

Isabel Kim Kandlhofer, BSc

# Potentiometrischer Kalium-Sensor zur single-use-Anwendung in einem Teststreifen Messsystem

Masterarbeit



HEALTH - Institut für Biomedizin und Gesundheitswissenschaften,

Biomedizinische Technik und Monitoring

JOANNEUM RESEARCH Forschungsgesellschaft mbH

Neue Stiftingtalstraße 2, A - 8010 Graz

Leitung: Univ.-Prof. Dr. Thomas R. Pieber



Institut für Medizintechnik

Technische Universität Graz Kronesgasse 5, A - 8010 Graz

Vorstand: Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Rudolf Stollberger

Betreuer (JR): Dipl.-Ing. Dr. techn. Martin Hajnsek

Begutachter (TUG): Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr. techn. Hermann Scharfetter

Graz, April 2015

# EIDESSTATTLICHE ERKÄRUNG

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst, andere als die angegebenen Quellen/Hilfsmittel nicht benutzt, und die den benutzten Quellen wörtlich und inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe. Das in TUGRAZonline hochgeladene Textdokument ist mit der vorliegenden Masterarbeit identisch.

Graz am, .....

.....  
(Unterschrift)

Für meine Großmutter Anna Kandlhofer

# Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand während meiner Tätigkeit als Diplomandin beim Institut HEALTH der Joanneum Research Forschungsgesellschaft mbH in Kooperation mit dem Institut für Medizintechnik an der Technischen Universität Graz. Im Rahmen dieser Tätigkeit hatte ich die Möglichkeit, in einem angenehmen Arbeitsumfeld Einblicke in den spannenden Bereich der praktischen Biomedizintechnik zu erhalten.

Insbesondere danke ich, Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr. techn. Hermann Scharfetter von der Technischen Universität Graz für seine hilfreiche Anregung und seine konstruktive Kritik bei der Fertigstellung meiner Arbeit. Ein weiterer Dank geht an Dipl.-Ing. Dr. techn. Martin Hajsek von Joanneum Research, der mir die Möglichkeit zu dieser Arbeit gab, sie durch Anreize und Diskussionen förderte und mich in jeglicher Art und Weise unterstützte. Weiters danke ich Mag.<sup>a</sup> pharm. Dr.<sup>in</sup> Bruna Pecek von Joanneum Research für ihr unerschöpfliches Engagement und ihre wertvollen Ratschläge aus äußerst angenehmen Gesprächen. Zudem bin ich DI Markus Rumpler von Joanneum Research dankbar, für seine Hilfsbereitschaft und seiner unermüdlicher Diskussionsbereitschaft. Außerdem bedanke ich mich bei allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnenn von Joanneum Research für offenes Arbeitsklima sowie freundschaftliche Zusammenarbeit.

Darüber hinaus möchte ich meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, für die Unterstützung während meiner gesamten Ausbildung danken. Zusätzlich zum finanziellen Beitrag haben sie mich während den schwierigen Zeiten meines Studiums in meinem Tun gestärkt. Zudem danke ich allen meinen Freunden für deren Unterstützung.

# Zusammenfassung

Niedrige Geburtenrate und steigende Lebenserwartungen führen in den Industrieländern zu einer Verschiebung der Altersstruktur. Durch die *Alterung der Bevölkerung* kommt es zu einem demographischen Wandel, welcher die Gesellschaft vor neue Herausforderungen stellt. Die Auswirkungen der Überalterung betreffen z. B. Altersvorsorge, Arbeitswelt, Wirtschaft und Gesundheitswesen.

Das Gesundheitswesen muss sich auf die Alterung der Bevölkerung, und der damit verbundenen Anhäufung altersbedingter Erkrankungen, einstellen. Besonders ernstzunehmend sind die chronische Niereninsuffizienz (engl. *chronic kidney insufficiency*, CKI) und die chronische Herzinsuffizienz (engl. *chronic heart failure*, CHF). Bei beiden Erkrankungen ist es lebensnotwendig die Kalium-Konzentration im Serum zu überwachen.

K<sup>+</sup>-sensitive Elektroden sowie potentiometrische Kaliumanalytik sind gut erforschte Gebiete in der Elektrochemie. Dennoch ist ihr Aufbau, was die Zusammensetzung der ionenselektiven Membran betrifft, sehr variabel und muss dem jeweiligen Einsatzgebiet angepasst werden. Zurzeit erfolgt die Messung von Kalium z. B. mit Blutgasanalysegeräten in Krankenhäusern oder Laboratorien. Der/die PatientIn<sup>1</sup> muss zumindest *einen* Arztbesuch tätigen um Information über seinen K<sup>+</sup>-Spiegel zu erhalten.

Die Entwicklung eines single-use-Teststreifens für Kalium soll es dem Patienten ermöglichen, seinen K<sup>+</sup>-Spiegel zu Hause zu überwachen. Dies würde nicht nur die Lebensqualität der Patienten steigern, sondern auch die Kosten für das Gesundheitswesen reduzieren.

Ziel dieser Arbeit war es, eine K<sup>+</sup>-sensitive Elektrode zu entwickeln, mit deren Hilfe die K<sup>+</sup>-Konzentration aus einem Blutstropfen der Fingerkuppe mittels potentiometrischer Analyse bestimmt werden kann.

**Schlüsselwörter:** Ionenselektive Elektrode, Kalium, Potentiometrie

---

<sup>1</sup>Wegen der besseren Lesbarkeit wird im weiteren Text zum Teil auf die gleichzeitige Verwendung weiblicher und männlicher Personenbegriffe verzichtet. Gemeint und angesprochen sind – sofern zutreffend – immer beide Geschlechter.

## Abstract

Low birth rates and rising life expectancy lead to an adjustment of the age distribution in industrialised countries. The aging of the population induces a demographic modification which brings new challenges to society. The impact of the excess of age concerns retirement arrangements, working environment, economy and health care.

Health care needs to adjust to the aging of the population and the involved increase of age-related diseases, like chronic kidney insufficiency (CKI) and chronic heart failure (CHF). It is essential for both diseases to monitor the concentration of potassium in the serum.

Potassium-sensitive electrodes as well as potentiometric analytics methods to detect potassium are highly investigated domains in electrochemistry. Nevertheless the composition of the ionselective membranes is very variable and has to be adjusted to specific application (medical). Currently the measurement of potassium is realized by e.g. bloodgas analyzers or hospital central labs. The patients must at least visit the doctor once to receive information about their potassium level. The development of a single-use-diagnostic test strip for potassium would make it possible for the patients to monitor their potassium level at home. This development could increase the quality of the patient's life and reduce the costs for health care.

The aim of this work was to develop a potassium-sensitive electrode which is able to measure the potassium concentration by potentiometric analysis in one drop of blood from the finger.

**keywords:** ion-selective electrode, potassium, potentiometry

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>v</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Indikation	1
1.2 Pathophysiologie der Herzinsuffizienz	3
1.3 Renin-Angiotensin-Aldosteron-System	3
1.4 Pathophysiologie der Niereninsuffizienz	4
1.5 $K^+$ und die Korrelation zwischen Herz- und Niereninsuffizienz	5
1.6 Elektrochemische Grundlagen	6
1.6.1 Elektrochemische Zelle	6
1.6.2 Elektroden in der Potentiometrie	7
1.6.2.1 Arbeitselektrode	7
1.6.2.2 Bezugs- und Referenzelektrode	8
1.6.3 Potentiostat	8
1.6.4 Grundlagen der Potentiometrie	9
1.6.5 Analytische Validierungsparameter [ICH-Guidelines]	11
1.7 Ionenselektive Elektrode (ISE)	13
1.7.1 Historische Entwicklung	13
1.7.2 Bestandteile der $K^+$ -ionensensitiven Membran	14
1.7.2.1 Polymer	14
1.7.2.2 Leitsalz	15
1.7.2.3 Weichmacher	15
1.7.2.4 Ionophor	15
<b>2 Material und Methoden</b>	<b>17</b>
2.1 Chemikalien	17
2.1.1 Membran	17
2.1.2 Sensor	17
2.1.3 Lösungen	18

2.2	Geräte und Apparaturen . . . . .	18
2.2.1	Membran . . . . .	18
2.2.2	Sensor . . . . .	18
2.2.3	Lösungen . . . . .	18
2.2.4	<i>Dispensierung der Membran</i> . . . . .	19
2.2.5	Apparativer Aufbau . . . . .	19
2.3	Herstellung der Sensoren und Lösungen . . . . .	20
2.3.1	Herstellung des $K^+$ -Sensors . . . . .	20
2.3.2	Herstellung der $K^+$ -selektiven Membran . . . . .	23
2.3.3	Dispensierung der Membran . . . . .	24
2.3.4	Herstellung der $KCl$ -, $KNO_3$ - und $NaNO_3$ -Lösungen . . . . .	24
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>26</b>
3.1	Auswahl der geeigneten $K^+$ -sensitiven Membran . . . . .	26
3.2	Optimierung der $K^+$ -sensitiven Membran . . . . .	31
3.3	Einfluss von THF . . . . .	33
3.4	Selektivitätstests . . . . .	35
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>44</b>
4.1	$K^+$ -sensitiver potentiometrischer Sensor: Relevanz und Problematik . . . . .	44
4.2	Auswahl der Membranbestandteile für die $K^+$ -ionensensitive Elektrode . . . . .	46
4.3	Optimierung der $K^+$ -sensitiven Membran . . . . .	47
4.4	Einfluss THF . . . . .	47
4.5	Selektivitätstests . . . . .	47
	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>55</b>
	<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>56</b>



# Abkürzungsverzeichnis

Ag/AgCl	Silber/Silberchlorid
CHF	Chronic Heart Failure
CKI	Chronic Kidney Insufficieny
CV	Coeffizient of Variation
DOA	Bis(2-ethylhexyl)adipate
DOS	Bis(2-ethylhexyl)sebacate
GFR	Globuläre Filtrationsrate
ICH	International Conference of Harmonisation
ISE	Ionenselektive Elektrode
IUPAC	International Union of Pure Applied Chemistry
KCl	Kaliumchlorid
KNO <sub>3</sub>	Kaliumnitrat
KTFPB	Potassium tetrakis[3,5 bis(trifluoromethyl)phenyl]borate
KTpClPB	Potassium tetrakis(4-chlorophenyl)borate
LOD	Limit Of Detection
NaNO <sub>3</sub>	Natriumnitrat
NET	Nierenersatztherapie
NPOE	Nitrophenyl Octyl Ether
PVC	Poly(vinyl chloride)
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
SDE	Siebdruckelektrode
SSM	Separate Solution-Methode
TEHP	Tris(ethylhexyl)phosphate
THF	Tetrahydrofuron
ZnCl <sub>2</sub>	Zinkchlorid

# 1 Einleitung

Kalium ( $K^+$ ) ist einer der bedeutendsten Mineralstoffe des menschlichen Körpers. Es ist maßgeblich für den Elektrolythaushalt und spielt eine zentrale Rolle in der Aufrechterhaltung des zellulären Ruhepotentials. Der  $K^+$ -Haushalt wird im gesunden Körper von der Niere geregelt. Auf Schwankungen des  $K^+$ -Spiegels reagiert besonders das Herz. Zur Vermeidung von Rhythmusstörungen wird der  $K^+$ -Spiegel vom Körper im Normalbereich (3,5 mmol/l - 5,5 mmol/l) gehalten. Eine Überwachung des  $K^+$ -Spiegels ist vor allem beim Einsatz bestimmter Medikamente (z.B. Diuretika) erforderlich, aber auch bei Erkrankungen der Niere [1].

## 1.1 Indikation

Demographische Daten für Österreich zeigen einen kontinuierlichen Anstieg der allgemeinen Lebenserwartung sowohl bei Männern als auch bei Frauen. Aus diesem Grund wird eine Zunahme der älteren Bevölkerung prognostiziert. Der größte Zuwachs wird in der Gruppe der *betagten und hochbetagten Personen* (80 und mehr Jahre) vorhergesehen. Ausgehend von 2011 sind die zu erwartenden Zahlen für 2015, 2020 und 2030: +4%, +19% und +54%. Bis 2060 soll sich die Gruppe der *betagten und hochbetagten Personen* verdoppeln (s. Abbildung 1). Diese Entwicklung spiegelt den globalen Trend wider [2, 3, 4].

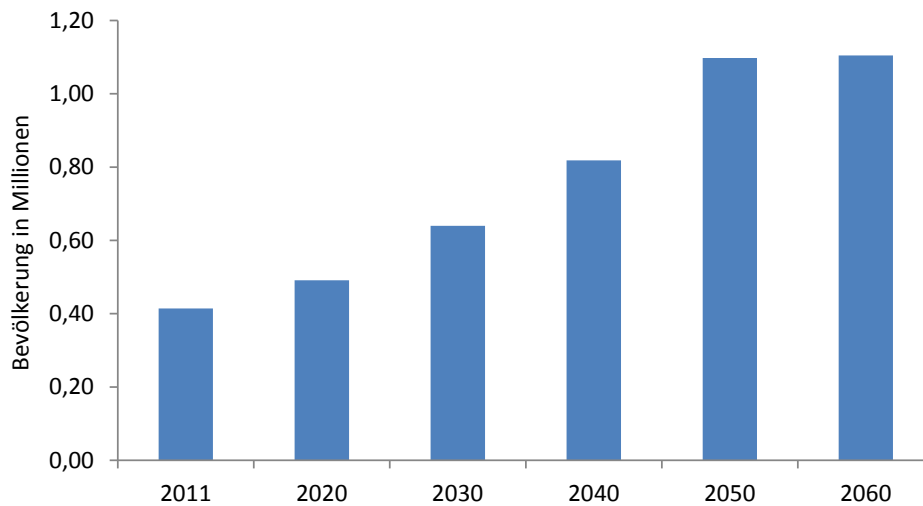


Abbildung 1: Bevölkerungsentwicklung der *betagten und hochbetagten Personen* (ab 80 Jahren) in Österreich zwischen 2011 und 2060 [3].

Daraus ergibt sich ein Anhäufung altersbedingter Erkrankungen. Besonders ernstzunehmend sind die chronische Niereninsuffizienz (engl. *chronic kidney insufficiency*, CKI) und die chronische Herzinsuffizienz (engl. *chronic heart failure*, CHF). Österreichweit leiden ungefähr 160.000 Betroffene an CHF. Die Framingham-Herz-Studie [5] konnte unter anderem eine Korrelation zwischen CHF und Alter nachweisen. Ausmaß und Anzahl der CHF nehmen ab dem 85. Lebensjahr stark zu. Die Erkrankungshäufigkeit bei den über 85-Jährigen liegt bei 50-80% [6, 7].

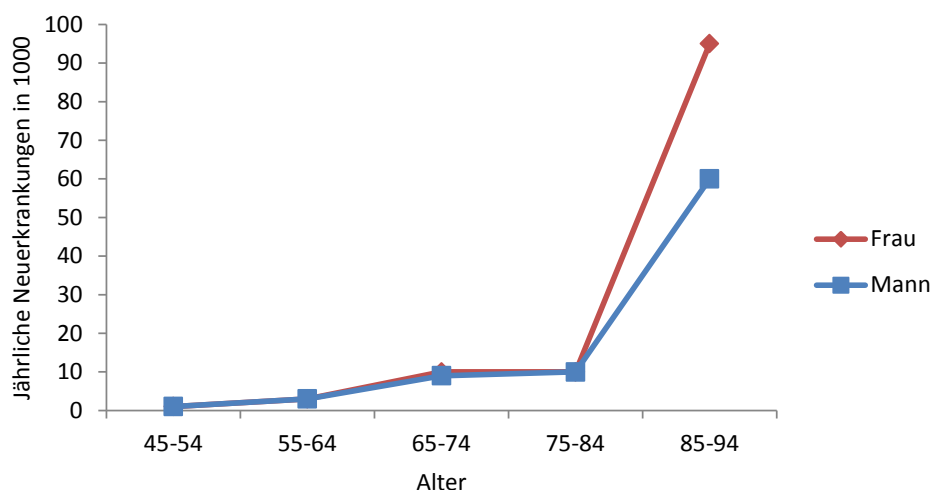


Abbildung 2: Jährliche Neuerkrankungen an Herzinsuffizienz in Abhängigkeit vom Alter. Im hohen Alter sind mehr Frauen als Männer von CHF betroffen. Dafür gibt es zwei Gründe: Erstens ist die durchschnittliche Lebenserwartung bei Frauen höher als bei Männern und zweitens erkranken sie häufiger an CHF [7].

## 1.2 Pathophysiologie der Herzinsuffizienz

Herzinsuffizienz ist der medizinische Fachausdruck für das Pumpversagen des Herzens. Je nach Entwicklung der Herzinsuffizienz wird zwischen akuter und chronischer HI unterschieden. Eine akute Herzinsuffizienz kann sich bei bleibenden Schäden zu einer CHF entwickeln.

Es gibt zwei Komponenten, von denen meistens beide an einer CHF beteiligt sind. Die erste Komponente ist das *Vorwärtsversagen (Linksherzinsuffizienz)*, wobei das von der linken Herzkammer ausgestoßene Herzzeitvolumen sinkt. Die zweite Komponente ist das *Rückwärtsversagen (Rechtsherzinsuffizienz)*, hier staut sich das venöse Blut in die Körpervenen zurück. Durch den Rückstau des Blutes erhöht sich der Druck in den Lungenvenen, die Flüssigkeit wird aus den Gefäßen gepresst und es kann sich ein Lungenödem bilden. Ursachen der Herzinsuffizienz können zum Beispiel eine Rhythmusstörung, eine koronare Herzkrankheit (KHK) oder ein diffuser Herzmuskelschaden sein. Um der Pumpschwäche entgegenzuwirken, gibt es unterschiedliche Kompensationsmöglichkeiten. Zum Beispiel ist das Herz in der Lage, gleichzeitig Kontraktilität und Schlagfrequenz zu erhöhen. Eine weitere Möglichkeit ist die Größenzunahme des Herzens, wodurch bei gleicher Kontraktilität ein größeres Herzzeitvolumen erreicht wird. Die dritte Variante ist die Erhöhung der Blutspiegel von Renin und Angiotensin, um einen ausreichend hohen Blutdruck zu erhalten. Beide sind Regulatoren des Elektrolythaushaltes im menschlichen Körper [1, 8].

