



Fraunhofer Institut
Systemtechnik und
Innovationsforschung

Analyse von Entwicklungstrends in der Biotechnologie

Abschlußbericht Teil 2

Biosensorik

Sybille Hinze
Thomas Reiß

Fraunhofer-Institut für Systemtechnik und Innovationsforschung (FhG-ISI), Karlsruhe

1995

Die diesem Bericht zugrunde liegenden Arbeiten wurden durch eine Zuwendung des Bundesministers für Forschung und Technologie (BMFT) unterstützt.

Förderkennzeichen: 0310468A

ISI-Projekt-Nr.: 107883

ISI-Mitarbeiter: Dipl.-Wissorg. Sybille Hinze

Dr. rer. nat. Thomas Reiß

ISI-Sekretariat: Ilse Gottschalg

Monika Silbereis

Projektleiter: Thomas Reiß

Fraunhofer-Institut für Systemtechnik und Innovationsforschung (ISI)

Breslauer Str. 48

76139 Karlsruhe

Fax: 0721/68 91 52

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	III
1. Einleitung.....	1
1.1 Einführung in die Biosensorik.....	1
1.2 Aufgabenstellung und Vorgehensweise.....	3
2. Transducertypen.....	5
2.1 Elektrochemischer Nachweis.....	5
2.1.1 Amperometrischer Nachweis.....	5
2.1.2 Potentiometrischer Nachweis	6
2.1.3 Konduktometrischer Nachweis.....	6
2.2 Kalorimetrischer Nachweis.....	6
2.3 Akustischer, Piezoelektrischer Nachweis	7
2.4 Optischer Nachweis	7
3. Biologische Komponenten.....	11
3.1 Enzymsensoren.....	11
3.2 Immunsensoren.....	14
3.3 Rezeptroden.....	17
4. Anwendungsbereiche.....	19
4.1 Medizinische Anwendungen.....	20
4.2 Anwendungen in der Lebensmittelindustrie.....	22
4.3 Anwendungen bei der Umweltüberwachung.....	24
4.4 Sonstige Anwendungsbereiche	27

5. Ergebnisse der Delphi-Studie	29
5.1 Delphi-Fragen zur Biosensorik	29
5.2 Realisierungszeiträume.....	31
5.3 Internationaler Vergleich.....	31
5.4 Rahmenbedingungen	32
6. Strategische Entwicklungslinien	35
7. Literaturverzeichnis	37
Anhang 1	41

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

	Seite
Tabelle 1: Biosensorik-relevante Fragen aus dem Delphi-Bericht (sortiert nach dem Median der Realisierungszeiträume).....	30
Abbildung 1: Internationaler Vergleich des FuE-Standes. Die Daten basieren auf den Experteneinschätzungen, welche Nation in FuE führend ist. Es ist der Durchschnittswert der Nennungen in Prozent angegeben.....	32

1. Einleitung

1.1 Einführung in die Biosensorik

Biosensoren sind Analysegeräte, deren Besonderheit in der räumlichen Koppelung einer biologisch aktiven Komponente an einen physikochemischen Signalwandler besteht. Die biologische Komponente dient der Erkennung der nachzuweisenden Substanz (Analyt). Der Signalwandler (Transducer) wandelt die bei der Reaktion von Analyt und biologischer Sensorkomponente auftretenden Informationen in meßbare Größen und verstärkt gleichzeitig die Signale. Sowohl die biologischen Elemente als auch die Signalwandler können unterschiedlicher Natur sein. Biosensoren können somit auf unterschiedlichsten Nachweisprinzipien beruhen. Gemeinsames Ziel der verschiedenen Biosensoren ist es, ein Signal proportional zur Konzentration eines spezifischen Analyten zu erzeugen. Das erste Beispiel eines Biosensors geht zurück auf L. C. Clark, der die nach ihm benannte Sauerstoffelektrode zur Bestimmung der Blutzuckerkonzentration erfand (Clark und Lyons 1962).

In den Biosensoren verdeutlicht sich derzeit am deutlichsten die Tendenz des Zusammenrückens von Biologie und Elektronik. Dieses Zusammenrücken von Forschungsgebieten ist nicht nur im hier dargestellten Untersuchungsfeld typisch. Vielmehr ist die gesamte Technologie am Beginn des 21. Jahrhunderts durch zunehmende Verflechtung gekennzeichnet und "nicht mehr nach herkömmlichen Gesichtspunkten aufteilbar. So verschieden die einzelnen Entwicklungslinien auch sein mögen, sie wirken letztlich alle zusammen" (Grupp (Hrg.)1993, Kurzfassung, S.4).

Biosensoren lassen sich hinsichtlich der Unterschiede in der Wechselwirkung zwischen biologisch aktiver Komponente und Analyt in zwei große Gruppen, die Affinitätssensoren oder auch nicht-katalytischen Sensoren und die Metabolismus- oder katalytischen Sensoren, einteilen. In beiden Fällen werden die den Biomolekülen eigenen selektiven Bindungsmöglichkeiten ausgenutzt.

Bei den *Affinitätssensoren* kommt es zur Komplexbildung zwischen biologisch aktiver Substanz und dem Analyten. Die bei dieser Komplexbildung auftretenden physikochemischen Veränderungen z. B. von Schichtdicke, Brechungsindex, Absorption, Masse oder elektrischer Ladung werden mit Hilfe der elektronischen Komponente des Sensors angezeigt. Der bei der Reaktion entstehende Komplex aus biologisch aktiver Substanz und Analyt wird anschließend wieder aufgespalten. Im Falle der *Metabolismussensoren* katalysiert

dagegen die Biokomponente eine Reaktion und die hiermit verbundenen Konzentrationsveränderungen einer der Komponenten wird gemessen.

Als biologische Komponenten können zur Anwendung kommen:

- Rezeptoren,
- Antikörper,
- Nukleinsäuren,
- Organische Moleküle,
- Enzyme oder Enzymkomponenten,
- Membranen,
- Organellen,
- Zellen,
- Gewebe bzw. Gewebefragmente,
- Organismen.

Die Transducer können folgender Art sein:

- Elektrochemisch,
 - Potentiometrisch,
 - Amperometrisch,
 - Konduktometrisch,
 - Impedimetrisch,
- Optisch,
- Kalorimetrisch,
- Akustisch.

