektrode aus Platin eingesetzt [17]. Kürzlich wurde im Hinblick auf die genannten Querempfindlichkeiten an Glucosesensoren mit Pt-Anoden eine im Vergleich zu einem GOD-Rinderalbumin/Nafion-Membransystem verbesserte Selektivität durch zusätzliche Unterlegung mit Poly(o-phenylendiamin) berichtet; jedoch konnte leider damit die Permeation des Schmerzmittels Acetaminophen nicht eliminiert werden [18].

Da aber Ascorbinsäure vielen Getränken zugesetzt wird und die zu erwartenden Störsubstanzen bei vielen Applikationen nur mit Einschränkung abzuschätzen sind, bevorzugen wir [2, 5, 15] deshalb prinzipiell bei Biosensoren mit Oxidasemembranen zur Signalübertragung den durch eine ionenundurchlässige PTFE-Folie diffundierenden Sauerstoff. Im Meßgut auftretende Schwankungen des Sauerstoffpartialdruckes werden über die Oxigenatorpumpe [19] ausgeglichen. Den O<sub>2</sub>-Detektor betreffende Querempfindlichkeiten gegenüber flüchtigen, durch die PTFE-Folie permeierende und kathodisch umsetzbare, polarographisch aktive Stoffe wie verschiedene Halogenkohlenwasserstoffe sind zum Teil bekannt [20, 21] und für etliche Applikationsgebiete irrelevant.

Wir bevorzugen, wie im vorliegenden der Fall, bei Biosensoren mit Sauerstoffdetektoren und PTFE-Folie prinzipiell die Applikation des Enzyms zwischen zwei Dialysemembranen, um sie vor einem mikrobiellen Abbau zu schützen [2, 5]. Das im Trägerstrom mitgeführte und desinfizierend wirkende H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> setzt einer mikrobiellen Schlauch- und Kanalbesiedlung bis in die Meßkammer des Sensors mit konsekutiver Sauerstoffzehrung einen erheblichen Widerstand entgegen. Bei unzureichender Prophylaxe kann zusätzlich Glutardialdehyd eingesetzt werden [5], der mit der Katalasemembran kompatibel ist. Eine Bekämpfung des „biofoulings“ [22] in Biosensorsystemen durch Natriumazid ist, nicht zuletzt wegen seines hohen Gefahrenpotentials [23, 24], als obsolet einzustufen; denn es kann schließlich nicht erstrebenswert sein, beim Betrieb eines Biosensors Gefahrstoffe mit extrem hohem Risiko freizusetzen.

## Literatur

- [1] L. Bucsis, *LaborPraxis* **1995**, 56
- [2] J. G. Schindler, M. M. Schindler, K. Herna, H. Guntermann, M. Pohl, *SENSOR report* **1995**, 28
- [3] J. G. Schindler, M. M. Schindler, *Bioelektrochemische Membranelektroden*, Walter de Gruyter, Berlin, New York 1983
- [4] J. G. Schindler, M. M. Schindler, K. Herna, E. Reisinger, B. Burk, R. Engisch, J. P. Heidrich, B. M. Buch-

- heister, S. Wortmann, D. Gehrke, H. H. Klein, *J. Prakt. Chem.* **336** (1994) 575
- [5] J. G. Schindler, M. M. Schindler, K. Herna, M. Pohl, H. Guntermann, B. Burk, E. Reisinger, *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* **32** (1994) 599
- [6] H. Aebi, Katalase, in: H. U. Bergmeyer unter Mitarbeit von K. Gawehn, *Methoden der enzymatischen Analyse*, 3. Auflage, Band I, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße 1974, S. 713
- [7] W. J. Blaedel, R. C. Engstrom, *Anal. Chem.* **52** (1980) 1691
- [8] Y. Kitagawa, K. Kitabatake, I. Kubo, E. Tamiya, I. Karube, *Anal. Chim. Acta* **218** (1989) 61
- [9] M. Nanjo, G. G. Guilbault, *Anal. Chim. Acta* **75** (1975) 169
- [10] K. Seiler, K. Wang, M. Kuratli, W. Simon, *Anal. Chim. Acta* **244** (1991) 151
- [11] K. Herna, M. M. Schindler, J. G. Schindler, in Vorbereitung
- [12] M. Aizawa, I. Karube, S. Suzuki, *Anal. Chim. Acta* **69** (1974) 431
- [13] S. Thoma, J. G. Schindler, M. M. Schindler, K. Herna, B. Dürichen, H. Guntermann, in Vorbereitung
- [14] J. E. Cothren, C. L. Giggy, F. Schmidt, H. E. Winkler, *On Site Application of Photochemical Oxidation to Unforeseen Groundwater Remediation Problems in the United States and Europe*, NGWA 46th Annual Convention/Exposition „Groundwater Remediation: Existing Technology and Future Direction“, Las Vegas, Nevada, 9–12 October 1994. Vortrag der Vulkan Peroxidation Systems Inc., USA und Peroxidations Systeme GmbH, Langen, Germany
- [15] H. Guntermann, M. Pohl, K. Herna, M. M. Schindler, J. G. Schindler, *J. Prakt. Chem.* **338** (1996) 30
- [16] H. Kaden, G. Schönfeld, *GIT Fachz. Lab.* **1995**, 301
- [17] D. Wilke, H. Müller, *BIOforum* **11**/(1992) 402
- [18] F. Moussy, D. J. Harrison, D. W. O'Brien, R. V. Rajotte, *Anal. Chem.* **65** (1993) 2072
- [19] J. G. Schindler, W. Schäl, *Deutsche Patentschrift DE 27 37 920 C2*. Prioritätsdatum 23.8.1977
- [20] W. Stracke, zit. nach M. von Stackelberg, *Polarographische Arbeitsmethoden*, Walter de Gruyter & Co., Berlin 1950
- [21] J. W. Severinghaus, R. B. Weiskopf, M. Nishimura, A. F. Bradley, *J. Appl. Physiol.* **31** (1971) 640
- [22] H. C. Flemming, *BIOforum* **1994**, 61
- [23] E. Merck, Darmstadt: Merck PC-Liste mit Stand vom 02.08.1993, Natriumazid reinst
- [24] Boehringer Mannheim GmbH, Protection of buffers and columns against microbial contamination made easy! (Informationsschrift)

Korrespondenzanschrift:  
 Prof. Dr. Dr. J. G. Schindler  
 ZABS GmbH  
 Hannah-Arendt-Straße 4  
 D-35037 Marburg/Lahn, Germany