## 1.3 Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) ist für die Regulation des Flüssigkeits- und Elektrolythaushalts verantwortlich. Bei akutem Blutdruckabfall, niedrigem Blutdruck oder Salzverlust wird von der Niere das Hormon Renin freigesetzt. Renin aktiviert die RAAS-Kaskade, bei welcher nach einer enzymatischen Umwandlung die Hormone Aldosteron, Adiuretin und Angiotensin II wirken.

Aldosteron ist ein entscheidender Regulator des Elektrolythaushalts, vor allem für den  $K^+$ -Haushalt. Adiuretin wirkt zusätzlich wie Aldosteron auf die Wasser-Rückresorption des Körpers. Angiotensin II bewirkt eine Konstriktion der peripheren Blutgefäße um dem niedrigen Blutdruck entgegen zu wirken und senkt die globuläre Filtrationsrate (GFR).

Die GFR ist ein Maß für das filtrierte Flüssigkeitsvolumen pro Zeiteinheit beider Nieren. Bei einem Menschen mit normalen Blutdruckwerten liegt der GFR bei ca. 170 Liter pro Tag. Bei einer Untersuchung von Patienten mit Herzinsuffizienz konnte festgestellt werden, dass 80% eine verminderte GFR besaßen, was zu einem Nierenversagen führen kann [9, 1, 8].

## 1.4 Pathophysiologie der Niereninsuffizienz

Die CKI ist eine weitverbreitete Krankheit, die im Gesundheitswesen immer mehr Aufmerksamkeit erfährt. Sie ist häufig mit hohem Alter, Diabetes mellitus, Hypertonie, Adipositas sowie Herzinsuffizienz verbunden. Die Neuerkrankungen und die Gesamtheit aller Erkrankten variieren aufgrund vieler unterschiedlicher Primärerkrankungen sowie starker Kreuzmedikation sehr stark [10]. In Österreich werden die Daten von Patienten mit CKI in einem österreichischen Dialyse- und Transplantationsregister gesammelt. Durch diese Aufzeichnungen konnte gezeigt werden, dass 2004 die Prävalenz bei Patienten mit Nierenersatztherapie (NET = Hämo- lyse, Peritonealdialyse, Transplantation) bei 853 pro Million Einwohner lag und die Neuerkrankung bei 157 pro Million, mit steigender Tendenz [11].

Durch das RAAS hängen Herz- und Niereninsuffizienz stark voneinander ab. Sinkt die Funktionsleistung eines dieser beiden Organe, schränkt sie automatisch die Funktion des anderen Organsystems ein. Verschlechtert sich die Nierenfunktion, verdeutlicht sich die Prognose einer Herzinsuffizienz. Tatsache ist, dass annähernd jeder zweite Dialysepatient mit Herzinsuffizienz nach einem Jahr verstirbt [9, 12].

Sowohl bei einer CHF also auch bei einer CKI muss der Elektrolythaushalt des Patienten überwacht werden. Patienten mit CHF werden häufig harntreibende Diuretika verschrieben, die den Wasseransammlungen im Gewebe entgegen wirken sollen. Nachteil dieser Therapie ist eine massive Beeinträchtigung des Elektrolythaushalts des Patienten. Die Überwachung des Flüssigkeitshaushalts ist auch bei der CKI notwendig, da eine Veränderung eventuell einen Hinweis auf eine Nierenbeeinträchtigung geben kann.

## 1.5 $K^+$ und die Korrelation zwischen Herz- und Niereninsuffizienz

Die Überwachung des Elektrolythaushalts ist für Patienten mit CHF und/oder CKI substantiell, da hiermit eine Nierenbeeinträchtigung nachgewiesen werden kann, welche häufig für die Entstehung von Herzrhythmusstörungen verantwortlich ist. Vor allem  $K^+$  ist bedeutend für die Ausbildung von elektrischen Impulsen und der Reizweiterleitung in Herzmuskelzellen.

$K^+$  ist innerhalb der Zelle (intrazellulär) und außerhalb der Zelle (extrazellulär) nicht gleich verteilt. Extrazellulär ist die  $K^+$ -Konzentration 30mal niedriger als intrazellulär (5 vs. 155 mmol/l). Da  $K^+$  intra- als auch extrazellulär vorliegt, verwendet man verschiedene Elektrodenbauformen zu dessen Quantifizierung. Für Messungen in intrazellulären Flüssigkeiten, also in Erythrozyten, muss mit Mikro-Elektroden gearbeitet werden. Sie besitzen einen Spitzendurchmesser von nur  $1\mu m$ , um die Zellmembran nicht zu stark zu beschädigen. Messungen in extrazellulären Flüssigkeiten lassen sich in zwei Fälle unterteilen: *In vitro*- und *in vivo*-Messungen, wobei in dieser Arbeit nur ein Augenmerk auf *in vitro*-Messungen gelegt wird.

Dieses Ungleichgewicht zwischen intra- und extrazellulär Raum spielt eine zentrale Rolle bei der Entstehung des Ruhepotentials, welches wiederum Voraussetzung für das Aktionspotential ist. Das Ruhepotential ist die Potentialdifferenz zwischen Intra- und Extrazellulärraum und liegt bei den meisten Zellen bei ca. -70 mV. Trifft ein Reiz auf eine Zelle, wird sie erregt und das Ruhepotential verändert sich. Grund dafür ist ein Anstieg der  $Na^+$ -Leitfähigkeit der Membran, womit sich das Ruhepotential zu positiveren Werten verschiebt (Depolarisation). Wenn die Veränderung des Potentials das Schwellenpotential erreicht, kommt es zu einem Aktionspotential. Das Aktionspotential ist die kleinste Informationseinheit der Nerven- und Muskelzellen und kann erst auf ein Ruhepotential folgen. Die Repolarisation sorgt für die Rückkehr zum ursprünglichen Ruhepotential. Bei der Repolarisation kommt es zu einem Anstieg der  $K^+$ -Leitfähigkeit der Membran. Erst nach Wiederherstellung des Ruhepotentials kann neues Aktionspotential ausgelöst werden [1].

Die  $K^+$ -Konzentration ist essentiell für das Ruhepotential und somit auch für das le-

bensnotwendige Aktionspotential. Liegt der  $K^+$ -Spiegel nicht im Normalbereich, kann es zu gesundheitlichen Komplikationen kommen.

Kaliummangel ( $< 3,5$  mmol/l) bzw. Hypokaliämie: Kaliummangel ist eine klassische Nebenwirkung in der Therapie mit harntreibenden Medikamenten (Diuretika). Diese Medikamente schwemmen sehr viel  $K^+$  mit dem Urin aus. Ein so entstandener Kaliummangel verursacht lebensgefährliche Herzrhythmusstörungen [8]. Wester et al. [13] führten an 297 mit Diuretika behandelten CHF-Patienten eine Studie durch, in welcher sie deren Elektrolythaushalt überwachten. 42% der Patienten litten an Hypokaliämie, 37% an Hypomagnesiämie (Magnesiummangel) und 12% an Hyponatriämie (Natriummangel).

Kaliumüberschuss ( $> 5,5$  mmol/l) bzw. Hyperkaliämie: Ein Kaliumüberschuss ist eine klassische Komplikation bei Nierenversagen aufgrund der verminderten GFR. Ein erhöhter Kaliumwert kann sogar zu einem Herzstillstand führen [8].

Deswegen ist es sowohl bei CHF als auch bei CKI essentiell, den  $K^+$ -Spiegel zu beobachten [14].

## 1.6 Elektrochemische Grundlagen

Elektrochemische Analysetechniken können nach mehreren Varianten klassifiziert werden [15, 16]. Eine Möglichkeit ist die Einteilung nach den Verfahren mit oder ohne Stromfluss. Bei Verfahren mit Stromfluss wird eine Redoxreaktion erzeugt, wodurch es zu einem Stoffumsatz kommt (z.B. Amperometrie).

Bei Verfahren ohne Stromfluss findet die Messung nahezu stromlos statt. Daher findet kein Stoffumsatz statt (z.B. Potentiometrie).

### 1.6.1 Elektrochemische Zelle

In einer elektrochemischen Zelle werden Reaktionsdynamik sowie Reaktionsprozesse untersucht, die den Transport von Ladungen an einer Grenzschicht beeinflussen. Eine solche Grenzschicht entsteht zum Beispiel zwischen einem elektrischen Leiter (Elektrode) und einem ionischen Leiter (Elektrolyt). Die Übertragung von Ladungen findet in einer Elek-

trode durch Elektronen statt, in einem Elektrolyten durch Ionen.

Taucht eine Elektrode in einen Elektrolyten, bildet sie eine Halbzelle. Die Kombination zweier Halbzellen ergibt eine elektrochemische Zelle. Anders ausgedrückt besteht ein elektrochemisches Element aus mindestens zwei Elektroden, die in eine Elektrolytlösung eintauchen.

In Zusammenhang mit der elektrochemischen Zelle wird jene Elektrode, an der eine Reduktion (Abgabe von Elektronen an den Elektrolyt) stattfindet, als Kathode bezeichnet. Eine Anode ist jene Elektrode, bei der eine Oxidation (Aufnahme von Elektronen vom Elektrolyt) stattfindet.

## 1.6.2 Elektroden in der Potentiometrie

**1.6.2.1 Arbeitselektrode** Eine ideale Arbeitselektrode ist inert, d.h. sie ist an der chemischen Reaktion nicht beteiligt, jedoch können an ihrer Oberfläche elektrochemische Reaktionen ablaufen. Zusätzlich sollte die Arbeitselektrode schnell und auf Änderungen der Konzentration der Probenlösung reagieren. In der Potentiometrie werden unterschiedliche Membranelektroden als Arbeitselektroden verwendet, die wegen ihrer hohen Selektivität auch als ionenselektive Elektroden (engl. *ion selective electrodes*, ISE) bezeichnet werden [15].

Da keine Spannung bei der Messung angelegt wird ist das System nahezu stromlos. Deswegen ist die Membranelektrode auch annähernd unpolarisiert, und es entsteht ein Grenzschichtpotential [17, 18]. Die Membranelektroden können in folgende Gruppen eingeteilt werden:

### *Glasmembranelektrode*

Glasmembran-Elektroden können zur quantitativen Bestimmung von Kationen eingesetzt werden. Dabei ist die Glaszusammensetzung verantwortlich für die Selektivität der Ionen. Die bekannteste Untersuchungsmethode der Potentiometrie, unter Verwendung einer Glasmembran-Elektrode, ist die Messung des pH-Werts [19, 20].



### *Festkörpermembranelektrode*

Elektroden mit Festkörpermembran werden aus ionischen Verbindungen hergestellt. Dabei kann die Membran entweder aus Kristallen (z.B. LaF<sub>3</sub>) oder aus gepressten Pellets (z.B. AgS) schwerlöslicher Salze sein. Die geläufigste Festkörpermembranelektrode ist die Lambda-Sonde, die in die Kategorie der Chemosensoren fällt [19, 20].

### *Flüssigmembranelektrode*

Die Flüssigmembranelektrode verwendet eine hydrophobe PVC-Membran mit zugesetzten ionenbindenden Substanzen. Die sogenannten Ionophore bilden selektiv mit einem bestimmten Ion einen Komplex und erlauben dadurch spezifische Analysen auch in komplexer Matrix [20, 19, 21].

Alle drei erwähnten Elektroden sind ionenselektive Elektroden. Die Membran einer ISE ist die ausschlaggebende Komponente eines potentiometrischen Sensors. Die Herausforderung besteht darin, die Grenzfläche zur Probenlösung so zu gestalten, dass eine selektive Wechselwirkung mit einem bestimmten Analyten stattfinden kann.

**1.6.2.2 Bezugs- und Referenzelektrode** Eine standardisierte Referenzelektrode besitzt ein stabiles und bekanntes Potential. Die Bestimmung von Standardpotentialen erfolgt im Bezug zur Standardwasserstoffelektrode. Durch internationale Vereinbarungen wurde ihr das genaue Standardpotential von 0V bei allen Temperaturen zugewiesen. Da sie jedoch schwierig herzustellen und sehr unhandlich in der Anwendung ist, wird sie selten für Routinemessungen verwendet.

Silber/Silberchloridelektrode (Ag/AgCl) und die Kalomelektrode werden am häufigsten als Referenzelektroden eingesetzt [15].

### **1.6.3 Potentiostat**

Der Potentiostat ist ein elektronisches Gerät, welches an den Messungen in der Elektrochemie beteiligt ist. Bei den elektroanalytischen Messungen wird entweder ein Zweielektrodensystem oder ein Dreielektrodensystem verwendet.

**Zweielektrodensystem** Das Zweielektrodensystem entspricht dem einfachsten Aufbau einer elektrochemischen Zelle. Bei der potentiometrischen Bestimmung von  $K^+$  besteht das System nur aus einer Arbeitselektrode und einer Referenzelektrode. Es wird die Spannungsdifferenz stromlos zwischen diesen Elektroden aufgezeichnet. Dabei wird die Potentialdifferenz zwischen zwei Elektroden gemessen. Anwendung findet das Zweielektrodensystem bei jenen Experimenten, wo zu erwarten ist, dass das Potential der Referenzelektrode nicht driftet [22, 16].

**Dreielektrodensystem** Bei einer elektroanalytischen Technik, bei der ein Strom durch die Messzelle fließt (z.B. Amperometrie), wird ein Dreielektrodensystem bevorzugt (s. Abbildung 3). Das System besteht aus Arbeits-, Referenz- und Gegenelektrode. An der polarisierbaren Arbeitselektrode wird eine Spannung angelegt. Die Referenzelektrode dient zur Einstellung und Aufrechterhaltung des Arbeitspotentials. Um dies zu gewährleisten, wird der Strom über eine Gegenelektrode zugeführt. Da der Elektrolyt wie ein Ohm'scher Widerstand wirkt, würde ein Strom über die Referenzelektrode einen Spannungsabfall hervorrufen und ihr Arbeitspotential verändern. Damit das Potential der Referenzelektrode konstant gehalten werden kann, muss diese stromlos betrieben werden.

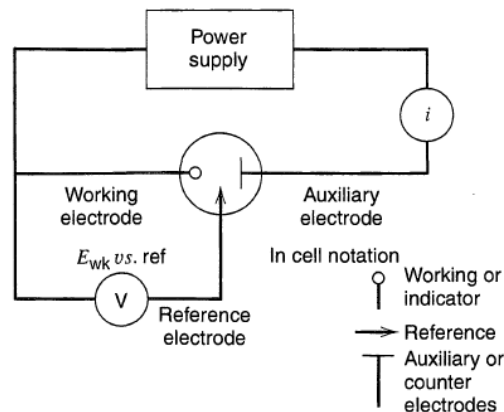


Abbildung 3: Dreielektrodensystem inklusive der Notation der einzelnen Elektroden.

#### 1.6.4 Grundlagen der Potentiometrie

ISE werden in der Regel potentiometrisch betrieben. Die Potentiometrie ist ein elektrochemisches Verfahren, mit dem die elektrische Spannungsdifferenz zwischen einer Arbeitselektrode und einer Referenzelektrode gemessen wird. Eine schematische potentiometri-

sche Messanordnung ist in Abbildung 4 dargestellt. Sie besteht aus einer Arbeits- und einer Referenzelektrode, welche in eine Messlösung eintauchen und miteinander durch ein Messinstrument verbunden sind.

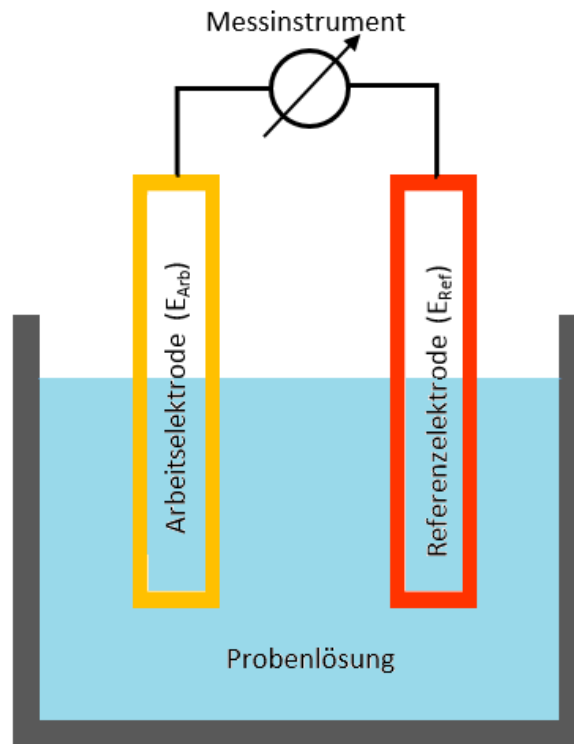


Abbildung 4: Schematische potentiometrische Messanordnung.



Das gemessene Potential der Zelle ( $E_{Zelle}$ ) ist die Potentialsdifferenz der Elektroden und setzt sich wie folgt zusammen:

$$E_{Zelle} = E_{Arb} - E_{Ref} \quad (2)$$

Das Potential der Referenzelektrode ( $E_{Ref}$ ) ist bekannt und bleibt unabhängig von der Konzentration des Analyten konstant. An der Arbeitslektrode bildet sich ein Gleichgewichtspotential ( $E_{Arb}$ ) aus, das mit der Konzentration des Analyten in der Probenlösung korreliert. Die Beziehung zwischen dem gemessenen Potential und der Konzentration der Analyten wird durch die Nernst-Gleichung wiedergegeben:

$$E_{Zelle} = E_{Zelle}^{\theta} + \frac{RT}{zF} \ln a_z \quad (3)$$

bzw.

$$E_{Zelle} = E_{Zelle}^{\theta} + 2,303 * \frac{RT}{zF} \lg a_z \quad (4)$$

mit:

$E_{Zelle}$	Elektrodenpotential [V]	$z$	Ladung des Ions
$E_{Zelle}^{\theta}$	Standardelektrodenpotential [V]	$F$	Faraday-Konstante $9,649 * 10^4$ [C/mol]
$R$	Allgemeine Gaskonstante 8,3154 [J/(K mol)]	$a_z$	Aktivität des Ions
$T$	Absolute Temperatur [K]		

Die Nernst-Gleichung beschreibt die Abhängigkeit des Elektrodenpotentials von der Ionenaktivität. Das elektrische Signal ist direkt proportional zum Logarithmus der zu untersuchenden Aktivität. Die Ionenaktivität ist das Produkt aus Konzentration und matrixabhängigem Aktivitätskoeffizienten. Aus Gründen der Vereinfachung wird der Aktivitätskoeffizient bei stark verdünnten Lösungen zumeist mit einem Wert von 1 angenommen, sodass die molare Konzentration gleich der Aktivität ist [17, 15].