Wie der Biosensor im einzelnen beschaffen ist, d. h. die Art der Kombination von biologischem Element und Transducertyp, hängt von verschiedenen Faktoren ab. Eine bedeutende Rolle bei der Auswahl des geeigneten Transducertyps spielt die Art und Weise der Wechselwirkung von biologischer Komponente und Analyt. Außerdem ist die beabsichtigte Anwendung des Biosensors zu berücksichtigen. Das Interesse, die Herstellungskosten der Geräte zu begrenzen, kann ebenfalls Einfluß auf die Auswahl haben. Die Entscheidung welcher Sensortyp in Zukunft die größte Bedeutung haben wird, kann somit auch nicht pauschal beantwortet werden. Aussagen von Wissenschaftlern zu dieser Frage sind in der Regel stark vom jeweiligen konkreten Beschäftigungsfeld abhängig.

1.2 Aufgabenstellung und Vorgehensweise

Derzeit werden jährlich ca. 1000 Publikationen (einschließlich Patenten) zu Biosensoren veröffentlicht. In etwa 60 Ländern wird Forschung zu diesem Themenbereich betrieben. Weltweit sind etwa 40 Firmen dabei, Biosensorprodukte kommerziell zu verwerfen. (Eine Liste derzeit kommerziell verfügbarer Biosensoren einschließlich der Herstellerfirmen befindet sich im Anhang 1.)

Dieses große internationale Interesse an der Biosensorik spiegelt sich auch in den entsprechenden Förderaktivitäten des BMFT wider. Seit 1988 wird die Biosensorik im Rahmen eines eigenen BMFT-Förderschwerpunktes gezielt gefördert. Innerhalb des 1990 beschlossenen Förderprogramms "Biotechnologie 2000" bildet die Biosensorik einen Schwerpunkt. Ende 1992 wurde vom BMFT eine Zwischenbilanz zur Biosensorik-Förderung vorgestellt (BMFT 1992)

Im Zusammenhang mit Vorüberlegungen zur künftigen Ausgestaltung der BMFT-Förderaktivitäten im Bereich der Biosensorik und vor dem Hintergrund zur Initiierung neuer Forschungsaktivitäten zum Thema "Biomolekulare Funktionssysteme für die Technik" sollte im Rahmen der vom ISI durchgeführten "Analyse von Entwicklungstrends in der Biotechnologie" auch die Biosensorik behandelt werden. Im Rahmen dieses Teils der Untersuchung sollte auch eine Abschätzung der wesentlichen künftigen strategischen Entwicklungslinien der Biosensorik vorgenommen werden.

Die Informationen für die folgende Analyse der Biosensorik stammen einerseits aus den internationalen Expertengesprächen, die im Rahmen der technometrischen Analyse biomolekularer Funktionssysteme (Reiß et al. 1994) geführt wurden. Besonders aufschlußreich erwiesen sich hierbei die Interviews mit führenden japanischen Experten. Andererseits wurde ein Schwerpunkt auf die systematische Analyse der aktuellen Fachliteratur gelegt. Zusätzlich wurden Informationen vom "Dritten Weltkongreß der Biosensorik", der von 1.-3. Juni 1994 in New Orleans stattfand, ausgewertet. Berücksichtigt wurden des weiteren die Ergebnisse zweier Studien zur Technikvorausschau, die am ISI im Auftrag des BMFT erstellt wurden. Es handelt sich hierbei um die Studien "Technologie am Beginn des 21. Jahrhunderts", die vom ISI in enger Zusammenarbeit mit den Projektträgern des BMFT (Grupp (Hrg.) 1993) erstellt wurde, sowie um den "Deutschen Delphi-Bericht zur Entwicklung von Wissenschaft und Technik" (BMFT 1993).

Zunächst werden im folgenden der Stand und die aktuellen Entwicklungen der Biosensorik dargestellt. Diese Analyse konzentriert sich auf die verschiedenen Transducertypen (Kapitel

2) sowie auf die biologischen Komponenten der Biosensoren (Kapitel 3). In Kapitel 4 werden die wichtigsten Anwendungsbereiche der Biosensorik diskutiert. Langfristige Perspektiven werden in Kapitel 5 auf der Basis der deutschen Delphi-Studie (BMFT 1993) vorgestellt. Das abschließende Kapitel 6 erörtert die künftigen strategischen Entwicklungslinien der Biosensorik.

2. Transducertypen

2.1 Elektrochemischer Nachweis

2.1.1 Amperometrischer Nachweis

Die elektrochemischen und darunter insbesondere die amperometrischen Transducer sind die derzeit am häufigsten für die Biosensorik genutzten Signalwandler. Bei der amperometrischen Transduktion wird bei konstant anliegender Spannung die Stärke des Stroms gemessen, der zwischen den Elektroden fließt. Dabei wird der Analyt an der Arbeitselektrode oxidiert oder reduziert. Die gemessene Stromstärke ist dann proportional der Konzentration des zu analysierenden Stoffes an der Elektrodenoberfläche. Aufgrund der Redoxreaktionen an der Elektrode sind amperometrische Transducer der Gefahr des "Elektrodenfouling" und damit verbunden einer sinkenden Sensitivität bis hin zur Inaktivierung des Biosensors ausgesetzt.

Besonders geeignet für die Koppelung mit amperometrischen Transducern sind Enzyme, z. B. Oxidoreduktasen. Die amperometrischen Enzymelektroden bilden auch die Mehrheit der kommerziell verfügbaren Biosensoren. Neben den Enzymen können aber auch die übrigen zur Verfügung stehenden biologischen Komponenten mit amperometrischen Transducern gekoppelt werden.

Es gibt drei verschiedene Möglichkeiten, amperometrische Transducer in Enzymelektroden zur Signalwandlung zu nutzen. Erstens kann die in den weitverbreiteten Sauerstoffelektroden durch das Enzym katalysierte Bildung von Wasserstoffperoxid gemessen werden, wobei mögliche Interferenzen durch diffusionskontrollierende Membranen verringert werden. Zweitens ist es möglich und auch vorteilhaft, anstelle von Sauerstoff als Elektronenakzeptor einen Mediator, in vielen Fällen wird Ferrocen genutzt, (siehe auch Kapitel 3.1) einzusetzen. Dadurch wird einerseits die zusätzliche Membran überflüssig und andererseits die Abhängigkeit von kontinuierlicher Sauerstoffversorgung überwunden. Drittens ist die direkte Reoxidation der reduzierten Enzymmoleküle möglich. Problematisch ist der direkte Elektronentransfer zwischen Protein und Elektrode. Um diesen zu verbessern, wird an geeigneten Modifikationen der Elektrodenoberfläche gearbeitet (Griffith und Hall 1993).

2.1.2 Potentiometrischer Nachweis

Bei der potentiometrischen Transduktion wird im Gegensatz zur amperometrischen die Spannung gemessen, die an die Elektroden anzulegen ist, damit kein Strom fließt. Bei dieser Methode wird keiner der beteiligten Stoffe an der Elektrode oxidiert oder reduziert. Dieser Sensortyp ist somit nicht der Problematik des "Elektrodenfouling" ausgesetzt. Als potentiometrische Transducer können ionenselektive Elektroden, Feldeffekttransistoren und gas-sensitive Elektroden genutzt werden. Ein Vorteil potentiometrischer Transducer ist, daß sie aufgrund der logarithmischen Beziehung zwischen dem Potential an der Elektrode und der Substratkonzentration einen großen Meßbereich haben. Nachteilig ist dagegen, daß die Referenzelektrode besondere Stabilität aufweisen muß. Feldeffekttransistoren ermöglichen die Massenproduktion miniaturisierter Sensoren unter Einsatz von Verfahren aus der Mikroelektronik und sind daher kommerziell interessant. Probleme sind jedoch mit der Immobilisierung der biologischen Komponenten verbunden. Auch Biosensoren mit potentiometrischen Transducern sind bereits kommerziell erhältlich (Griffith und Hall 1993).

2.1.3 Konduktometrischer Nachweis

Durch die Reaktion von biologisch aktiver Sensorkomponente und Analyt kommt es zur Veränderung der Ionenkonzentration in der Lösung. Diese führt zu Veränderungen der Leitfähigkeit, die für die Messung des interessierenden Analyten genutzt werden. Die allgemeinen Prinzipien, die dieser Methode zugrunde liegen, sind bekannt, und eine Reihe von Enzymen sind für die Anwendung in konduktometrischen Transducern geeignet. Der Nachteil konduktometrischer Sensoren ist ihre mangelnde Selektivität und die Anfälligkeit gegenüber Interferenzen durch Substanzen, die neben den Analyten in den Untersuchungsproben vorliegen. Aus diesen Gründen ist die Anwendung anderer Transducertypen in der Regel attraktiver (Griffith und Hall 1993; Vadgama und Crump 1992).

2.2 Kalorimetrischer Nachweis

Der überwiegende Teil der biologischen Reaktionen verläuft exotherm. Transducer auf der Basis kalorimetrischer Nachweismethoden nutzen die bei der Reaktion von biologisch aktiver Sensorkomponente und Analyt auftretenden Temperaturveränderungen zur Messung der Analyten. Kalorimetrische Transducer gibt es in Form von Thermistoren. Thermistoren sind temperaturempfindliche Sensoren, die auf Halbleitern basieren. Zunehmend ist außerdem die Nutzung von mit Hilfe der Dünnschicht-Technik hergestellten "thermopiles".

"Thermopiles" bestehen aus mehreren Thermoelementen. Sie sollen vor allem die Sensitivität der kalorimetrischen Biosensoren erhöhen. Eine dritte Möglichkeit kalorimetrische Transducer zu realisieren, besteht in der Nutzung von licht-aktivierten schwingenden Siliziumbrücken, deren Resonanzfrequenz durch die Temperatur beeinflusst wird und die bereits auf äußerst geringe Temperaturveränderungen reagieren. Ein prinzipieller Nachteil kalorimetrischen Transducer ist ihre Anfälligkeit gegen unspezifische Interferenzen, die auf Temperaturänderungen durch nicht-interessierende Reaktionen beruhen. Die kalorimetrischen Transducer sind nach wie vor ein Bereich mit geringen Forschungsaktivitäten. Die intensivsten Forschungsbemühungen zu kalorimetrischen Biosensoren gibt es derzeit in Schweden (Griffith und Hall 1993; Roe 1992; Newman und Turner 1992).

2.3 Akustischer, Piezoelektrischer Nachweis

Die biologisch aktiven Elemente werden auf piezoelektrischen Kristallen immobilisiert. Durch die Bindung des Analyten an die biologische Sensorkomponente kommt es zu Masseveränderungen, die wiederum die Resonanzfrequenz des Kristalls modifizieren. Diese Veränderung der Resonanzfrequenz sind proportional zur vorliegenden Menge des Analyten und werden als Nachweis genutzt.

Das Interesse an piezoelektrischen Transducern hat in den vergangenen Jahren zugenommen. Ein Vorteil besteht unter anderem in der Verfügbarkeit piezoelektrischer Kristalle, die für die Elektronikindustrie sehr preiswert in Massenproduktion hergestellt werden. Diese Nachweismethode erfordert außerdem keine spezielle Markierung der Substanzen. Nachteilig ist die begrenzte Anwendbarkeit piezoelektrischer Transducer in flüssigen Medien. Sie sind hingegen gut in der Gasphase nutzbar. Weitere Forschungsarbeiten müssen sich auf die Minimierung von Interferenzen durch andere Bindungsvorgänge d. h. auf die Steigerung der Selektivität piezoelektrischer Transducer konzentrieren (Roe 1992; Oh 1993; Newman und Turner 1992).