### 1.6.5 Analytische Validierungsparameter [ICH-Guidelines]

**Arbeitsbereich** Der Arbeitsbereich ist jener Bereich zwischen der niedrigsten und der höchsten messbaren Konzentration, in welchem zuverlässige und standardisierte Ergebnisse zu erwarten sind. Er ist von der elektrochemischen Stabilität des Analyten und dem Elektrodenmaterial abhängig.

**Sensitivität** Die Steilheit (engl. *slope*) im Arbeitsbereich der Kalibriergeraden gibt Auskunft über die Sensitivität einer Methode und wird in der Nernst-Gleichung durch den Term  $2,303 * \frac{RT}{zF}$  wiedergegeben. Der theoretisch optimale Wert für die Steilheit bei der Messung einwertiger Kationen in potentiometrischer Betrachtung, bei einer Temperatur von 25°C, liegt laut Nernst-Gleichung bei 59,16 [mV/Dekade]. Dies bedeutet, dass bei

einer Änderung der Ionenaktivität um den Faktor 10 das Messsignal sich für einwertige Kationen um 59,16 [mV] ändert.

**Selektivität** Die Selektivität ist eines der wichtigsten Charakteristika einer Elektrode, da sie für die Zuverlässigkeit der Messung ausschlaggebend ist. Unter der Selektivität wird die Unempfindlichkeit des Elektrodenpotentials auf ein Störion, verstanden. Sie wird durch den Selektivitätskoeffizienten  $K_{A,B}^{pot}$  wiedergegeben (s. Gleichung 5), der durch die Nicolsky-Eisenman-Gleichung ausgedrückt wird:

$$E = E_0 + \frac{RT}{z_A F} \ln \left[ a_A + \sum_B K_{A,B}^{pot} (a_B)^{\frac{z_A}{z_B}} \right] \quad (5)$$

mit:

$K_{A,B}^{pot}$	Selektivitätskoeffizient mit Primärion, A, und Störion, B	$z_A, z_B$	Ladung des Primärions, A, und des Störions, B
$E$	gemessenes Elektrodenpotential [V]	$E_0$	Standardelektrodenpotential [V]
$R$	Allgemeine Gaskonstante 8,3154 [J/(K mol)]	$a_A, a_B$	Aktivität des Primärions, A, und des Störions, B
$T$	Absolute Temperatur [K]	$F$	Faraday Konstante $9,649 \cdot 10^4$ [C/mol]

In dieser Arbeit wurde der Selektivitätskoeffizient mit der Separated Solution-Methode (SSM) [23] berechnet. Bei dieser Methode werden Analyt und Störion in getrennten Lösungen unabhängig von Konkurrenzreaktionen vermessen. Aus der Spannungsdifferenz der bestimmten Kalibration von Analyt und Fremdion ergibt sich durch Umformen der Gleichung 5 für  $a_A = a_B$  der Kalibrationskoeffizient wie folgt:

$$\log K_{A,B}^{pot} = \frac{(E_B - E_A)}{2,303 \cdot \frac{RT}{z_A F}} + \left(1 - \frac{z_A}{z_B}\right) \log a_A \quad (6)$$

Mit  $K^+$  als Analyt mit einer Ionenladung von  $z_A = 1$ , und Natrium als Störion mit einer Ionenladung von,  $z_B = 1$ , sowie einer optimalen Steilheit gilt vereinfacht:

$$\log K_{A,B}^{pot} = \frac{(E_B - E_A)}{59,16 [mV]} \quad (7)$$

Ist  $K_{A,B}^{pot} < 1$ , dann spricht man von einer hohen Selektivität. Sollte  $K_{A,B}^{pot} > 1$  sein, wird das System durch Störsubstanzen mit beeinflusst. [23].

**Nachweisgrenze** Die Nachweisgrenze (engl. *limit of detection*, LOD) ist die kleinste messbare Analytkonzentration. Sie kann aus dem Verlauf der Kalibriergeraden berechnet werden. Die Berechnung des LOD-Wertes ist eine Schätzung aus dem Verlauf der Kalibriergeraden und wird nach Gleichung 8 bestimmt, mit  $\sigma$  als Standardabweichung. Nach ICH-Guidlines wird ein Signal-Rausch-Verhältnis von 3 oder 2:1 in der Regel als akzeptabel angesehen.

$$LOD = 3,3 * \frac{\sigma}{Steilheit} \quad (8)$$

**Präzision** Die Präzision beschreibt die Streuung der Messwerte um den Mittelwert und wird auch als relative Standardabweichung (engl. *coefficient of variation*, CV) bezeichnet. Der CV wird durch das Verhältnis der Standardabweichung  $\sigma$  zum Mittelwert  $\bar{x}$  wiedergegeben. Sie ist ein Maß für die Genauigkeit einer analytischen Methode (s. Gleichung 9)

$$CV[\%] = \frac{\sigma}{\bar{x}} \quad (9)$$

**Richtigkeit** Die Richtigkeit gibt Aussagen über die Abweichung des Mittelwerts vom wahren Wert. Die Differenz zwischen wahren Wert und Mittelwert wird als systematische Abweichung (engl. *bias*) bezeichnet und kann durch einen Korrekturfaktor korrigiert werden.

## 1.7 Ionenselektive Elektrode (ISE)

### 1.7.1 Historische Entwicklung

Der Werdegang der ionenselektiven Membran begann 1906, als Cremer die wasserstoffselektive Glasmembranelektrode beschrieb. Bei der Bestimmung des pH-Wertes wird die

Potentialdifferenz über eine Glasmembran gemessen, die eine Lösung mit unbekanntem Säuregehalt räumlich von einer Bezugslösung mit bekanntem Säuregehalt voneinander trennt. In den folgenden Jahren wurden auch Elektroden zur Bestimmung anderer Ionen realisiert. Mitte 1960 wurden einige relevante Ergebnisse zum Thema Potentiometrie und ISE veröffentlicht, sodass diese Zeit als Startpunkt der *modernen Potentiometrie* angesehen werden kann. Dazu gehören die fluorselektive Elektrode sowie die sulfidselektive Elektrode nach Frant und Ross. Bei der fluorselektive Elektrode bestand die Membran aus einem  $\text{LaF}_3$ -Kristall und bei der sulfidselektive Elektrode bestand die Membran aus einem gepressten  $\text{Ag}_2\text{S}$ -Pellet. Kurz darauf beschrieb Ross die erste kalziumselektive Membran, die auf einem flüssigen Ionenaustauscher basiert, welcher wiederum aus einem Kalziumsalz der Dodecylphosphorsäure besteht und in Di-octyl-phenylphosphonat gelöst wurde. Im gleichen Jahr stellten Block et al. die erste auf Ionophoren basierende PVC-Membran-Elektrode vor. Etwa zur gleichen Zeit finden Studien zur Verwendung bestimmter Antibiotika als Ionophore statt. Daraus entwickelten Stefanac und Simon eine Flüssigmembran-Elektrode, basierend auf  $\text{K}^+$ -selektivem Valinomycin als Ionophor und konstruierten die erste  $\text{K}^+$ -selektive Elektrode [24, 25, 26].

### 1.7.2 Bestandteile der $\text{K}^+$ -ionensensitiven Membran

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich ausschließlich mit einer ionenselektiven Flüssigmembran-Elektrode, die auf einer Polymermatrix mit eingebetteter ionenbindender Substanz, dem sogenannten Ionophor, besteht. Danach werden der Weichmacher und ein Leitsalz beigefügt. Diese Komponenten werden im Folgenden kurz erklärt und ihre Notwendigkeit im Hinblick auf  $\text{K}^+$ -ISE beschrieben. In der Literatur werden sie oftmals auch als Polymermembran-Elektroden bezeichnet [24, 27, 25].

**1.7.2.1 Polymer** Polymere sind hochmolekulare Strukturen die als Stützmatrix für ionenselektive Elektroden dienen [21]. Es gibt unterschiedliche Polymere, die als Matrix verwendet werden können. Polyvinylchlorid (PVC) wird am häufigsten verwendet, da die Handhabung einfach ist und es Eigenschaften besitzt [28], die der Membran eine mechanische Stabilität gibt und zugleich die Möglichkeit bietet, durch z.B. Weichmacher aufgelockert zu werden [29]. Der optimale PVC-Gehalt für Flüssigmembran-Elektroden

wird mit ca. 33 Gew% angegeben [30].

**1.7.2.2 Leitsalz** Leitsalze sind für den Ladungstransport in einer Membran verantwortlich und bestehen aus einem großen, anorganischen Anion und einem Alkali- oder Erdalkali-Kation. Der Einsatz von Leitsalzen dient der Erhöhung der Leitfähigkeit der Polymermembran und der Verkürzung der Ansprechzeit. Der Leitsalz-Gehalt für Flüssigmembran-Elektroden ist sehr gering und beträgt ca. 0,5 Gew% [31, 29].

**1.7.2.3 Weichmacher** Weichmacher sind zumeist lipophile Flüssigkeiten. Sie lockern die Aggregation des Polymers auf, indem sie ihre zwischenmolekularen Kräfte schwächen und somit die Beweglichkeit der Membrankomponenten fördern [32]. Zusätzlich werden Eigenschaften der Membran wie z.B. ihre Elastizität und ihre mechanischen Eigenschaften und damit die Lebenszeit des Sensors verbessert [33, 34]. Mit der Polarität des Weichmachers kann man auch die Selektivität der ionenselektiven Membran beeinflussen. Je weniger polar die Membran ist, umso mehr steigt die Selektivität einwertiger Ionen über die der zweiwertigen [31]. Die hauptsächlich verwendeten Weichmacher sind Nitrophenyloctylether (NPOE), Tris(ethylhexyl)phosphate (TEHP), Bis(2-ethylhexyl)adipate (DOA) und Bis(2-ethylhexyl)sebacate (DOS)[33]. Der optimale Weichmacher-Gehalt für Flüssigmembran-Elektroden wird mit ca. 66 Gew% angegeben [30].

**1.7.2.4 Ionophor** Ionophore sind Verbindungen, die mit einem spezifischen Ion einen Komplex bilden. [31, 20, 15]. Die meisten Ionophore für  $K^+$  können in vier Klassen eingeteilt werden: Antibiotika, Mono- sowie Bi-(Kronenether) und Hemispheranden. Im Folgenden wird auf Antibiotika als Ionophore eingegangen.

Wegen ihrer Struktur sind Antibiotika in der Lage, durch Ion-Dipol-Kräfte Kationen in ihre Molekülhohlräume aufzunehmen [24]. Die ersten Antibiotika für  $K^+$  ISE basierten entweder auf Nonactin, Monoactin oder einer Mischung aus homologem Actin. Kurz darauf wurden Arbeiten mit Valinomycin (s. Abbildung 5) veröffentlicht, einem Antibiotikum, das von der Kultur der *Streptomyces fulvissimus* produziert wird [35]. Da es eine schnelle Ansprechzeit und eine sehr gute Selektivität besitzt, wird meistens mit dem natürlich



vorkommenden Valinomycin gearbeitet [36, 37]. Valinomycin hat einen hydrophilen Molekülhohlraum, passend zur Größe des  $K^+$ s. Ein  $K^+$  ist in wässriger Lösung von einer Hydrathülle umgeben und bevorzugt deswegen eine hydrophile Umgebung. Durch Wechselwirkungen mit Valinomycin wird das  $K^+$  durch die Membran geführt und lagert sich im hydrophilen Inneren des Valinomycin ein. Der entstehende Komplex ist nach außen unipolar und kann somit das  $K^+$  durch die lipophile Barriere befördern. Die Selektivität des Valinomycin gegenüber  $K^+$  ist um etwa  $10^4$  mal höher gegenüber Natrium und um etwa  $10^7$  höher als gegen Kalzium und Magnesium [15, 24, 21]. Der Ionophor-Gehalt sollte nach Literaturangaben 1Gew% betragen.

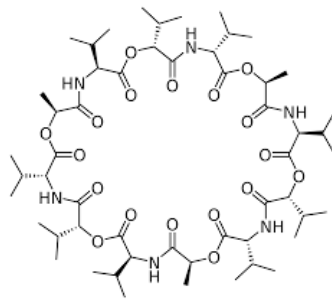


Abbildung 5: Struktur von Valinomycin.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Chemikalien

#### 2.1.1 Membran

Für die Herstellung der Membranen wurden folgende Chemikalien verwendet:

- Potassium Ionophore I (Selectophore<sup>TM</sup>, Fluka)
- Bis(2-ethylhexyl)sebacate (DOS, Selectophore<sup>TM</sup>,  $\geq 97$  Gew%, Fluka)
- Bis(2-ethylhexyl)adipate (DOA, Selectophore<sup>TM</sup>,  $\geq 99$  Gew%, Fluka)
- Potassium tetrakis(4-chlorophenyl)borate (KTpClPB, Selectophore<sup>TM</sup>,  $\geq 98$  Gew%, Fluka)
- Potassium tetrakis[3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl]borate (KTFPB, Selectophore<sup>TM</sup>, Fluka)
- Sodium tetrakis[3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl]borate (NaBaF<sub>24</sub>, Selectophore<sup>TM</sup>, Fluka)
- Polyvinylchloride (PVC, Selectophore<sup>TM</sup>, high molecular weight, Fluka)
- Tetrahydrofuron (THF, anhydrous,  $\geq 99,9$  Gew%, inhibitor-free, Sigma-Aldrich)

#### 2.1.2 Sensor

Für die Herstellung der Sensoren wurden folgende Chemikalien verwendet:

- Silber-/Silberchlorid-Paste Electrodag 6037 SS (Henkel Nederland B.V., Nieuwegein, Niederlande)
- Kohlenstoff-Paste Elektrodag PE-401 ROCHE (Henkel Nederland B.V., Nieuwegein, Niederlande)
- Isolationspaste SD 2462 NB (Lackwerke Peter GmbH + CO. KG, Kempen, Deutschland)

### 2.1.3 Lösungen

Für die Herstellung der Lösungen wurden folgende Chemikalien verwendet:

- Kaliumchloride (KCl, BioReagent,  $\geq 99,0\%$ , Sigma-Aldrich)
- Kaliumnitrat (KNO<sub>3</sub>, ReagentPlus,  $\geq 99,0\%$ , Sigma-Aldrich)
- Natriumchlorid (NaNO<sub>3</sub>, Emsure ACS, ISO, Reag. Ph Eur)
- Zinkchlorid (ZnCl<sub>2</sub>, Emsure ACS, ISO, Reag. Ph Eur)
- Destilliertes Wasser (dest. H<sub>2</sub>O)

## 2.2 Geräte und Apparaturen

### 2.2.1 Membran

Für das Einwägen der Chemikalien wurde eine Analysenwaage (Acculab ALC110.4 lab balance) verwendet.

### 2.2.2 Sensor

Für die Herstellung der Sensoren wurden folgende Geräte verwendet:

- Siebdrucker DEK 248 (DEK Printing Machines GmbH, Bad Vilbel, Deutschland)
- Substratfolie Mylar A (Dr. D. Müller GmbH, Ahlhorn, Deutschland)
- Siebtemplates (Siebtronic GmbH, Salzburg, Österreich)
- Trockenschrank FD53 (Binder GmbH, Tuttlingen, Deutschland)

### 2.2.3 Lösungen

Für das Einwägen der Lösungen wurde eine Analysenwaage (Acculab ALC110.4 lab balance) verwendet.

### 2.2.4 Dispensierung der Membran

Um die Membran auf die Arbeitselektrode aufzutragen, wurden folgende Geräte verwendet:

- Mikrodosiergerät Performus IV (Nordson Deutschland GmbH, Erkrath, Deutschland)
- Kartuschenadapter Barrel O 3CC CL50 (Nordson Deutschland GmbH, Erkrath, Deutschland)
- Dosiernadeln Standard mit Gewinde Rot  $d = 0,25\text{mm}$  (Vieweg GmbH, Kranzberg, Deutschland)
- Mikroskop EMZ-TR (Meiji Techno CO. LTD., Saitawa, Japan)

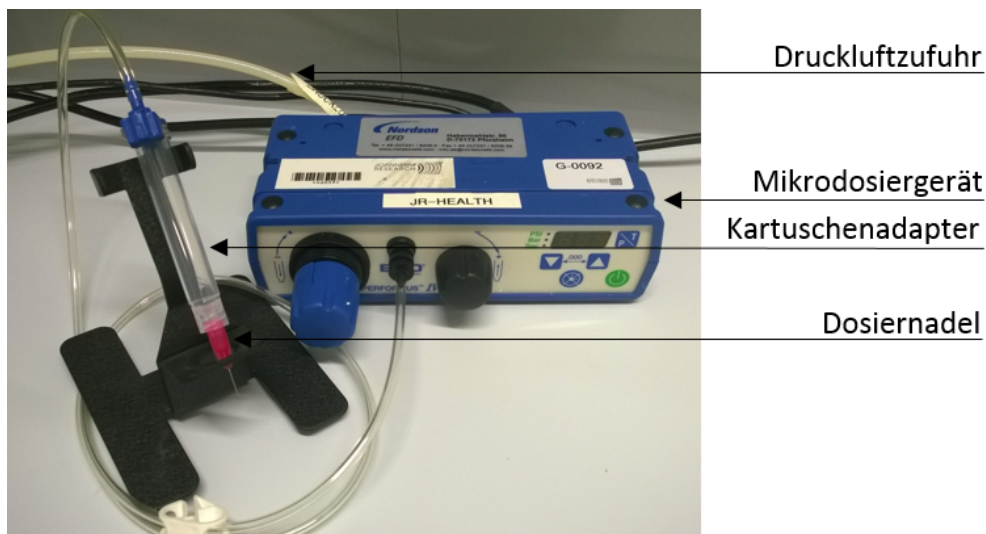


Abbildung 6: Apparativer Aufbau zum Dispensieren der Membranen auf die Arbeitselektrode.