2.4 Optischer Nachweis

Zunehmend werden optische Transducer für die Signalwandlung in Biosensoren eingesetzt. Gekennzeichnet sind diese optischen Biosensoren durch die Immobilisierung der biologischen Sensorkomponente auf der Oberfläche optischer Fasern. Um die Selektivität der Sensoren zu erhöhen, werden auch in optischen Biosensoren Membranen genutzt, die für die interessierenden Substrate durchlässig sind und die übrigen Bestandteile der Probe zurück-

halten. Die aufgrund der Reaktion von biologisch aktiver Sensorkomponente und Analyt resultierenden Veränderungen verschiedener optischer Eigenschaften wie Absorption, Fluoreszenz oder Phosphoreszenz, Bio- oder Chemolumineszenz, Brechungsindex oder Reflexion werden zur Messung der interessierenden Analyte ausgenutzt. Weiterhin ist es möglich, Eigenschaften der Ausbreitung des Lichts in Faseroptiken wie die Oberflächenplasmon-Resonanz bzw. das Überschießen einer Lichtwelle bei der Totalreflexion für Biosensoren zu nutzen (Schultz 1991, Vadgama und Crump 1992, Newman und Turner 1992).

Vielversprechend und die einfachste Form der optischen Transduktion ist die Ausnutzung von Intensitätsänderungen des absorbierten oder emittierten Lichtes, die durch die Reaktion der biologischen Sensorkomponente mit dem Analyten hervorgerufen wird. Dieses Verfahren wird bereits für verschiedenste Analyte genutzt und geht zurück auf einen optischen pH-Sensor (Newman und Turner 1992).

Das Verfahren der Oberflächenplasmon-Resonanz wird unter anderem in dem von der schwedischen Firma Pharmacia kommerziell angebotenen Biosensor "BIAcore", der derzeit für Forschungszwecke insbesondere in der pharmazeutischen Industrie genutzt wird, verwendet (siehe auch Kapitel 4.4).

Am weitesten verbreitet, wenn auch noch nicht breit kommerziell verfügbar, sind optische Biosensoren mit Antikörpern als biologisch aktiven Elementen (Vadgama und Crump 1993). Hierzu zählen faseroptische Immunsensoren, die extrinsisch oder intrinsisch konzipiert sein können. Extrinsische Sensoren nutzen die optische Faser als Lichttransmitter zwischen Meßinstrument und externem Transducer, bei intrinsischen Sensoren wird die Veränderung physikalischer Eigenschaften in der optischen Faser direkt gemessen (Scheper und Müller et al. 1994).

Die wichtigsten Vorteile optischer Biosensoren bestehen in ihrer Kompaktheit, der mechanischen Flexibilität sowie der Flexibilität in der Anwendung, der extrem geringen Probengröße, ihrer Unempfindlichkeit gegenüber Veränderungen elektromagnetischer Felder sowie ihrer guten Biokompatibilität (Scheper und Müller et al. 1994). Vorteilhaft ist außerdem die Möglichkeit, interessierende Analyte direkt, d. h. ohne zusätzliche Markierung nachweisen zu können.

Wie auch bei den übrigen Transducertypen, so ist auch hier der Immobilisierung der biologisch aktiven Komponente weitere Aufmerksamkeit in der Forschung zu widmen.

Insgesamt ist zu bemerken, daß sich die Schwerpunkte, auf die sich weitere Forschungsarbeiten konzentrieren sollten, so unterschiedlich die verwendeten Transducer auch sind, in allen Bereichen gleichen. In dieser Hinsicht werden folgende Aufgaben identifiziert, die zu verfolgen sind:

- Miniaturisierung,
- Optimierung der Immobilisierung,
- Steigerung der Selektivität, d. h. Senkung der Anfälligkeit gegenüber Interferenzen,
- Schaffung der Möglichkeiten zur Massenproduktion.

3. Biologische Komponenten

3.1 Enzymsensoren

Wie auch der Weltkongreß "Biosensor 94" wiederum zeigte, sind *Enzymelektroden* derzeit die am weitesten verbreiteten Biosensoren und stellen auch den größten Anteil unter den zur Zeit kommerziell erhältlichen Biosensoren. Am häufigsten werden dabei *Oxidasen* als Enzym verwendet. Prinzipiell sind natürliche Enzyme, ganze Enzymsysteme, gentechnisch modifizierte Enzyme sowie auch sogenannte "künstliche Enzyme" einsetzbar. Die Enzyme liegen in immobilisierter Form vor. Bei der Reaktion zwischen Analyt und biokatalytischer Komponente entsteht ein Reaktionsprodukt, das der Transducer erkennt. Diese Information wird in ein der Konzentration des interessierenden Analyten entsprechendes elektrisches oder sonstiges Signal umgewandelt und gemessen. Substrate, die analysiert wurden, sind unter anderen Lactat, Ascorbat, Oxalat und Pyruvat. Der bei weitem am häufigsten verwendete Analyt, auf den sich ein großer Teil der Forschungen konzentrierte und konzentriert, ist Glucose.

Biosensoren mit Enzymen als biologisch aktiver Substanz können mit verschiedenen Transducertypen gekoppelt werden. Die Auswahl ist in der Regel an die angestrebte Anwendung und somit die Arbeitsbedingungen des Biosensors gebunden. So wird bei Vorliegen von starken elektrischen oder magnetischen Feldern in der Umgebung der Messungen die Entscheidung zugunsten optischer Transducer fallen. Spielt hingegen die Antwortzeit des Sensors eine große Rolle, so sind elektrochemische Transducer zu bevorzugen (Roe 1992).

Eines der schwerwiegendsten Probleme der Biosensoren ist die mangelnde *Langzeitstabilität* der biologischen Komponenten. Diese zu erhöhen, ist auch weiterhin ein zentrales Forschungsziel. Auch die angestrebte *Miniaturisierung* der Biosensoren wird durch diesen Problemkreis beeinflusst. Mikrosensorarrays, die aus vielen Sensoren auf kleinster Fläche bestehen, erfordern stabilere Enzymkomponenten. Die Sensoren, die in diesem Fall eine geringere Anzahl immobilisierter Enzyme aufweisen, wären ansonsten in noch kürzerer Zeit inaktiviert. Die Verwendung von Enzymen thermophiler Bakterien bildet hier einen Lösungsansatz. Weitere Möglichkeiten bieten der Einschluß der Enzyme in Polymerfilme, die chemische oder gentechnische Modifizierung der Enzyme an sich oder auch die Synthese künstlicher Enzyme. Langzeitstabilität ist insbesondere für Biosensoren, die für den *in vivo* Gebrauch gedacht sind, eine unverzichtbare Bedingung. (Yacynych 1992, Koudelka-Hep et al. 1992).