### 2.2.5 Apparativer Aufbau

Folgende Geräte waren am apparativen Aufbau beteiligt:

- Potentiostat Emstat (Palm Instruments BV, Niederlande)
- SDE-Halterung (FC2 modifizierte Flusszelle, BVT Technologies, Brünn, Tschechien)
- Software PStTrace 2.4.2.0 (Palm Instruments BV, Niederlande)

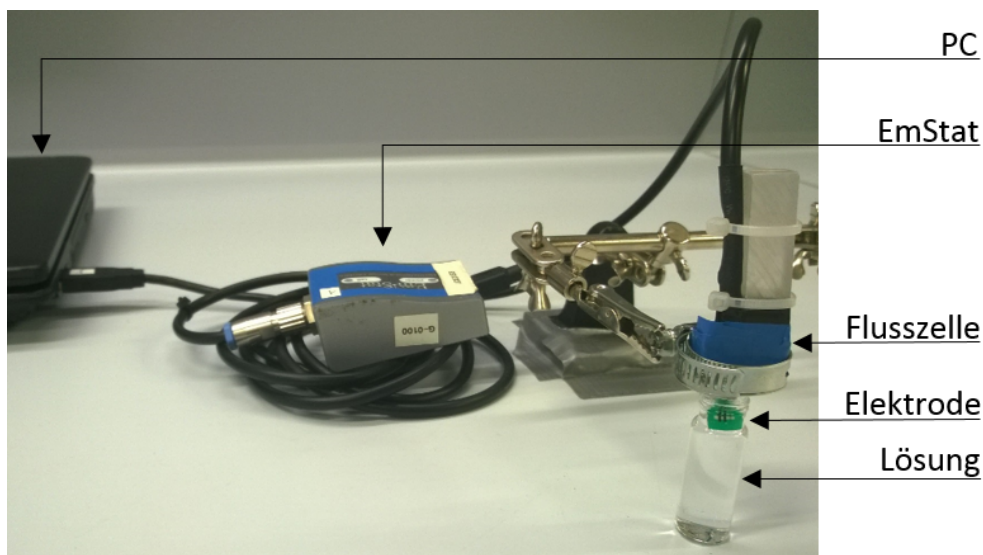


Abbildung 7: Apparativer Aufbau der potentiometrischen Messung. Eine Elektrode taucht in eine Messlösung ein und ist über eine modifizierte Flusszelle mit einem EmStat-Potentiostaten verbunden. Der Potentiostat ist über einen USB-Anschluss mit einem PC verbunden, der mit Hilfe der PSTrace-Software die Messdaten aufzeichnet.

## 2.3 Herstellung der Sensoren und Lösungen

### 2.3.1 Herstellung des $K^+$ -Sensors

Die sogenannte Siebdruckelektrode (SDE), die für diese Arbeit verwendet wurde, wurde mittels Siebdrucktechnologie hergestellt. Das Verfahren ist einfach, kostengünstig, besitzt eine hohe Reproduzierbarkeit und hat hohe Effizienz in der Massenproduktion [38]. Eine typische Siebdruckschablone besteht aus einem dünn gewebten Nylonnetz, das straff in einen metallischen Rahmen eingebunden wurde. Das Gitternetz der Schablone besitzt offene Maschen, die dem gewünschten Druck entsprechen. Nachdem die benötigte Druckpaste auf die Schablone aufgetragen worden ist, verteilt eine aus Aluminium bestehende Flutrakel die Paste gleichmäßig über das Sieb. Anschließend fährt eine Gummirakel in die entgegengesetzte Richtung und drückt die Paste durch die offenen Maschen auf eine elektrisch nicht leitende Substratfolie. Das Lösungsmittel der Paste muss verdampft werden, damit die mineralischen Bestandteile sich mit dem Bindemittel verfestigen.

Für die Herstellung der Elektroden in dieser Arbeit stand eine Schablone für ein Dreielektrodensystem zur Verfügung. Um ein Zweielektrodensystem zu erhalten, wur-

den Referenz- und Gegenelektrode miteinander verbunden.

Die Elektroden wurden in folgenden vier Arbeitsschritten hergestellt (s. Abbildung 8):

1. Substratvorbereitung: Die Substratfolie wurde zunächst mit Aceton:1-Methoxy-2-propanol (1:1 v/v) gereinigt und für 1 Stunde bei 90°C im Trockenschrank erhitzt, um eine Deformation durch thermisches Schrumpfen oder ein Zusammenziehen bei späteren Arbeitsschritten zu verhindern.
2. Drucken der Silber/Silberchlorid (Ag/AgCl)-Referenzelektrode: Drei Leiterbahnen aus Ag/AgCl wurden auf die Substratfolie gedruckt. Während zwei Leiterbahnen die elektrischen Ableitungen für Arbeitselektrode und Gegenelektrode darstellen, dient die längste von ihnen als Referenzelektrode (s. Abbildung 8 (A)). Nach der Beschichtung wird die Folie für 1 Stunde bei 85°C in einem vorgeheizten Trockenschrank getrocknet.
3. Drucken der Kohlenstoff-Arbeitselektrode: Die kürzeren Ag/AgCl-Leiterbahnen werden jeweils mit einer Kohlenstoffpaste beschichtet, sodass zwischen Paste und Leiterbahn ein Kontakt hergestellt wird. Die mittlere Elektrode dient als Arbeitselektrode (s. Abbildung 8 (B)). Wieder wurde die Folie für 1 Stunde bei 85°C getrocknet.
4. Drucken der Isolationsschicht: Im letzten Prozessschritt werden die Sensoren mit einer Isolationsschicht beschichtet. Dabei bleiben die Enden der Leiterbahnen frei, um bei den Messungen einen Kontakt mit dem Potentiostaten herstellen zu können. An den Elektrodenspitzen bleibt die aktive Oberfläche ebenfalls frei, da hier die elektrochemischen Reaktionen stattfinden (s. Abbildung 8 (C)). Die verwendete Isolationsschicht ist eine thermisch aushärtende Paste, die für 8h bei 85°C im Ofen gehärtet wurde.

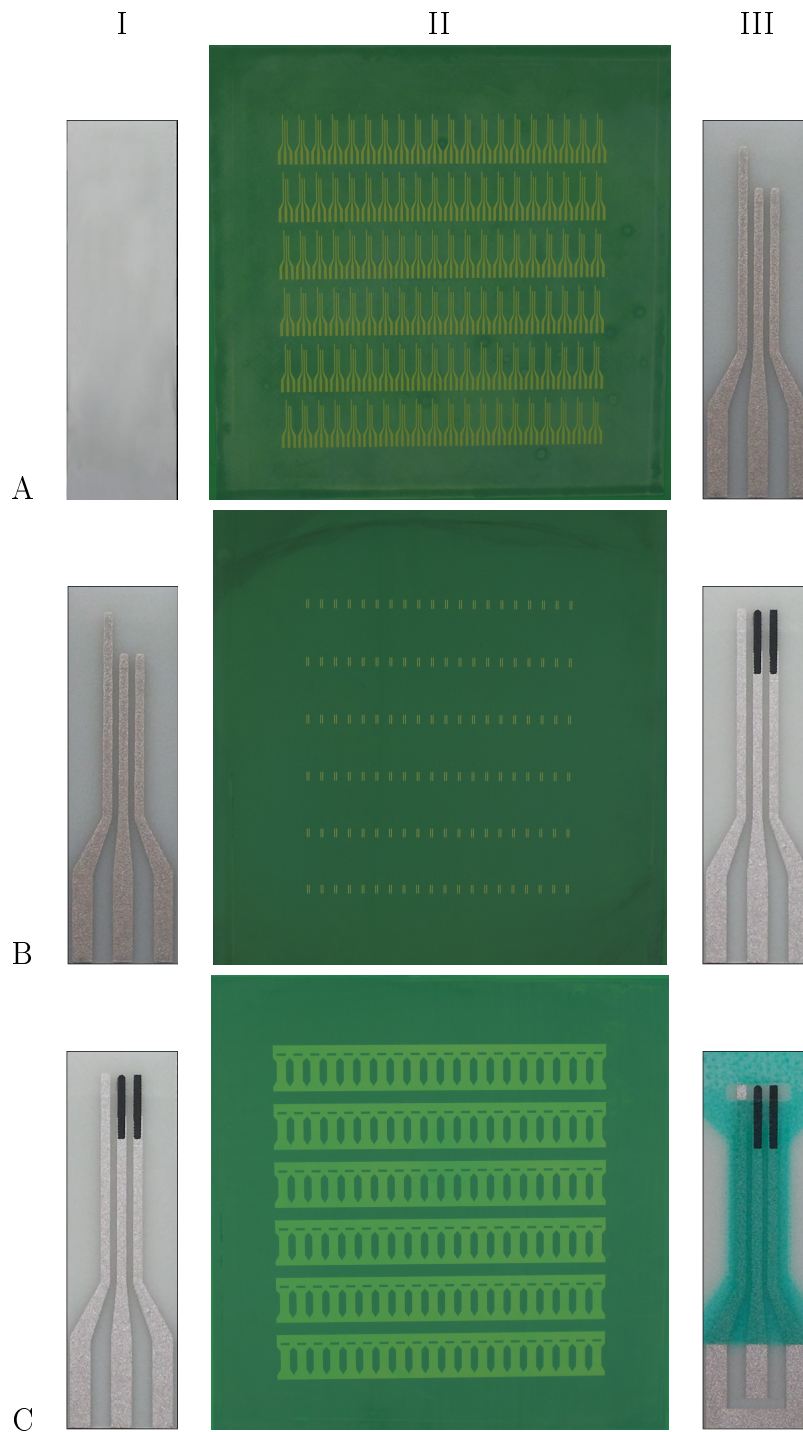


Abbildung 8: Schematische Darstellung der Printmuster (II) zur Herstellung der Elektroden. (A) Siebdruckschablone für Ag-/AgCl-Schicht, (B) Siebdruckschablone für Karbonschicht (C), Siebdruckschablone Isolationsschicht. I bis III zeigen die schematische Ansicht der Substratfolie vor und nach jedem einzelnen Druckschritt. Um ein Zweielektrodensystem zu erhalten, wurden Referenz- und Gegenelektrode miteinander verbunden.

### 2.3.2 Herstellung der K<sup>+</sup>-selektiven Membran

Nach Literaturrecherche wurden zwei unterschiedliche Leitsalze (KTpCIPB und KTFPB) und zwei unterschiedliche Weichmacher (DOA und DOS) für die Vorversuchsreihe eingesetzt. Die hergestellten Membranen unterschieden sich einerseits in der Art der Inhaltsstoffe und andererseits in den Masseverhältnissen der jeweiligen Komponenten. Bei der Entwicklungsstrategie der Membranen ging man anfangs von den 2 Leitsalzen aus. Diese kombinierte man jeweils mit zwei unterschiedlichen Weichmachern. Anschließend variierte man das PVC-Weichmacher-Verhältnis bei diesen 4 Membranen. Dadurch entstanden insgesamt 12 PVC-basierte Membranen, deren genaue Zusammensetzungen in Tabelle 1 zusammengefasst sind.

Tabelle 1: Membranzusammensetzungen der K<sup>+</sup>-sensitiven ISE. Alle Kombinationen enthalten zusätzlich 1 Gew% Valinomycin und zu 1g Membranmaterial wurde 3ml THF hinzugefügt. Membran Nr. 1 wurde aus [24] entnommen, Membran Nr. 4 aus [39] und Membran Nr. 7 aus [34].

Membran Nr.	Matrix*	Weichmacher*		Leitsalz*	
	PVC	DOS	DOA	KTpCIPB	KTFPB
1	33	65,5	-	0,5	-
2	38	60,5	-	0,5	-
3	28	70,5	-	0,5	-
4	33	-	65,5	0,5	-
5	38	-	60,5	0,5	-
6	28	-	70,5	0,5	-
7	33	65,5	-	-	0,5
8	38	60,5	-	-	0,5
9	28	70,5	-	-	0,5
10	33	-	65,5	-	0,5
11	38	-	60,5	-	0,5
12	28	-	70,5	-	0,5

\*in [Gew%]



Die für die Optimierungsphase ausgewählte Membran Nr. 4 wurde zusätzlich auf den Einfluss des Leitsalzes untersucht. Die unterschiedlichen Leitsalze und ihre Verhältnisse sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Membran Nr. 4 mit unterschiedlichen Leitsalzen.

Membran Nr.4	KTpClP*	KTFPB*	NaBArF <sub>24</sub> *
K <sup>+</sup>	0,5	-	-
Na <sup>+</sup>	-	-	0,5
a	0,07	-	0,49
b	-	0,01	0,49

\* in [Gew%]

### 2.3.3 Dispensierung der Membran

Die Membran wurde mit Hilfe einer Pipette in eine Dosiernadel eingefüllt und auf einen Kartuschenadapter, der mit dem Mikrodosiergerät verbunden war, aufgesteckt. Anschließend wurde mittels Luftdruck die Membran auf die Arbeitselektrode aufgetragen. Mittels Druck/Zeit-Steuerung des Mikrodosiergeräts konnte das Auftragsvolumen der Membran reproduziert werden.

### 2.3.4 Herstellung der KCl-, KNO<sub>3</sub>- und NaNO<sub>3</sub>-Lösungen

**Lösungen für Auswahl und Optimierung der K<sup>+</sup>-sensitiven Membran** Für die Analytik wurden mehrere KCl-Lösungen zwischen 0,5 und 10mM K<sup>+</sup>-Konzentration hergestellt, indem die berechnete Menge KCl in destilliertem Wasser gelöst wurde. Vier Konzentrationen (1, 4, 7 und 10 mM) liegen im Bereich der physiologischen K<sup>+</sup>-Plasmakonzentration. Für die Bestimmung der LOD wurde die 0,5 mM Stammlösung zu 0,2 - 0,4 mM Lösungen mit destilliertem Wasser verdünnt.

**Lösungen für Selektivitätstests** Die Selektivität beschreibt die Beeinflussung des Elektrodenpotentials durch ein Störion. Sie wird durch den Selektivitätskoeffizienten  $K_{A,B}^{pot}$  wiedergegeben (s. Abschnitt 1.6.5). Bei den folgenden Messungen ist K<sup>+</sup> das Primärion A und Natrium das Störion B. Um die Empfindlichkeit der jeweiligen Membranen gegenüber Na<sup>+</sup> festzustellen, wurde das Standard-Additionsverfahren angewandt. Um den Selektivitätskoeffizienten zu berechnen, wurde die Separate Solution-Methode [23] angewandt.

Beim *Standard-Additionsverfahren* wird einer Lösung ein identisches Volumen eines Interferenten hinzugefügt (Spiken). Dadurch konnte in dieser Arbeit die ungewünschte Durchlässigkeit der Membranen für  $\text{Na}^+$  untersucht werden.

Es wurden 4 Lösungen für die interne Kalibration ( $\text{KNO}_3$ ) und zusätzlich 4 gespikte Lösungen ( $\text{KNO}_3 + \text{NaNO}_3$ ) hergestellt (s. Tabelle 3). Bei den Messungen wechselten sich interne Lösungen mit gespikter Lösung gleicher  $\text{K}^+$ -Konzentration ab, sodass die Kalibration und die Standard-Addition in einer Messung inkludiert sind. Die Natrium-Spikes wurden mit 130 mM, 150 mM und 180 mM Natrium-Konzentration entsprechend pathophysiologischen Schwankungen gemischt. Jede Lösung enthielt zusätzlich Zinkchlorid, um eine konstante 100 mM  $\text{Cl}^-$ -Konzentration für die Referenzelektrode zu erzeugen.

Tabelle 3: Interne Lösungen und gespikte Lösungen des Standard-Additionverfahrens. Alle Lösungen enthalten zusätzlich 100 mM  $\text{Cl}^-$ .

Interne Lösungen ( $\text{KNO}_3$ )	Gespikte Lösungen ( $\text{KNO}_3 + \text{NaNO}_3$ )
1 mM $\text{K}^+$	1 mM $\text{K}^+$ + 130 mM $\text{Na}^+$
4 mM $\text{K}^+$	4 mM $\text{K}^+$ + 130 mM $\text{Na}^+$
7 mM $\text{K}^+$	7 mM $\text{K}^+$ + 130 mM $\text{Na}^+$
10 mM $\text{K}^+$	10 mM $\text{K}^+$ + 130 mM $\text{Na}^+$
1 mM $\text{K}^+$	1 mM $\text{K}^+$ + 150 mM $\text{Na}^+$
4 mM $\text{K}^+$	4 mM $\text{K}^+$ + 150 mM $\text{Na}^+$
7 mM $\text{K}^+$	7 mM $\text{K}^+$ + 150 mM $\text{Na}^+$
10 mM $\text{K}^+$	10 mM $\text{K}^+$ + 150 mM $\text{Na}^+$
1 mM $\text{K}^+$	1 mM $\text{K}^+$ + 180 mM $\text{Na}^+$
4 mM $\text{K}^+$	4 mM $\text{K}^+$ + 180 mM $\text{Na}^+$
7 mM $\text{K}^+$	4 mM $\text{K}^+$ + 180 mM $\text{Na}^+$
10 mM $\text{K}^+$	4 mM $\text{K}^+$ + 180 mM $\text{Na}^+$

Für die *Separated Solution-Methode* wurden sowohl  $\text{K}^+$ - ( $\text{KNO}_3$ ) als auch  $\text{Na}^+$ - ( $\text{NaNO}_3$ ) Stammlösungen einzeln (1, 4, 7 und 10mM Kation) vermessen. Jede Lösung enthielt zusätzlich Zinkchlorid, um eine konstante 100 mM  $\text{Cl}^-$ -Konzentration für die Referenzelektrode zu erzeugen.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Auswahl der geeigneten $K^+$ -sensitiven Membran

Ziel dieser Arbeit war es, eine  $K^+$ -ionensensitive Elektrode zu entwickeln, mit deren Hilfe die  $K^+$ -Konzentration im Fingerkuppenblut mittels potentiometrischer Analyse bestimmt werden kann. Um den Sensor für seinen Einsatz zu optimieren, musste im ersten Schritt die Zusammensetzung der ionenselektiven Membran untersucht werden. Zu diesem Zweck wurden 12 Membranen aus bereits bestehenden Literaturquellen einer Validierungsanalytik unterzogen. Dabei wurden die jeweiligen Sensoren ( $n=10$ ) im Bereich von 1 - 10 mM  $K^+$  kalibriert und die Mittelwerte der analytischen Parameter, wie z.B. die relative Standardabweichung und die untere Nachweisgrenze, berechnet. Zudem wurde auf Abfallen des Potentialsignals (Drift) geachtet, da dies auf Instabilitäten im System hinweist und zu verfälschten Ergebnissen führen würde. Zusätzlich wurde auf die Steilheit der Kalibriergeraden geachtet.