Von zentraler Bedeutung ist eine *optimale Immobilisierung*, da diese Einfluß sowohl auf die Antwortzeit des Sensors als auch auf die Enzymstabilität und somit auf die Lebenszeit des Sensors insgesamt hat. Vorteilhaft wäre eine Möglichkeit zur Aufbringung der immobilisierten Enzyme unter Nutzung von Techniken, wie sie aus der Mikroelektronik bekannt sind, z. B. die Dünnschicht-Beschichtungstechnik oder verschiedene "printing"-Methoden. Diese ermöglichen die Massenproduktion von Biosensoren, wodurch wiederum die Entwicklung, Herstellung und Anwendung von Biosensoren auch unter ökonomischen Gesichtspunkten attraktiver werden würde (Roe 1992, Newman und Turner 1994).

Hohe *Spezifität* ist eine der am häufigsten geforderten Eigenschaften von Biosensoren, da die interessierenden Analyte in der Regel in komplexen, nicht genau definierten Proben vorliegen. Ist die Spezifität des Sensors zu gering, so ist in der Regel eine aufwendige Probenvorbereitung vorzunehmen. Bei den häufig verwendeten Sauerstoffelektroden ist mangelnde Spezifität nicht auf die biologische Sensorkomponente, sondern auf die begrenzte Selektivität der Elektroden zurückzuführen, da diese oftmals nicht zwischen dem Wasserstoffperoxid, das durch die enzymatische Reaktion von biologischer Sensorkomponente und Analyt gebildet wurde, und anderen oxidierbaren Substanzen in der Probe unterscheiden können. Dadurch kann es zu beträchtlichen Interferenzen kommen (Yacynych 1992).

Die Verwendung von Sauerstoff als finalem Elektronenakzeptor ist mit einigen Nachteilen verbunden. Aus diesem Grund werden nun *Mediatoren* an Stelle des Sauerstoffs genutzt. Hierbei hat sich Ferrocen bereits als Standardmediator herauskristallisiert. Weitere Mediatoren wurden bereits getestet. Durch die Verwendung von Mediatoren zur Oxidation an der Elektrode wird das System von Schwankungen in der Sauerstoffversorgung unabhängig (Roe 1992, Hall 1992).

Ein weiteres Problem ist das *Elektrodenfouling*, hervorgerufen durch die Adsorption nicht-elektroaktiver Substanzen an der Elektrode. Dadurch kommt es zur Inaktivierung des Biosensors. Die Beschichtung der Elektroden mit Polymerfilmen bietet Schutz sowohl gegen Fouling-Prozesse als auch gegen auftretende Interferenzen und kann außerdem die Stabilität der verwendeten Enzyme erhöhen. Die Kombination von Interferenzen und Elektrodenfouling stellt ein ernstzunehmendes Hemmnis für den erfolgreichen Einsatz elektrochemischer Biosensoren dar (Yacynych 1992).

Ein Problem, das sich bei der Analyse von unbekanntem Proben ergibt, besteht in der Begrenztheit des *linearen Meßbereiches* aufgrund der Sättigungskinetik der Enzyme. Dieses Problem kann durch die Verwendung von diffusionsbegrenzenden Membranen, welche die Diffusionsrate des Analyts steuern und somit die Substratkonzentration an der Enzym-

schicht unterhalb des Sättigungsschwellwertes begrenzen, gelöst werden. Die Optimierung der Porengröße der Membran kann positive Auswirkungen hinsichtlich der Vergrößerung des optimalen Meßbereiches des Sensors haben (Atkin 1993). Neuerdings werden in diesem Zusammenhang biomimetische Membranen und hierbei insbesondere "lipid bilayer"-Filme eingesetzt. Aufgrund der Stabilität erscheinen Liposomen für die Anwendung als "lipid bilayer" als besonders geeignet. Für den angestrebten *in vivo* Einsatz von Biosensoren sind Polyurethane die mit am häufigsten genutzten Grenzmembranen, da sie insbesondere ihre *in vivo* Eignung bereits beim Einsatz in künstlichen Organen bewiesen haben. Weiter zu verbessern sind die *Herstellungsprozesse für Membranen*. Die *Dick-Film-Technik*, der Mikroelektronik entlehnt, bietet geeignete Möglichkeiten zur Massenproduktion von Enzymelektroden beschichtet mit mehrschichtigen Membranen. Dies ist ebenso eine Variante für die Realisierung von *Multi-Channel-Geräten*. Der Nachteil der membranbeschichteten Enzymelektroden liegt in der Erhöhung der Antwortzeiten aufgrund der zusätzlichen Diffusionswege. Durch die Reduzierung der Membranstärke, z. B. durch Verwendung neuer diffusionsresistenter Materialien, können diese Antwortzeiten wieder verringert werden (Vadgama und Crump 1992, Yacynych 1992, Koudelka-Hep et al. 1992).

Weitere Probleme von Enzymbiosensoren liegen in deren Empfindlichkeit gegenüber Veränderungen im pH-Wert, der Ionenstärke, Schwermetallionen und organischen Inhibitoren. Außerdem reagieren sie in der Regel äußerst sensibel auf Temperaturschwankungen. Zum irreversiblen Verlust ihrer Aktivität kommt es etwa bei Temperaturen ab 50°C. Um dieses Problem zu lösen, werden z. B. Techniken zur Verkapselung der Biosensoren entwickelt, die den Einsatz in aggressiven Umgebungen ermöglichen. Eine Alternative besteht außerdem in der Entwicklung künstlicher Enzyme, die gegenüber den Umgebungseigenschaften weniger empfindlich sind. Hinsichtlich der Steigerung der Stabilität der Enzyme werden auch Impulse durch gentechnische Ansätze, die auf eine gezielte Optimierung von Eigenschaften abzielen, erwartet (Scheller et al. 1992).