Um die Auswirkungen der Massenverhältnisse interpretieren zu können, wurden die erhaltenen Validierparameter in den Tabellen 4 - 7 aufgelistet und die Membranen mit gleichen Inhaltsstoffen in den Abbildungen 9 - 12 mit ihren Kalibrationskorrelationen bei 1mM, 4mM, 7mM und 10mM  $K^+$ -Konzentration dargestellt.

## Kalibrierung und Validierung der Membranen Nr. 1 - 3:

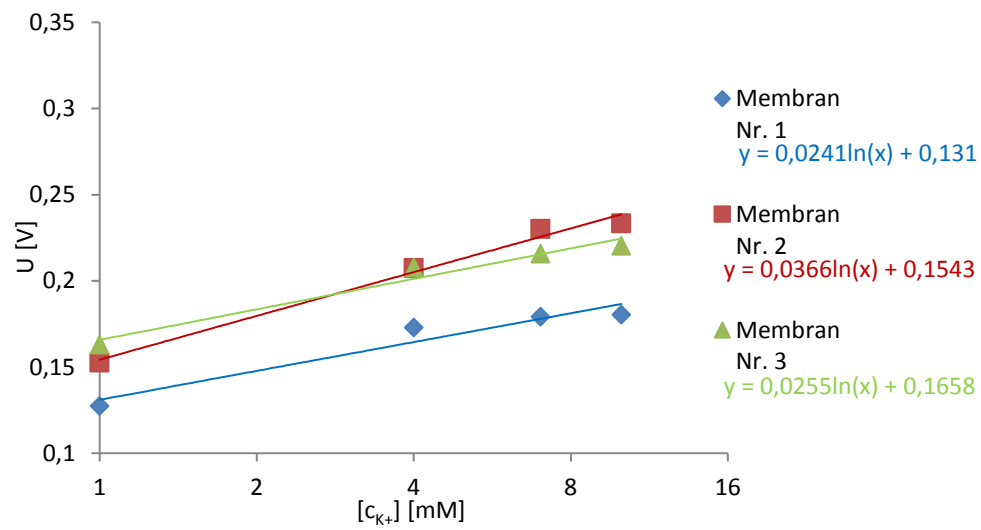


Abbildung 9: Kalibrierfunktion und logarithmische Trendlinie der Membranen Nr. 1 - 3.

Tabelle 4: Parameter der Membran Nr. 1 - 3. Die Membranen enthalten den Weichmacher DOS und das Leitsalz KTpClPB in unterschiedlichen Masseverhältnissen.

Membran Nr.	CV*	Steilheit*	LOD*	Drift*
	[%]	[mV/Dekade]	[mM]	[mV/s]
1	10,5	24,1	2,3	0,022
2	6,4	36,6	1,7	0,021
3	9,1	25,5	2,8	0,018

\* n = 10

## Kalibrierung und Validierung der Membranen Nr. 4 - 6:

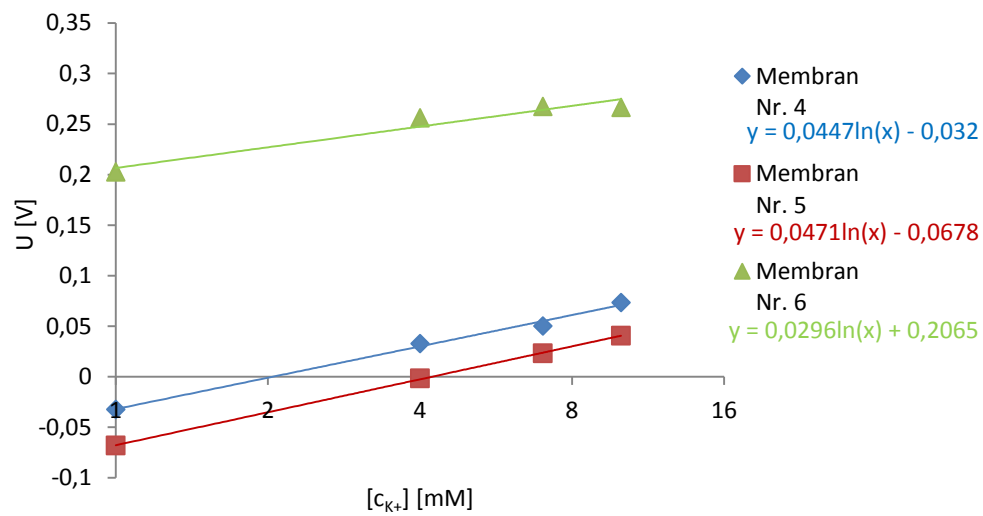


Abbildung 10: Kalibrierfunktion und logarithmische Trendlinie der Membranen Nr. 4 - 6.

Tabelle 5: Parameter der Membran Nr. 4 - 6. Die Membranen enthalten den Weichmacher DOA und das Leitsalz KTpCIPB in unterschiedlichen Masseverhältnissen.

Membran	CV*	Steilheit*	LOD*	Drift*
	[%]	[mV/Dekade]	[mM]	[mV/s]
4	8,4	44,7	0,35	-
5	16,5	47,1	0,79	-
6	10,43	29,6	1,7	0,10

\* n = 10

## Kalibrierung und Validierung der Membranen Nr. 7 - 9:

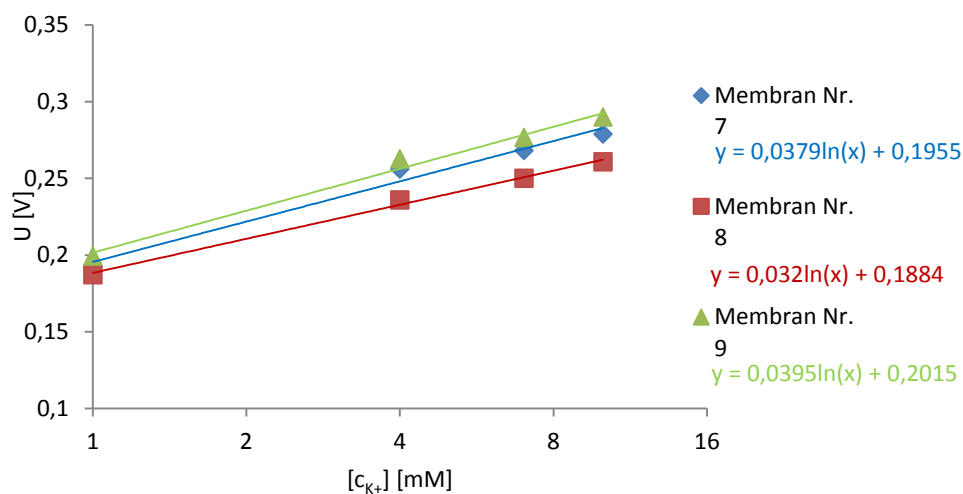


Abbildung 11: Kalibrierfunktion und logarithmische Trendlinie der Membranen Nr. 7 - 9.

Tabelle 6: Parameter der Membran Nr. 7 - 9. Die Membranen enthalten den Weichmacher DOS und das Leitsalz KTFPB in unterschiedlichen Masseverhältnissen.

Membran Nr.	CV*	Steilheit*	LOD*	Drift*
	[%]	[mV/Dekade]	[mM]	[mV/s]
7	3,2	37,9	0,93	-
8	18,6	32,0	1,6	0,016
9	1,9	40,0	0,5	0,010

\* n = 10

## Kalibrierung und Validierung der Membranen Nr. 10 - 12:

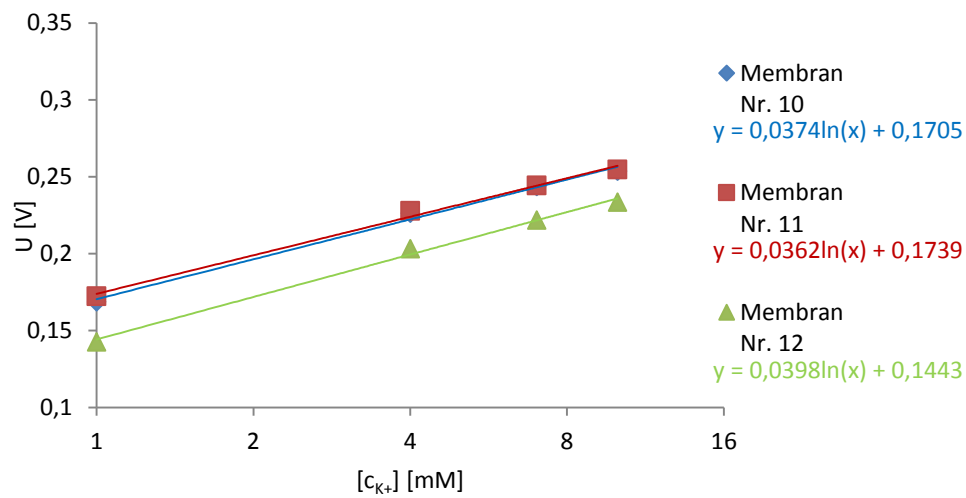


Abbildung 12: Kalibrierfunktion und logarithmische Trendlinie der Membranen Nr. 10 - 12.

Tabelle 7: Parameter der Membran Nr. 10 - 12. Die Membranen enthalten den Weichmacher DOA und das Leitsalz KTFPB in unterschiedlichen Masseverhältnissen.

Membran Nr.	CV*	Steilheit*	LOD*	Drift*
	[%]	[mV/Dekade]	[mV]	[mV/s]
10	4,5	37,4	1,3	-
11	6,3	36,2	2,1	-
12	4,4	39,8	1,2	0,012

\* n = 10

### 3.2 Optimierung der $K^+$ -sensitiven Membran

Aus den Ergebnissen der Membranvalidierung (s. Kapitel 3.1) wurde die ionenselektive Membran Nr. 4 als für die vorgesehene Anwendung am besten geeignet angesehen. Sie besitzt nicht nur eine hohe Präzision, sondern auch eine beste Steilheit. Ihr genaues analytisches Verhalten wurde in Abbildung 13 aufgezeigt.

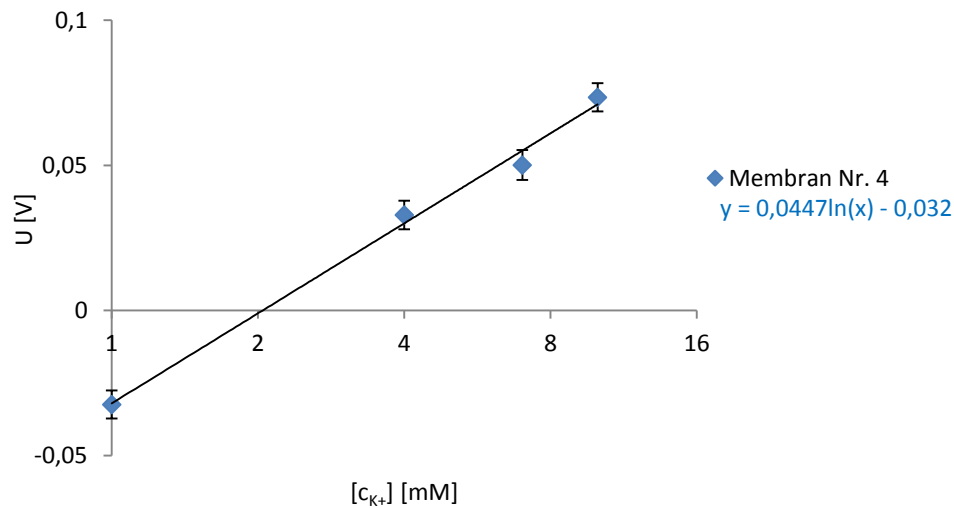


Abbildung 13: Steilheit und Standardabweichung der Membran Nr. 4.

Um die Eigenschaften dieser Membran bezüglich Messwertpräzision sowie Empfindlichkeit zu verbessern, wurde sie einem Optimierungsschritt unterworfen, bei dem der Einfluss des Leitsalzes untersucht wurde. Dabei wurden vor allem  $K^+$  sowie  $Na^+$  als Kation enthaltende Leitsalze verglichen sowie eine Kombination beider Ionen getestet (s. Tabelle 2). Die Kalibrationskurven der einzelnen Membranen ist in Abbildung 14 ersichtlich und deren Validierungsparameter in Tabelle 8.



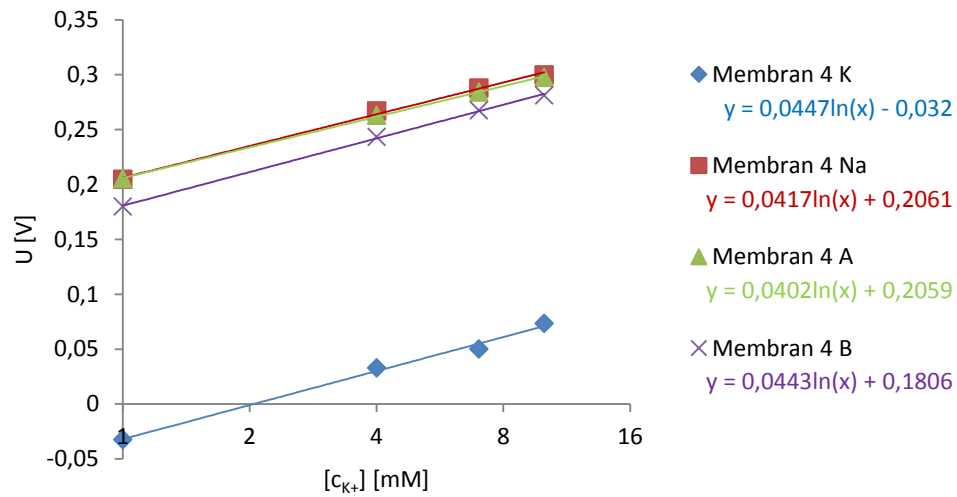


Abbildung 14: Kalibrationsverhalten von Membran Nr. 4 und der Einfluss der Leitsalz-kombinationen auf dieses.

Tabelle 8: Membran Nr. 4 Leitsalzvariationen

Membran	CV* [Gew%]	Slope* [mV/Dekade]	LOD* [mM]	Drift* [mV/s]
4 K <sup>+</sup>	8,4	44,7	0,2±0,005	-
4 Na <sup>+</sup>	2,5	41,7	0,2±0,01	-
4 A	4,1	40,2	0,2±0,01	-
4 B	3,4	44,3	0,2±0,007	-

\* n = 6

### 3.3 Einfluss von THF

Zusätzlich zu den Leitsalzen wurde der Einfluss von THF auf die Membraneigenschaften untersucht, um festzustellen, ob auf THF als Lösungsmittel verzichtet werden kann. In den Abbildungen 15 und 16 wird dieser Einfluss am Beispiel von Membran Nr. 4 gezeigt. Bei den Messungen wurde die gleiche Membranzusammensetzung verwendet, mit dem Unterschied, dass 1g Membran Nr. 4 in 3ml THF aufgenommen wurde und die andere kein Lösungsmittel enthielt.

Es konnte gezeigt werden, dass es bei Verwendung von THF zu einer Erhöhung der Sensitivität kommt. Membran Nr. 4 ohne THF erreichte lediglich eine Steilheit von 14,4 [mV/Dekade]. Bei Verwendung von Membran Nr. 4 mit THF konnte eine Steilheit von 44,7 [mV/Dekade] erreicht werden.

#### Membran Nr. 4 mit und ohne Lösungsmittel THF:

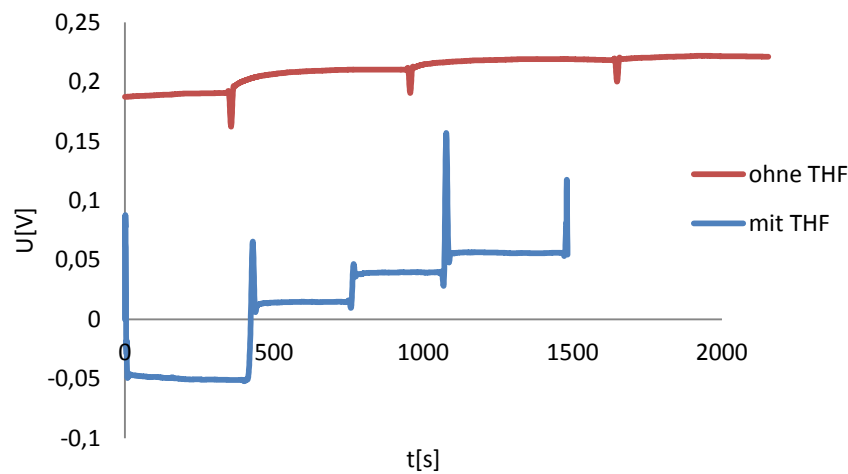


Abbildung 15: Potentiometrische Darstellung der K<sup>+</sup>-Messung an der Membran Nr. 4. Gefertigt mit und ohne THF. K<sup>+</sup>-Konzentration: 1mM, 4mM 7mM und 10mM.

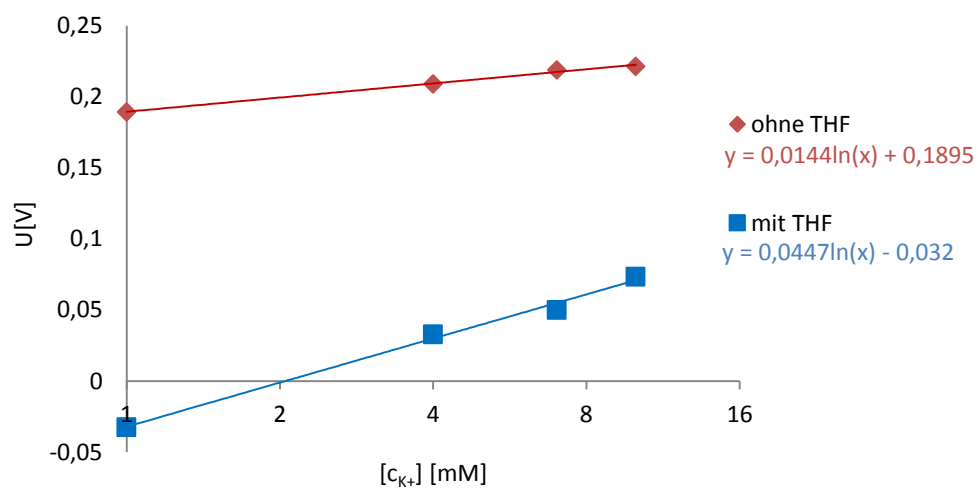


Abbildung 16: Vergleich der Kalibrationskurven der  $K^+$ -Messung an der Membran Nr. 4. Gefertigt mit und ohne THF.  $K^+$ -Konzentration: 1mM, 4mM 7mM und 10mM.

### 3.4 Selektivitätstests

Um unter den Membranen 4 K<sup>+</sup>, 4 Na<sup>+</sup>, 4 A und 4 B die optimale Membran für den zu entwickelnden K<sup>+</sup>-Sensor zu finden, wurden Selektivitätstest durchgeführt, um die Empfindlichkeit der jeweiligen Membranen gegenüber Natrium festzustellen. Die Durchlässigkeit für Na<sup>+</sup> wird durch das Standard-Additionsverfahren wiedergegeben. Die interne Kalibration wechselt sich dabei mit gespikter Lösung gleicher K<sup>+</sup>-Konzentration ab, sodass die Kalibration und die Standardaddition in einer Messung inkludiert sind (s. Abbildungen 17, 19, 21 und 23). Die Natriumspikes wurden mit 130 mM, 150 mM, und 180 mM Na<sup>+</sup>Konzentration entsprechend pathophysiologischen Schwankungen untersucht. Die Zinkchlorid-Lösung dient der Ag/AgCl-Referenzelektrode als Referenzflüssigkeit und wird mit 100 mM Cl<sup>-</sup> konstant gehalten.

### Selektivität der Membran 4 $K^+$ :

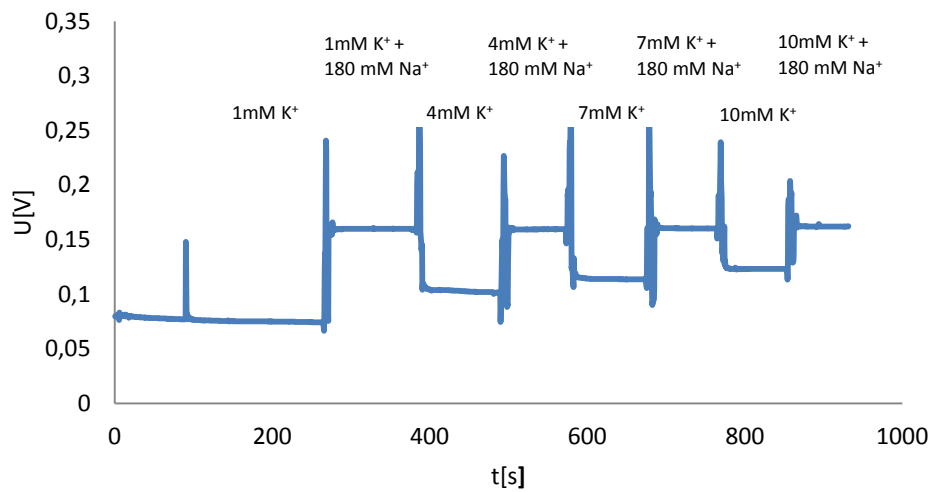


Abbildung 17: Potentiometrische Darstellung des Standard-Additionsverfahrens  $K^+$  gegen  $Na^+$  an Membran 4  $K^+$ . Als Beispiel wurde die Messung mit 180 mM Natrium dargestellt.

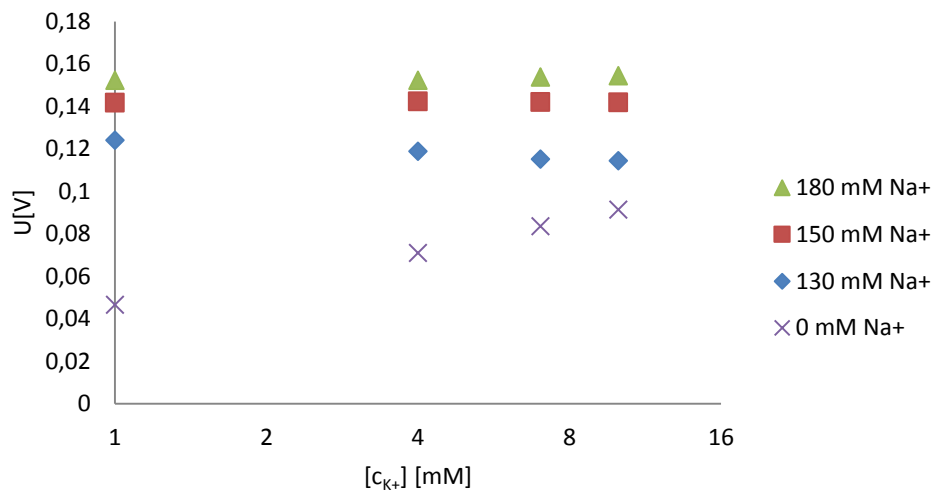


Abbildung 18: Vergleich der Kalibrationskurven des Standardadditionsverfahrens  $K^+$  gegen  $Na^+$  an Membran 4  $K^+$ .

### Selektivität Membran 4 $\text{Na}^+$ :

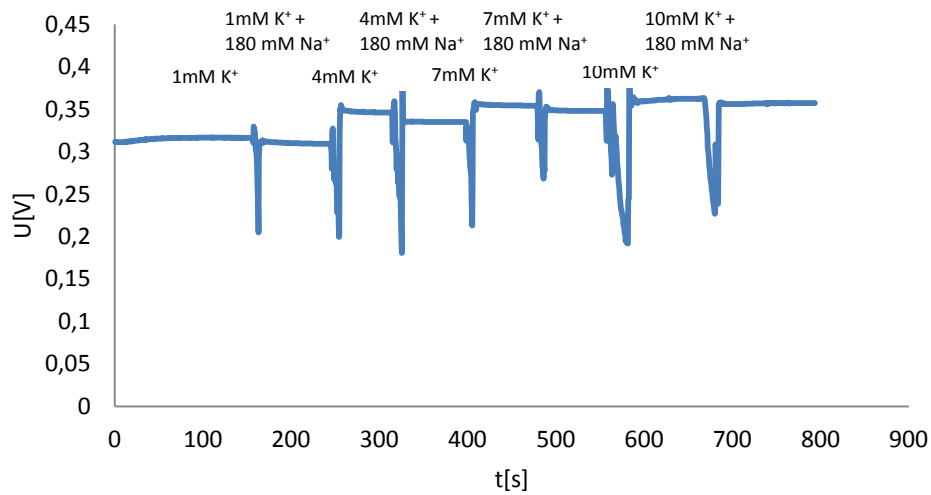


Abbildung 19: Potentiometrische Darstellung des Standard-Additionsverfahrens  $\text{K}^+$  gegen  $\text{Na}^+$  an Membran 4  $\text{Na}^+$ .

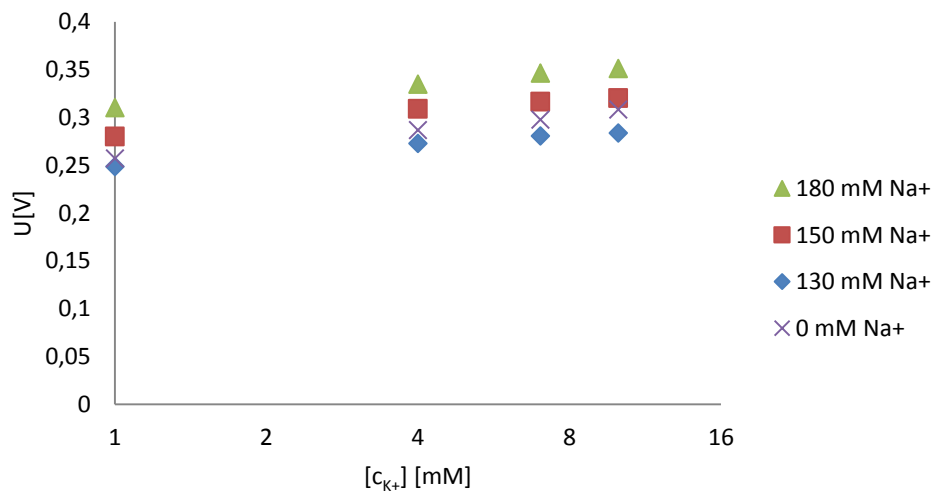


Abbildung 20: Vergleich der Kalibrationskurven des Standard-Additionsverfahrens  $\text{K}^+$  gegen  $\text{Na}^+$  an Membran 4  $\text{Na}^+$ . Als Beispiel wurde die Messung mit 180 mM Natrium dargestellt.

### Selektivität Membran 4 A:

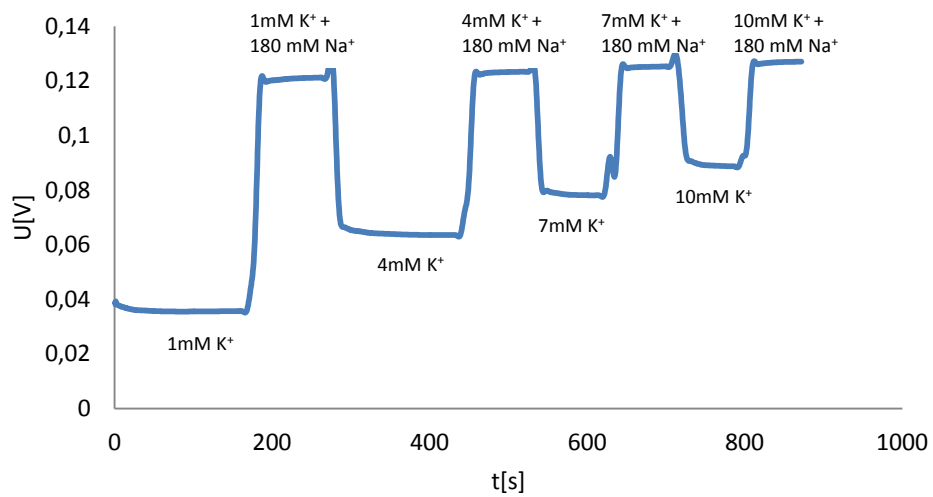


Abbildung 21: Potentiometrische Darstellung des Standard-Additionsverfahrens  $K^+$  gegen  $Na^+$  an Membran 4 A.

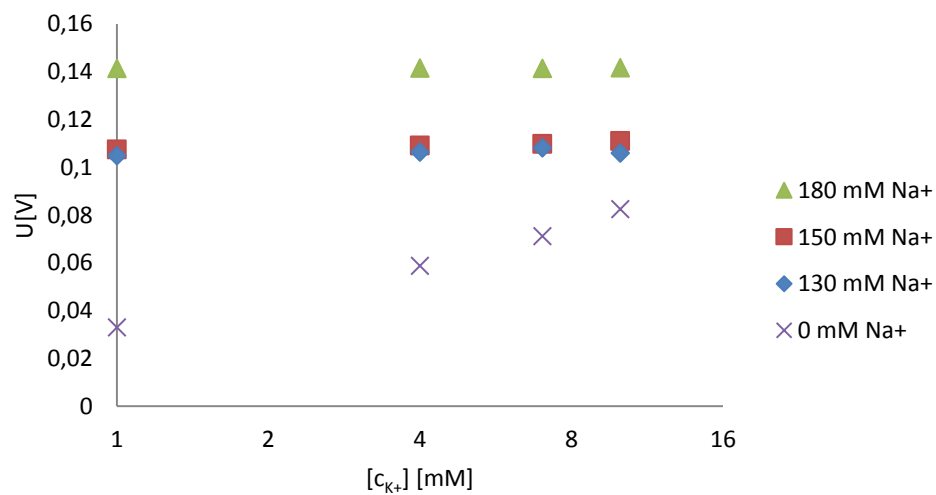


Abbildung 22: Vergleich der Kalibrationskurven des Standardadditionsverfahrens  $K^+$  gegen  $Na^+$  an Membran 4 A.

### Selektivität Membran 4 B:

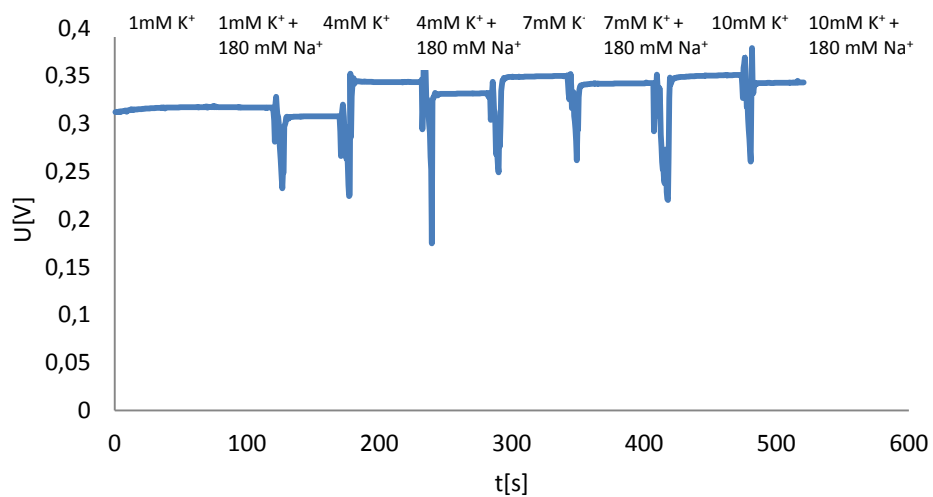


Abbildung 23: Potentiometrische Darstellung des Standard-Additionsverfahrens  $K^+$  gegen  $Na^+$  an Membran 4 B. Als Beispiel wurde die Messung mit 180 mM Natrium dargestellt.

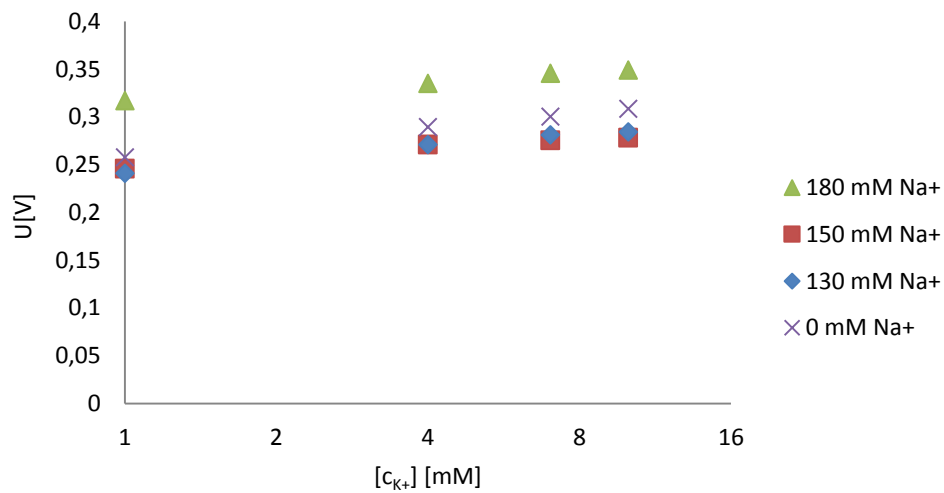


Abbildung 24: Vergleich der Kalibrationskurven des Standardadditionsverfahrens  $K^+$  gegen  $Na^+$  an Membran 4 B.



Um den Selektivitätskoeffizienten berechnen zu können wurde die SSM angewandt (s. Kapitel 1.6.5). Sowohl die  $K^+$ - als auch die  $Na^+$ -Stammlösung wurden einzeln vermessen und die Spannungsdifferenz der ermittelten Kalibriergerade berechnet. Die jeweiligen Kalibriergeraden wurden in den Abbildungen 25 - 28 dargestellt die dazugehörigen berechneten Spannungsdifferenzen sind in Tabelle 9 - 12 zu finden.

#### Selektivitätskoeffizient Membran 4 $K^+$ :

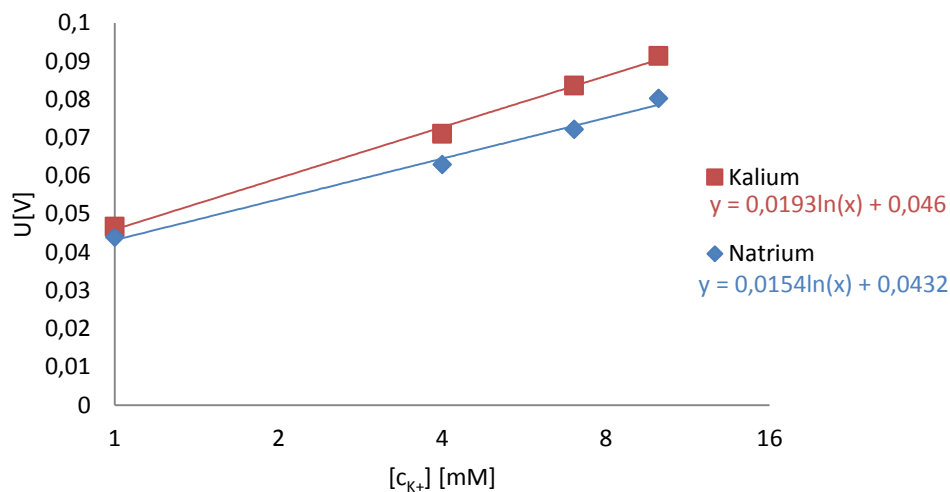


Abbildung 25: Kalibriergerade der  $K^+$ -Stammlösung (1 mM, 4 mM 7 mM und 10 mM) und  $Na^+$  Stammlösung (1mM, 4mM 7mM und 10mM) zur Bestimmung der Selektivitätskoeffizienten nach der SSM, bestimmt an Membran 4  $K^+$ .