Ein weiterer Trend geht hin zur Nutzung von *zellulären Materialien* (intakte Zellen oder Zellkompartimente) als Alternative zu isolierten Enzymen, da die Enzyme in diesem Fall in ihrer natürlichen Umgebung vorliegen. Es wird davon ausgegangen, daß somit auch ihre natürliche Stabilität erhalten bleiben kann. Bisher wurde jedoch noch keine signifikante Erhöhung der Lebensdauer nachgewiesen, auch wenn es bereits einige erfolgreiche Beispiele gibt, bei denen die Lebensdauer der Biosensoren auf der Basis zellulärer Materialien auf 30 bis 60 Tage ausgedehnt werden konnte. Forschungsarbeiten gibt es derzeit zu bakteriellen Zellen, Pilzen und pflanzlichen- sowie tierischen Geweben. Der Nachteil der zellulären Biosensoren gegenüber den Enzymsensoren besteht primär in deren geringerer Selektivität. Diese Sensoren können aber für die Analyse von ganzen Gruppen von Substraten Verwen-

dung finden. Ein mögliches Anwendungsfeld ist ihr Einsatz in Toxizitätssensoren für das Umweltmonitoring (siehe Abschnitt 4.3). Die Sensitivität der zellulären Sensoren läßt sich andererseits durch Modifikationen sei es durch Anwendung von Methoden der Gentechnik oder auch durch einfache Hemmung oder Auslösung von chemischen Stoffwechselabläufen steigern (Wijesuriya und Rechnitz 1993, Vadgama und Crump 1992).

Forschungsfragen und Entwicklungstrends

Folgende *Problembereiche*, die Gegenstand zukünftiger Arbeiten sein sollten, lassen sich bezüglich der Biosensoren mit Enzymen als biologisch aktiver Substanz identifizieren:

- Immobilisierung der Enzyme,
- Empfindlichkeit gegenüber Schwankungen der Umgebungsbedingungen,
- mangelnde Stabilität der Enzyme und damit mangelnde Lebensdauer der Sensoren,
- relativ hohe Antwortzeiten,
- mangelnde Sensitivität,
- Begrenztheit des optimalen Meßbereiches,
- Interferenzen durch nicht-interessierende Substanzen,
- Elektrodenfouling,

Weitere zu verfolgende Entwicklungsrichtungen, um unter anderem die oben genannten Probleme zu lösen und den Einsatz dieser Biosensoren attraktiver zu gestalten, sind:

- Entwicklung künstlicher Enzyme bzw. Modifikation der bekannten Enzyme, die weniger empfindlich auf veränderte Bedingungen reagieren,
- Nutzung zellulärer Systeme zur Erhöhung der Stabilität der Sensoren,
- Einführung neuer Immobilisierungstechniken in Anlehnung an Techniken aus der Mikroelektronik und damit auch,
- Ermöglichung der Massenproduktion.

3.2 Immunsensoren

Immunsensoren sind durch die Nutzung von immobilisierten Antikörpern oder auch Antigenen als biologisch aktive Sensorkomponente gekennzeichnet. Es können sowohl polyklonale oder monoklonale Antikörper als auch Antikörperfragmente eingesetzt werden. Der Vorteil von monoklonalen Antikörpern liegt in ihrer höheren Selektivität. Immunsensoren arbeiten nach zwei Funktionsprinzipien. Zum einen ist der direkte Nachweis der Antigen-Antikörper-Reaktion, bei dem die immunchemische Komplexbildung unter Nutzung von optischen, massensensitiven und thermometrischen Transducern gemessen wird, möglich. Der direkte

elektrochemische Nachweis der Antigen-Antikörper-Reaktion war dagegen bisher wenig erfolgreich, da bei dieser Reaktion kein elektrochemisch nachweisbares Signal entsteht (Scheller und Schubert 1989, Aberl et al. 1992). Zum anderen können indirekte Nachweismethoden genutzt werden. Dabei werden entweder die Antikörper oder die Antigene mit Enzymen, fluoreszierenden Stoffen oder anderen, elektrochemisch aktiven Substraten markiert.

Es gibt prinzipiell drei verschiedene Nachweismethoden, die auf konventionelle Immuntests zurückgehen:

- kompetitive Bindungstests,
- Zwei-Seiten-Bindungstests (Sandwich Tests),
- Verdrängungstests (Oh 1993).

Auf eine nähere Erläuterung dieser Methoden wird an dieser Stelle verzichtet. Zu den Immunsensoren mit indirekter Messung gehören z. B. die Enzymimmunsensoren. Hierbei wird eine Markierung mit elektroaktiven Substanzen vorgenommen. Dieser Sensortyp verbindet die Vorteile der Immunsensoren - die hohe Selektivität der Antigen-Antikörper-Reaktion, mit denen der Enzymsensoren - die hohe Sensitivität aufgrund des enzymatischen Verstärkungseffektes -. Weiterhin können durch den Einsatz von Ferrocen als Mediator separationsfreie Immunsensoren (homogene Immunsensoren) realisiert werden. Dieser Sensortyp weist eine kürzere Antwortzeit auf, als derjenige in dem ein Separationsschritt durchzuführen ist (heterogene Immunsensoren). Untersuchungen haben jedoch auch gezeigt, daß die heterogenen Sensoren in der Regel sensitiver und weniger anfällig gegen Interferenzen und das Elektrodenfouling sind. Aufgrund der Irreversibilität der Antigen-Antikörper-Bindung sind diese Sensoren für kontinuierliche Messungen nicht geeignet (Scheller und Schubert 1989).

Eine Weiterentwicklung der Enzymimmunsensoren besteht in der Verwendung von Membranen auf denen die Antikörper immobilisiert sind. Vorteilhaft ist die höhere Schnelligkeit und die einfache Handhabbarkeit dieses Sensortyps. Dafür ist jedoch die Sensitivität geringer (Scheller und Schubert 1989).

Zunehmend werden Immunsensoren mit optischen Transducern gekoppelt. Überhaupt bilden Antikörper in den meisten Fällen der Nutzung optischer Methoden der Transduktion die biologisch aktive Sensorkomponente. Es können verschiedene optische Nachweismethoden zur Anwendung kommen. So ist es möglich, auf der Spitze von optischen Fasern Antikörper oder deren Fragmente zu immobilisieren, und die durch die Bindung an das entsprechende Antigen hervorgerufenen Fluoreszenzveränderungen zu messen. Weiterzuentwickeln sind

auch hier die Methoden der Immobilisierung. Beispielsweise sind Arbeiten angelaufen, die darauf abzielen, durch kontrollierte Immobilisierung verschiedene Reagenzien auf der Faser Spitze zu lokalisieren, um so den gleichzeitigen Nachweis verschiedener Analyte zu ermöglichen (Vadgama und Crump 1992).