Tabelle 9: Spannungsdifferenzen zwischen  $K^+$ - und  $Na^+$ -Signal, berechnet aus der Kalibrierung (s. Abbildung 25).

Konzentration [mM]	$\Delta U$ [mV]
1	-2,72
4	-8,02
7	-11,48
10	-11,08

Aus den Spannungsdifferenzen der Tabelle 9 wurde mit Gleichung 7 folgender Selektivitätskoeffizient berechnet:  $K_{K^+,Na^+}^{pot} = 0,649$ .

### Selektivitätskoeffizient Membran 4 Na<sup>+</sup>:

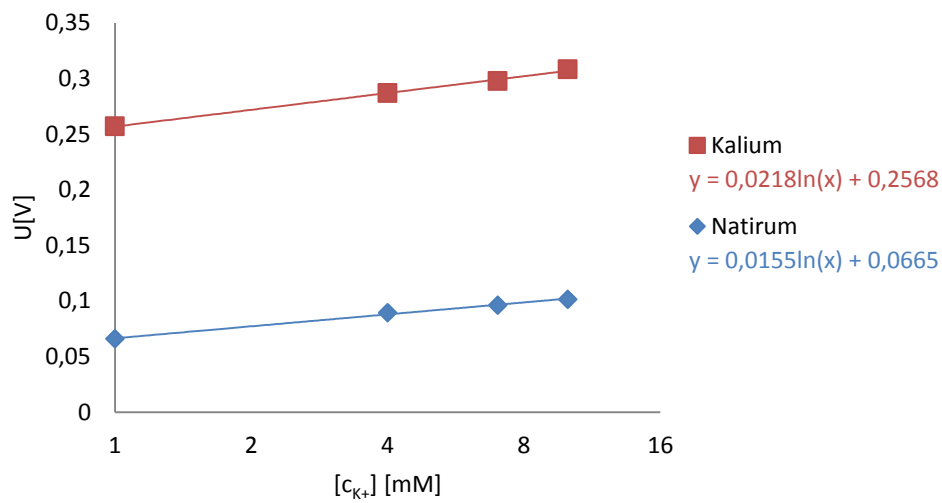


Abbildung 26: Kalibriergerade der K<sup>+</sup>-Stammlösung (1 mM, 4 mM, 7 mM und 10 mM) und Na<sup>+</sup>-Stammlösung (1mM, 4mM, 7mM und 10mM) zur Bestimmung des Selektivitätskoeffizienten nach der SSM, bestimmt an Membran Na<sup>+</sup>

Tabelle 10: Spannungsdifferenzen zwischen K<sup>+</sup>- und Na<sup>+</sup>-Signal, berechnet aus der Kalibrierung (s. Abbildung 26)

Konzentration [mM]	$\Delta U$ [mV]
1	-191,08
4	-197,35
7	-201,67
10	-206,65

Aus den Spannungsdifferenzen der Tabelle 10 wurde mit Gleichung 7 folgender Selektivitätskoeffizient berechnet:  $K_{K^+,Na^+}^{pot} = 0,00043$ .

### Selektivitätskoeffizient Membran 4 A:

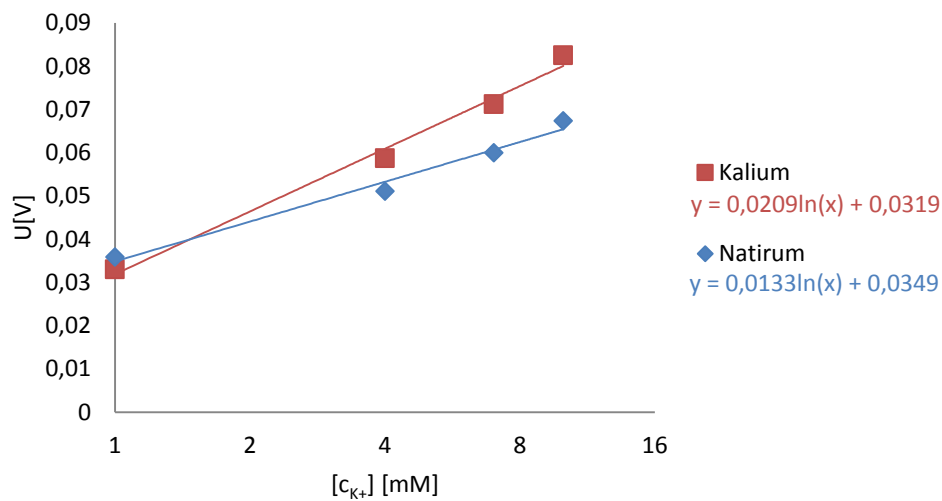


Abbildung 27: Kalibriergerade der K<sup>+</sup>-Stammlösung (1 mM, 4 mM, 7 mM und 10 mM) und Na<sup>+</sup>-Stammlösung (1 mM, 4 mM, 7 mM und 10 mM) zur Bestimmung der Selektivitätskoeffizienten nach der SSM, bestimmt an Membran A.

Tabelle 11: Spannungsdifferenzen zwischen K<sup>+</sup>- und Na<sup>+</sup>-Signal, berechnet aus der Kalibrierung (s. Abbildung 27)

Konzentration [mM]	$\Delta U$ [mV]
1	2,86
4	-7,76
7	-11,25
10	-15,17

Aus den Spannungsdifferenzen der Tabelle 11 wurde mit Gleichung 7 folgender Selektivitätskoeffizient berechnet:  $K_{K^+,Na^+}^{pot} = 0,74$ .

### Selektivitätskoeffizient Membran 4 B:

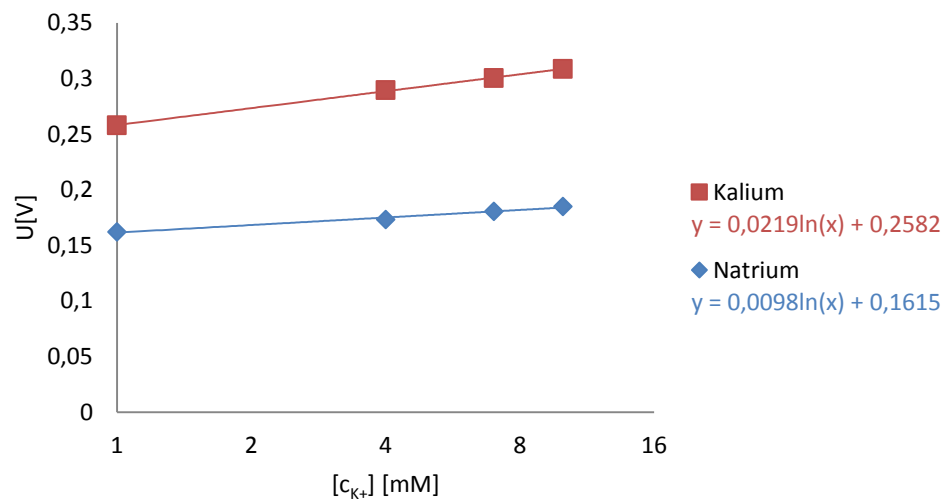


Abbildung 28: Kalibriergerade der  $K^+$ -Stammlösung (1mM, 4mM, 7mM und 10mM) und  $Na^+$ -Stammlösung (1mM, 4mM, 7mM und 10mM) zur Bestimmung der Selektivitätskoeffizienten nach der SSM, bestimmt an Membran 4 B

Tabelle 12: Spannungsdifferenzen der Membran 4 B.

Konzentration [mM]	$\Delta U$ [mV]
1	-95,73
4	-116,22
7	-119,65
10	-123,60

Aus den Spannungsdifferenzen der Tabelle 12 wurde mit Gleichung 7 folgender Selektivitätskoeffizient berechnet:  $K_{K^+,Na^+}^{pot} = 0,02$ .

## 4 Diskussion

### 4.1 $K^+$ -sensitiver potentiometrischer Sensor: Relevanz und

#### Problematik

Die Überwachung von  $K^+$ -Konzentrationen im Plasma ist einer der wichtigsten diagnostischen Parameter bei CHF sowie CKI. Im Laufe dieser Arbeit wurde ein  $K^+$ -sensitiver Sensor nach dem potentiometrischen Messprinzip entwickelt. Die Anforderungen an ein sensorisches Element zur Kaliumanalyse sollten sich vor allem durch hohe Präzision und hohe Selektivität auszeichnen. Kreuzreaktionen mit anderen Ionen, vor allem  $Na^+$  sollten sich nicht zeigen.  $Na^+$  ist wie  $K^+$  ein Kation und extrazellulär in höheren Konzentrationen vertreten als  $K^+$  (s. Tabelle 13). Damit der  $K^+$ -Messwert nicht durch  $Na^+$  verfälscht wird, darf die Membran für  $Na^+$  nicht durchlässig sein.

Eine weitere Verfälschung des  $K^+$ -Messwertes entsteht bei der Hämolyse. Durch das zerplatzen der Zellen fließt durch die 30mal höhere intrazelluläre  $K^+$ -Konzentration eine hohe Menge an  $K^+$  ins Plasma.

Tabelle 13: Intra- und extrazelluläre Ionenkonzentration [1].

	intrazelluläre Konzentration [mmol/l]	extrazelluläre Konzentration [mmol/l]
$Na^+$	12	145
$K^+$	155	5

Zudem soll sich ein solcher  $K^+$ -sensitiver Sensor, wie er in dieser Arbeit entwickelt wurde, durch hohe Empfindlichkeit, auch bei kleinem Probenvolumen, auszeichnen.

$K^+$ -sensitive Elektroden sowie potentiometrische Kaliumanalytik sind gut beforschte Gebiete der Elektrochemie. Dennoch ist ihr Aufbau, was die Zusammensetzung der ionenselektiven Membran betrifft, sehr variabel und muss dem jeweiligen Einsatzgebiet angepasst werden. Die meisten ionenselektiven Membranen basieren auf einem Polymergerüst. PVC-Membranen sind vergleichsweise günstig, besitzen gute mechanische Stabilität und lassen sich durch Weichmacher auflockern. Für den Fall, dass die Eigenschaften des PVCs ungünstig sind, z.B. wenn andere Oberflächeneigenschaften wünschenswert sind, können auch Polymere wie z.B. Silikongummi, Polyurethan oder Polystyrene als Träger für ISE

verwendet werden. Üblicherweise werden die Polymere und die weiteren Komponenten mit einem organischen Lösungsmittel, z.B. Tetrahydrofuran, gelöst. Eine Grundvoraussetzung für alle Polymere ist, dass ihre Glasübergangstemperatur ( $T_g$ ) kleiner als die Raumtemperatur ist. Wenn diese Kondition erfüllt ist, ist die Membran ausreichend flüssig, um eine angemessene Ionenleitfähigkeit sowie eine gute Diffusion zu ermöglichen. Zusätzlich wird auch die Handhabung erleichtert. Da jedoch die meisten Polymere diese Grundvoraussetzung nicht erfüllen (z.B.  $T_g$  für PVC ist  $80^\circ\text{C}$ ), müssen sie durch einen Weichmacher aufgelockert werden. Für PVC-Membranen liegt das typische Gleichgewichtsverhältnis zwischen Polymer und Weichmacher bei 1:2 (m/m). Da der Weichmacher für alle Komponenten als Lösungsmittel dient, sollte er mit allen Spezies kompatibel sein.

Ein weiterer Baustein der auf PVC basierenden ISE-Membran ist ein Leitsalz, das für den Ladungstransport verantwortlich ist. In der Regel diffundieren Leitsalze wegen ihrer Lipophil-Eigenschaften nicht aus der Membran in die wässrige Umgebung. Zudem wird durch das Hinzufügen des Leitsalzes die Permselectivität der Membran beeinflusst [40].

Mit heutigen Blutanalysegeräten können eine Reihe wichtiger klinischer Parameter wie z.B. Kalium, Chlorid, Blut-Harnstoff-Stickstoff (BUN) und Glukose sowie pH-,  $p\text{CO}_2$ - und  $p\text{O}_2$ -Werte *in vitro* bestimmt werden. Fehler, die bei der Messung entstehen, werden am häufigsten bei der Probenentnahme gemacht. So konnte z.B. ein Zusammenhang zwischen der Geschwindigkeit der Blutentnahme und der  $\text{K}^+$ -Konzentration in der Serumprobe festgestellt werden. Bei der Entnahme sollte darauf geachtet werden, dass turbulente Strömung und Unterdruck vermieden werden. Sollte dies nicht eingehalten werden, kommt es zu einer Hämolyse, also zur Zerstörung von Erythrozyten und somit zur Verfälschung der Plasmakonzentrationswerten [24]. Vor allem bei  $\text{K}^+$  ist auf eine richtige Blutentnahme zu achten, da die Konzentration intrazellulär ca. 30mal höher ist als extrazellulär. Stark hämolysierte Proben sollten für die Bestimmung des  $\text{K}^+$ s im Plasma nicht herangezogen werden. Frisch entnommene Proben sollten sofort aufbereitet (Trennung des Serums von Erythrozyten) bzw. unmittelbar vermessen werden. Auch auf die Messtemperatur von ca.  $37^\circ\text{C}$  und einen konstanten pH-Wert von ca. 7,4 muss geachtet werden.

Diagnostische Instrumente wurden soweit miniaturisiert, dass sie für nahezu jede Arzt-

praxis erschwinglich und handlich geworden sind. Durch die Anforderungen an Blutentnahme und -verarbeitung können  $K^+$ -Messungen nach wie vor nicht von Patienten selbst durchgeführt werden wie z.B. bei der Blutzuckermessung. Die Anwendung diagnostischer Geräte für den Hausgebrauch erfordert eine Einschulung, da es bei inkorrektter Anwendung zu verfälschten Ergebnissen kommen kann [24].

## 4.2 Auswahl der Membranbestandteile für die $K^+$ -ionensensitive Elektrode

Wie im vorigen Kapitel beschrieben wurden zunächst die Bestandteile der ISE-Membran untersucht. Dazu wurden sechs Membranen mit DOA und sechs Membranen mit DOS einer analytischen Validierung unterzogen. Dabei wurden durch Wiederholungsmessungen analytische Parameter (Empfindlichkeit, Präzision, Nachweisgrenze und Drift) bestimmt und verglichen (s. Abschnitt 3.1). Für diese Arbeit wurde nach ausführlicher Literaturrecherche eine Auswahl von 12 Membranen auf PVC-Basis getroffen, um als  $K^+$ -ionensensitive Elektrode für die Analyse von  $K^+$ -Konzentrationen im Kapillarblut untersucht zu werden. Die 12 PVC-Membranen beruhen auf Valinomycin als Ionophor. Dieses Antibiotikum hat durch die hohe Hydrophilie und die optimale Größe des Molekülinnenen hohe Selektivität für  $K^+$ . Es wurde im Masseverhältnis von 1% in die jeweilige PVC-Membran eingebettet. Der Einfluss von Leitsalz und Weichmacher wurde beobachtet. Je drei Membranen enthielten die gleichen Inhaltsstoffe in unterschiedlichen Masseverhältnissen. Die jeweiligen Verhältnisse wurden in Tabelle 2 zusammengefasst (s. Abschnitt 2.3.2).

Da es für die ISE von Bedeutung ist, dass das Spannungssignal stabil ist, werden nur jene Membranen in die engere Auswahl genommen, die keinen Signaldrift über die Zeit zeigen. Von den fünf Membranen, bei denen das Spannungssignal stabil war, wurden jene weiter untersucht, die ein niedriges LOD zeigen. Dies trifft für die Membranen Nr. 4, Nr. 5 und Nr. 7 zu. Zwischen diesen drei Membranen hatte die Membran Nr. 4 eine hohe Steilheit mit 44,7 [mV/Dekade] sowie eine gute Präzision, ersichtlich an dem niedrigen CV Wert von 8,4%. Aus diesen Gründen wurde Membran Nr. 4 als Basis für weitere

Optimierungsschritte für die  $K^+$ -sensitive Elektrode ausgewählt.

### 4.3 Optimierung der $K^+$ -sensitiven Membran

Bei der Optimierung der  $K^+$ -sensitiven Membran Nr. 4 wurde der Einfluss des Leitsalzes genauer beobachtet und experimentell nachgewiesen. Die genauen chemischen Hintergründe müssen jedoch in weiterführenden Arbeiten erarbeitet werden.

### 4.4 Einfluss THF

Es wurden zwei Membranen Nr. 4, von denen eine in THF aufgenommen wurde, die andere nicht, auf Handhabung und Arbeitsweise verglichen, um festzustellen, ob auf THF als Lösungsmittel verzichtet werden kann. Es ergaben sich zwei erhebliche Vorteile bei Verwendung der Membran mit THF: Erstens wurden die einzelnen Bestandteile der Membran besser gelöst, sodass eine bessere Homogenität entstand. Zweitens wurde die Handhabung bei der Dispensierung der Membran wesentlich vereinfacht, da durch die entstandene Viskosität die reproduzierbare Applikation der Membran auf die Elektrode ermöglicht wurde.

Das Fehlen von THF erschwerte ein gleichmäßiges Auftropfen der Membran. Die fehlende Homogenität der Membranbestandteile konnte mittels schlechter Korrelation der Kalibriergeraden sowie, ihrer hohen Messwertstreuung und der verringerten Signalintensität gezeigt werden.