Ein weiteres optisches Phänomen, das für die Konstruktion von Immunsensoren genutzt werden kann, ist die Totalreflexion. Dabei kommt es zum Überschreiten einer Lichtwelle in das umgebende Medium. Auf dem Lichtleiter werden Antikörper immobilisiert, an die sich Antigene binden. Hierbei kommt es zum Wettkampf um Antigenbindungsstellen zwischen fluoreszenzmarkierten und in der zu analysierenden Probe befindlichen unmarkierten Antigenen. Anhand der Fluoreszenzmessung kann die Menge des in der Probe befindlichen Analyts ermittelt werden. Möglich sind weiterhin die Messung der durch die Antigen-Antikörper-Reaktion hervorgerufenen Veränderungen des Brechungsindex oder der optischen Beugung. Bisher hat sich gezeigt, daß Sensoren, die auf der Basis markierter Antikörper arbeiten, eine höhere Sensitivität aufweisen als die mit unmarkierten Antikörpern arbeitenden (Vadgama und Crump 1992).

Auch die Oberflächenplasmon-Resonanz kommt in Immunsensoren zur Anwendung. Hier entfällt das Markieren der Antikörper. Auch hier wird die überschießende Lichtwelle genutzt. Der Lichtwellenleiter wird mit einem elektrisch leitenden Metall beschichtet. Dieser Metallfilm ermöglicht dem Licht eine zusätzliche Ausbreitung in Form eines Plasmons. Es kommt zur Vergrößerung des Winkels der Totalreflexion, der von der Menge des an der Metallschicht, an der Antikörpern immobilisiert sind, adsorbierten Analyts abhängt. Prinzipiell sind Biosensoren auf der Basis der Oberflächenplasmon-Resonanz vielfältig und vor allem mit verschiedensten biologisch aktiven Elementen nutzbar. Dieser Sensortyp ist bereits kommerziell verfügbar und wird von der Firma Pharmacia angeboten (s. Kap. 4.4) (Schultz 1991, Vadgama und Crump 1992).

Vorteile der Immunsensoren sind deren vergleichsweise hohe Selektivität und Sensitivität. Außerdem sind sie gut geeignet, um miniaturisierte und damit tragbarere Geräte zu realisieren. Der größte Nachteil der Immunsensoren besteht in der mangelnden Reversibilität der Antigen-Antikörper Reaktion, so daß die Oberfläche mit den immobilisierten Antikörpern regelmäßig ausgetauscht werden muß. Dieses Problem kann, z. B. durch die Entwicklung von Wegwerfsensoren, umgangen werden. Eine andere Möglichkeit besteht in der Entwicklung von reversiblen und wiederverwendbaren Biomolekülen, wie z. B. katalytischen Antikörpern. Durch die Verwendung katalytischer Antikörper können weiterhin Vorteile von Immun- und Enzymsensoren miteinander verbunden werden. Für die Gewinnung der katalytischen Antikörper werden monoklonale Antikörper produziert, die auf ihre katalytischen

Eigenschaften hin überprüft werden. Auch durch Nutzung selektiver chemischer Methoden oder durch "site-directed mutagenesis" können katalytische Eigenschaften bei Antikörpern mit definierter Spezifität erreicht werden (Oh 1993).

Forschungsfragen und Entwicklungstrends

Folgende Punkte sind für die weitere Entwicklung der Immunsensoren wesentlich:

- Gewährleistung der Reversibilität der Antikörper-Antigen-Reaktion,
- Entwicklung und Nutzung von monoklonalen Antikörpern.

Auffällig ist, daß es sich bei den grundlegenden Problemen um die gleichen handelt, die bereits für die Enzymsensoren identifiziert werden konnten, und die somit als allgemeine Forschungsfragen für die weitere Entwicklung der Biosensorik überhaupt zu betrachten sind:

- Verbesserung der Immobilisierungstechniken und damit auch Ermöglichung von Sensoren, die den Nachweis mehrerer Analyte ermöglichen,
- Senken der Antwortzeiten,
- Erhöhung von Selektivität und Sensitivität,
- Verbesserung der Produktionsmethoden und letztendlich Ermöglichung der Massenproduktion.

3.3 Rezeptroden

Neben Enzymen und Antikörpern können auch intakte biologische Rezeptoren in Biosensoren zur Anwendung kommen. Für Biosensoren mit Rezeptoren als biologisch aktiver Sensorkomponente wurde der Begriff "Rezeptrode" geprägt. Die Arbeiten in diesem Bereich sind gekennzeichnet durch die enge Verflechtung von Neuroelektrophysiologie und Biosensortechnologie. Die Entwicklung von "Rezeptroden" ist durch zwei Richtungen gekennzeichnet: Zum einen werden isolierte Rezeptoren verwendet und zum anderen kommen ganze Rezeptorsysteme zum Einsatz (Wijesuriya und Rechnitz 1993).

Die Idee der Verwendung von Rezeptoren wurde erstmals 1975 aufgegriffen und seitdem insbesondere von der Arbeitsgruppe um G. Rechnitz an der Universität von Hawaii verfolgt. Dort werden z. B. Fühler der Blauen Krabbe als Elemente zur Erkennung von Aminosäuren eingesetzt. Dabei werden die freigelegten Nervenfasern mit einer Elektrode verbunden. Kommen diese in Kontakt mit der nachzuweisenden Substanz, so entsteht ein Aktionspotential, das sich durch die Nervenzellen fortpflanzt und dessen Frequenz von der Konzentration der nachzuweisenden Substanz abhängig ist. Wobei insbesondere der quantifizierbare

Nachweis, der durch die "Integration der Kurven des Reaktionsverlaufes" (Scheller und Schubert 1989, S.280) realisiert werden kann, noch problematisch ist. Weitere Aktivitäten gibt es z. B. in Japan in der Gruppe von I. Karube. Dort wird jedoch mit isolierten Rezeptoren gearbeitet. Eine Lipidschicht, die den Rezeptor enthält (z. B. einen "nicotinic acetylcholine" Rezeptor der aus dem Zitteraal isoliert wurde) wird an einen ionensensitiven Feldeffekttransistor gekoppelt. Dadurch wird der Nachweis von Acetylcholin möglich. Interessant ist die Nutzung künstlicher Lipidmembranen, welche die biologischen Rezeptoren enthalten und die durch die Langmuir-Blodgett-Technik hergestellt werden können (Scheller und Schubert 1989, Roe 1992, Wijesuriya und Rechnitz 1993).