### 4.5 Selektivitätstests

Das Spannungssignal bleibt bei einer idealen  $K^+$ -selektiven Membran beim Wechseln von einer internen Kalibration zu einer gespikten Lösung bei gleicher  $K^+$ -Konzentration konstant. Membran 4  $Na^+$  und Membran 4 B zeigen ein annähernd konstantes Spannungssignal bezüglich  $Na^+$  (s. Abbildung 19 und 23). Im Gegensatz dazu sind Membran 4  $K^+$  und Membran 4 A deutlich anfälliger für Störionen (s. Abbildung 17 und 21).

Diese Ergebnisse werden durch die berechneten Selektivitätskoeffizienten unterstrichen. Membran A mit  $K_{K^+,Na^+}^{pot} = 0,74$  und Membran 4  $K^+$  mit  $K_{K^+,Na^+}^{pot} = 0,649$  werden eher



durch Störionen beeinflusst als Membran 4 B mit  $K_{K^+,Na^+}^{pot} = 0,02$ . Die beste Selektivität für  $K^+$  besitzt die Membran 4 Na<sup>+</sup> mit  $K_{K^+,Na^+}^{pot} = 0,00043$ .

Tabelle 14: Selektivitätskoeffizient

Membran	$K_{A,B}^{pot}$
4 K <sup>+</sup>	0,649
4 Na <sup>+</sup>	0,00043
4 A	0,74
4 B	0,002

---

## Literatur

- [1] Christian Hick and Astrid Hick. *Intensivkurs Physiologie*. Urban & Fischer Verlag, 2006.
- [2] Klaus Prettner. Population ageing and endogenous economic growth. *Journal of population economics*, 26(2):811–834, April 2013. ISSN 0933-1433.
- [3] Statistik Austria. URL [http://www.statistik.at/web\\_de/presse/067546](http://www.statistik.at/web_de/presse/067546).
- [4] Jeroen Spijker and John MacInnes. Population ageing: the timebomb that isn't? *BMJ (Clinical research ed.)*, 347(November):f6598, 2013. ISSN 1756-1833.
- [5] Framingham Herz Studie. URL <https://www.framinghamheartstudy.org/>.
- [6] Kenneth Dickstein, Alain Cohen-Solal, Gerasimos Filippatos, John J V McMurray, Piotr Ponikowski, Philip Alexander, Poole-Wilson, Anna Strömberg, Dirk J van Veldhuisen, Dan Atar, Arno W Hoes, Andre Keren, Alexandre Mebazaa, Markku Nieminen, Silvia Giuliana Priori, and Karl Swedberg. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *European Journal of Heart Failure*, 2008.
- [7] Christoph Herrmann-Lingen, Rainer Spinka, and Ferdinand Waldenberger. *Herzinsuffizient: vom Symptom zum Therapieerfolg*. Springer Verlag, 2008.
- [8] Johann Schwegler. *Der Mensch - Anatomie und Physiologie*. Georg Thieme Verlag, 2002.
- [9] Friedrich Fruhwald. Herz- und Niereninsuffizienz aus Sicht des Kardiologen. *Der Mediziner*, 2008. URL <http://www.mediziner.at/upload/4027857-DM-6-2012-HP-FRUHWALD.pdf>.
- [10] Andrew S Levey and Josef Coresh. Chronic kidney disease. *Lancet*, 379(9811):165–180, 2012. ISSN 1474-547X. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60178-5. URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21840587>.

- 
- [11] Friedrich Prischl. Facharztprüfung Innere Medizin. 2003, 2005. URL [http://www.oegim.at/fileadmin/redakteur/downloads/FAP\\_Supplements/fap\\_4\\_05\\_niereninsuffizienz.pdf](http://www.oegim.at/fileadmin/redakteur/downloads/FAP_Supplements/fap_4_05_niereninsuffizienz.pdf).
- [12] C Schwarz. Herzinsuffizienz und Niereninsuffizienz - Konsequenzen bezüglich Prognose und Therapie. *Wiener klinisches Magazin*, 12(4):38–43, 2009. URL <http://link.springer.com/article/10.1007/s00740-009-0172-z>.
- [13] P. Wester and T. Dyckner. Intracellular electrolytes in cardiac failure. *Acta Med Scand Suppl*, 707:33–36, 1986.
- [14] Erich Wintermantel and Suk-Woo Ha. *Medizintechnik - Life Science Engineering*. Springer Verlag, 5 edition, 2009.
- [15] Douglas A Skoog, F James Holler, and Stanley R Crouch. *Instrumentelle Analytik - Grundlagen - Geräte - Anwendungen*. Springer-Verlag, 2013.
- [16] Allen J Bard, Larry R Faulkner, Elizabeth Swain, and Charity Robey. *Electrochemical Methods - Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons, 2001. ISBN 0471043729.
- [17] David Harvey. *Chemistry - Modern Analytical Chemistry*. McGraw-Hill Company, 2008. URL [http://acad.depauw.edu/harvey\\_web/eTextProject/pdf/AnalChem2.0.pdf](http://acad.depauw.edu/harvey_web/eTextProject/pdf/AnalChem2.0.pdf).
- [18] Anette Simonis. Untersuchungen zur Entwicklung einer feldeffektbasierten Biosensoranordnung mit integriertem Referenzsystem. (August), 2006. URL [http://http://publications.rwth-aachen.de/record/61368/files/Simonis\\_Anette.pdf](http://http://publications.rwth-aachen.de/record/61368/files/Simonis_Anette.pdf).
- [19] Matthias Otto. *Analytische Chemie*. Wiley-Vch, 2006.
- [20] Michael Oberstolz. *Skriptum für LV 444.185 VO - Biosensoren - Instrumentelle Analytik*. TU Graz, 2010.
- [21] Peter Gründler. *Chemische Sensoren - Eine Einführung für Naturwissenschaftler und Ingenieure*. Springer-Verlag, 2004.

- [22] Igor N Iezhitsa. Potassium and Magnesium depletions in congestive heart failure. *Clinical Calcium*, 15(11):1885–1895, 2005.
- [23] Yoshio Umezawa, Kayoko Umezawa, and Hitoshi Sato. Selectivity coefficients for ion-selective electrodes: recommended methods for reporting selectivity coefficients values. *Pure and Applied Chemistry*, 67(3):507–518, 1995.
- [24] Karl Cammann. *Das Arbeiten mit ionenselektiven Elektroden - Eine Einführung für Praktiker*. Springer-Verlag, 1996.
- [25] Ernő Pretsch. The new wave of ion-selective electrodes. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26(1):46–51, 2007. ISSN 01659936. doi: 10.1016/j.trac.2006.10.006. URL <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993606002317>.
- [26] Karl Cammann. Ion-Selective Bulk Membranes as Models for Biomembranes Table of Contents. *Biomimetic and Bioorganic Chemistry*, 128:219–259, 1985.
- [27] Thorsten Hoffmann. Quantitative Anorganische Analyse - Elektroanalytische Methoden, 2007. URL <http://www.ak-hoffmann.chemie.uni-mainz.de/pdf/script/AnalytC-Teil-3-folien.pdf>.
- [28] Urs Oesch, Daniel Ammann, and Wilhelm Simon. Ion-Selective Membrane Electrodes for Clinical Use. 1459:1448–1459, 1986.
- [29] Kai Wiegran. Entwicklung elektrochemischer Sensoren zur Bestimmung von Carbonatspezies im Meerwasser. 2000. URL [http://www.familieedermann.de/Dissertation\\_Kai.pdf](http://www.familieedermann.de/Dissertation_Kai.pdf).
- [30] Eric Bakker, Philippe Bühlmann, and Ernő Pretsch. Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes. 1. General Characteristics. *Chemical reviews*, 97(8):3083–3132, 1997. ISSN 1520-6890. URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11851486>.
- [31] Silvia Generelli. *Ion-selective microelectrode arrays for cell culture monitoring par*. PhD thesis, Université de Neuchâtel, 2008. URL [http://infoscience.epfl.ch/record/138275/files/these\\_GenerelliS.pdf](http://infoscience.epfl.ch/record/138275/files/these_GenerelliS.pdf).

- [32] Tamás Ferenc Vigassy. Ionenselektive Elektroden für die Spurenelemente. 2004.
- [33] Cristina Mihali and Nora Vaum. Use of Plasticizers for Electrochemical Sensors.
- [34] Elsayed M Zahran, Andrea New, Vasilis Gavalas, and Leonidas G Bachas. Polymeric plasticizer extends the lifetime of PVC-membrane ion-selective electrodes. *The Analyst*, 139(4):757–763, 2014. ISSN 1364-5528. doi: 10.1039/c3an01963b. URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24352534>.
- [35] Alexander Steinbüchel, Fred Bernd Oppermann-Sanio, Christian Ewering, and Markus Pöttler. *Mikrobiologisches Praktikum - Versuche und Theorie*. Springer-Verlag, 2013.
- [36] Philippe Bühlmann, Ernő Pretsch, and Eric Bakker. Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes . 2 . Ionophores for Potentiometric and Optical Sensors. *Chemical reviews*, 2665(97):1593–1687, 1998.
- [37] MILOSLAV SEMLER and HANA ADAMETZOV. The potassium ion-selective electrodes with PVC Membran. *Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 56:155–159, 1974. URL <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:No+Title#0>.
- [38] Lukasz Tymecki, Elzbieta Zwierkowska, and Robert Koncki. Screen-printed reference electrodes for potentiometric measurements. *Analytica Chimica Acta*, 526(1):3–11, November 2004. ISSN 00032670. doi: 10.1016/j.aca.2004.08.056. URL <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000326700401116X>.
- [39] Jens Marstalerz. Einfluss der Polymermatrix auf Eigenschaften membranbedeckter potentiometrischer Mikrosensoren. 2003. URL [http://sundoc.bibliothek.uni-halle.de/diss-online/03/03H083/of\\_index.htm](http://sundoc.bibliothek.uni-halle.de/diss-online/03/03H083/of_index.htm).
- [40] R Daniel Johnson and Leonidas G Bachas. Ionophore-based ion-selective potentiometric and optical sensors. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 376(3):328–341, 2003. ISSN 1618-2642. doi: 10.1007/s00216-003-1931-0. URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12734632>.

# Abbildungsverzeichnis

1	Bevölkerungsentwicklung der <i>betagten und hochbetagten Personen</i> (ab 80 Jahren) in Österreich zwischen 2011 und 2060 [3]. . . . .	2
2	Jährliche Neuerkrankungen an Herzinsuffizienz in Abhängigkeit vom Alter. Im hohen Alter sind mehr Frauen als Männer von CHF betroffen. Dafür gibt es zwei Gründe: Erstens ist die durchschnittliche Lebenserwartung bei Frauen höher als bei Männern und zweitens erkranken sie häufiger an CHF [7]. . . . .	2
3	Dreielektrodensystem inklusive der Notation der einzelnen Elektroden. . . . .	9
4	Schematische potentiometrische Messanordnung. . . . .	10
5	Struktur von Valinomycin. . . . .	16
6	Apparativer Aufbau zum Dispensieren der Membranen auf die Arbeitselektrode. . . . .	19
7	Apparativer Aufbau der potentiometrischen Messung. Eine Elektrode taucht in eine Messlösung ein und ist über eine modifizierte Flusszelle mit einem EmStat-Potentiostat verbunden. Der Potentiostat ist über einen USB-Anschluss mit einem PC verbunden, der mit Hilfe der PSTrace-Software die Messdaten aufzeichnet. . . . .	20
8	Schematische Darstellung der Printmuster (II) zur Herstellung der Elektroden. (A) Siebdruckschablone für Ag-/AgCl-Schicht, (B) Siebdruckschablone für Karbonschicht (C), Siebdruckschablone Isolationsschicht. I bis III zeigen die schematische Ansicht der Substratfolie vor und nach jedem einzelnen Druckschritt. Um ein Zweielektrodensystem zu erhalten, wurden Referenz- und Gegenelektrode miteinander verbunden. . . . .	22
9	Kalibrierfunktion und logarithmische Trendlinie der Membranen Nr. 1 - 3. . . . .	27
10	Kalibrierfunktion und logarithmische Trendlinie der Membranen Nr. 4 - 6. . . . .	28
11	Kalibrierfunktion und logarithmische Trendlinie der Membranen Nr. 7 - 9. . . . .	29
12	Kalibrierfunktion und logarithmische Trendlinie der Membranen Nr. 10 - 12. . . . .	30
13	Steilheit und Standardabweichung der Membran Nr. 4. . . . .	31

---

14	Kalibrationsverhalten von Membran Nr. 4 und der Einfluss der Leitsalz- kombinationen auf dieses. . . . .	32
15	Potentiometrische Darstellung der $K^+$ -Messung an der Membran Nr. 4. Gefertigt mit und ohne THF. $K^+$ -Konzentration: 1mM, 4mM 7mM und 10mM. . . . .	33
16	Vergleich der Kalibrationskurven der $K^+$ -Messung an der Membran Nr. 4. Gefertigt mit und ohne THF. $K^+$ -Konzentration: 1mM, 4mM 7mM und 10mM. . . . .	34
17	Potentiometrische Darstellung des Standard-Additionsverfahrens $K^+$ gegen $Na^+$ an Membran 4 $K^+$ . Als Beispiel wurde die Messung mit 180 mM Natrium dargestellt. . . . .	36
18	Vergleich der Kalibrationskurven des Standardadditionsverfahrens $K^+$ ge- gen $Na^+$ an Membran 4 $K^+$ . . . . .	36
19	Potentiometrische Darstellung des Standard-Additionsverfahrens $K^+$ gegen $Na^+$ an Membran 4 $Na^+$ . . . . .	37
20	Vergleich der Kalibrationskurven des Standard-Additionsverfahrens $K^+$ ge- gen $Na^+$ an Membran 4 $Na^+$ Als Beispiel wurde die Messung mit 180 mM Natrium dargestellt. . . . .	37
21	Potentiometrische Darstellung des Standard-Additionsverfahrens $K^+$ gegen $Na^+$ an Membran 4 A. . . . .	38
22	Vergleich der Kalibrationskurven des Standardadditionsverfahrens $K^+$ ge- gen $Na^+$ an Membran 4 A. . . . .	38
23	Potentiometrische Darstellung des Standard-Additionsverfahrens $K^+$ ge- gen $Na^+$ an Membran 4 B. Als Beispiel wurde die Messung mit 180 mM Natrium dargestellt. . . . .	39
24	Vergleich der Kalibrationskurven des Standardadditionsverfahrens $K^+$ ge- gen $Na^+$ an Membran 4 B. . . . .	39
25	Kalibriergerade der $K^+$ -Stammlösung (1 mM, 4 mM 7 mM und 10 mM) und $Na^+$ Stammlösung (1mM, 4mM 7mM und 10mM) zur Bestimmung der Selektivitätskoeffizienten nach der SSM, bestimmt an Membran 4 $K^+$ . . . .	40

---

26	Kalibriergerade der $K^+$ -Stammlösung (1 mM, 4 mM, 7 mM und 10 mM) und $Na^+$ -Stammlösung (1mM, 4mM, 7mM und 10mM) zur Bestimmung des Selektivitätskoeffizienten nach der SSM, bestimmt an Membran $Na^+$ . . .	41
27	Kalibriergerade der $K^+$ -Stammlösung (1 mM, 4 mM, 7 mM und 10 mM) und $Na^+$ -Stammlösung (1 mM, 4 mM, 7 mM und 10 mM) zur Bestimmung der Selektivitätskoeffizienten nach der SSM, bestimmt an Membran A. . . . .	42
28	Kalibriergerade der $K^+$ -Stammlösung (1mM, 4mM, 7mM und 10mM) und $Na^+$ -Stammlösung (1mM, 4mM, 7mM und 10mM) zur Bestimmung der Selektivitätskoeffizienten nach der SSM, bestimmt an Membran 4 B . . . . .	43



# Tabellenverzeichnis

1	Membranzusammensetzungen der $K^+$ -sensitiven ISE. Alle Kombinationen enthalten zusätzlich 1 Gew% Valinomycin und zu 1g Membranmaterial wurde 3ml THF hinzugefügt. Membran Nr. 1 wurde aus [24] entnommen, Membran Nr. 4 aus [39] und Membran Nr. 7 aus [34]. . . . .	23
2	Membran Nr. 4 mit unterschiedlichen Leitsalzen. . . . .	24
3	Interne Lösungen und gespikte Lösungen des Standard-Additionverfahrens. Alle Lösungen enthalten zusätzlich 100 mM $Cl^-$ . . . . .	25
4	Parameter der Membran Nr. 1 - 3. Die Membranen enthalten den Weichmacher DOS und das Leitsalz KTpClPB in unterschiedlichen Masseverhältnissen. . . . .	27
5	Parameter der Membran Nr. 4 - 6. Die Membranen enthalten den Weichmacher DOA und das Leitsalz KTpClPB in unterschiedlichen Masseverhältnissen. . . . .	28
6	Parameter der Membran Nr. 7 - 9. Die Membranen enthalten den Weichmacher DOS und das Leitsalz KTFPB in unterschiedlichen Masseverhältnissen. . . . .	29
7	Parameter der Membran Nr. 10 - 12. Die Membranen enthalten den Weichmacher DOA und das Leitsalz KTFPB in unterschiedlichen Masseverhältnissen. . . . .	30
8	Membran Nr. 4 Leitsalzvariationen . . . . .	32
9	Spannungsdifferenzen zwischen $K^+$ - und $Na^+$ -Signal, berechnet aus der Kalibration (s. Abbildung 25). . . . .	40
10	Spannungsdifferenzen zwischen $K^+$ - und $Na^+$ -Signal, berechnet aus der Kalibration (s. Abbildung 26) . . . . .	41
11	Spannungsdifferenzen zwischen $K^+$ - und $Na^+$ -Signal, berechnet aus der Kalibration (s. Abbildung 27) . . . . .	42
12	Spannungsdifferenzen der Membran 4 B. . . . .	43
13	Intra- und extrazelluläre Ionenkonzentration [1]. . . . .	44
14	Selektivitätskoeffizient . . . . .	48