Rezeptoren bzw. ganze Rezeptorsysteme sind im Prinzip gut als biologisch aktive Sensor-komponenten geeignet. Rezeptorsysteme lassen sich insbesondere für die Erkennung von Chemikaliengruppen nutzen. Daher könnten sie z. B. für die Messung von Umweltverunreinigungen geeignet sein. Dagegen zeichnen sich isolierte Rezeptoren durch eine höhere Selektivität aus. Problematisch sind die komplexe Struktur von Neurorezeptoren, ihre Labilität bei Zimmertemperaturen und damit ihre Instabilität. Isolierte Rezeptoren konnten bisher nur in geringer Anzahl und diese auch nur in geringen Mengen isoliert werden. Problematisch ist außerdem die Koppelung der Rezeptoren an den Transducer. Aus diesen Gründen ist die Anwendung von Rezeptoren in der Biosensorik nach wie vor stark begrenzt. Eine kommerzielle Nutzung zeichnet sich derzeit noch nicht ab. Weiterhin ist davon auszugehen, daß die Verfolgung dieses Ansatzes sehr kosten- und zeitintensiv ist.

4. Anwendungsbereiche

Biosensoren sind vielfältig einsetzbar. Der potentielle Markt für Biosensoren läßt sich derzeit jedoch nur schwer abschätzen. Allerdings erscheinen die Ende der 80er, Anfang der 90er Jahre prognostizierten Marktentwicklungen für Biosensor-Produkte aus heutiger Sicht zu optimistisch. Die technischen Probleme, die bei der Produktentwicklung auftreten, sind bei diesen Schätzungen in der Regel unterbewertet worden. Insbesondere der Übergang vom Labormuster zum marktfähigen Produkt und der Übergang zur Massenproduktion, die eine nicht zu unterschätzende Rolle für den ökonomischen Erfolg der Biosensoren auf dem Markt spielt, bereiten doch mehr Schwierigkeiten als zunächst erwartet worden waren. Die hohen Entwicklungskosten sind zudem oftmals ein zusätzliches Hindernis für die Umsetzung der vorliegenden Labormuster in kommerziell verwertbare Produkte.

Wesentliche Hemmnisse für den Marktzugang der Biosensortechnik liegen in dem derzeit noch sehr arbeitsintensiven Herstellungsprozeß und der begrenzten Lagerfähigkeit der Biosensoren, die in der Regel auf die geringe Lebensdauer der biologischen Komponenten zurückzuführen ist.

Drei Strategien zur Verbesserung der Marktchancen der Biosensoren können unterschieden werden: Biosensoren können sich erfolgreich durchsetzen, wenn sie *eine den konventionellen Analysetechniken überlegene Alternative* darstellen, oder wenn sie es ermöglichen *bekannte Analysen in neuen Umgebungen* durchzuführen oder wenn durch sie *vollständig neue Analysen* angeboten werden (Newman und Turner 1994).

Potentielle Anwendungsgebiete für Biosensoren sind:

- die Medizin,
- die Umweltüberwachung,
- die Lebensmittel- und Getränkeindustrie,
- die Landwirtschaft,
- die Prozessüberwachung in anderen Branchen z. B. in der Chemischen-, der Pharma- und der Petrochemischen Industrie,
- der militärische Sektor,
- die Forschung.

Derzeit wird die Biosensorik eindeutig durch die Anwendungen innerhalb der Medizin dominiert. Prognosen gehen davon aus, daß die medizinischen Anwendungen zumindest in der absehbaren Zukunft über 80 % des gesamten Biosensor-Marktes ausmachen werden (Morris und Higgins 1993, S. 43). Auch die wenigen Biosensoren, die es heute schon am

Markt gibt, konzentrieren sich zum überwiegenden Teil im Bereich der medizinischen Anwendungen, insbesondere in der *in vitro* Diagnostik. Biosensoren besitzen zwar ein großes Potential, auch in die übrigen Anwendungsgebiete vorzustoßen, diese Anwendungsbereiche sind jedoch in der Regel stark fragmentiert und hochspezialisiert. Sie bieten somit nur begrenzte Möglichkeiten der kommerziellen Ausbeutung eines Produktes, was insbesondere unter Berücksichtigung des hohen, für die Entwicklung von Biosensoren notwendigen FuE-Aufwandes hemmend wirkt.

4.1 Medizinische Anwendungen

Der medizinische Bereich ist derzeit mit Abstand das wichtigste Anwendungsfeld für Biosensoren. Eine Veränderung dieser Situation ist derzeit auch nicht absehbar. Zurückzuführen ist diese Dominanz vor allem auf die Existenz großer potentieller Marktsegmente für den Einsatz von Biosensoren. Innerhalb der Medizin ist die Diagnostik der größte Anwendungsbereich. Insbesondere bei Diabeteserkrankungen haben Biosensoren bereits den Weg in die kommerzielle Anwendung gefunden. Der überwiegende Teil der existierenden und auch der kommerziell verfügbaren Biosensoren dient dem Glucose-Nachweis. In diesem Bereich gibt es bereits miniaturisierte Geräte in Kugelschreibergröße, die insbesondere für die Anwendung beim Patienten zu Hause erfolgreich genutzt werden.

Insgesamt können die Anwendungen innerhalb der medizinischen Diagnostik in die Bereiche *in vivo* bzw. *in vitro* Überwachung unterteilt werden, wobei der *in vitro* Diagnostik der größere Anteil zukommt (Griffith und Hall 1993). Die *in vitro* Diagnostik war in den letzten Jahren - insgesamt betrachtet - durch schnelles Wachstum gekennzeichnet. Unter anderem durch zunehmende Maßnahmen zur Überwachung des Kosten-Nutzen-Verhältnisses innerhalb des Gesundheitswesens - auch im internationalen Rahmen -, scheint diese intensive Wachstumsphase nun beendet zu sein.

Für die *in vitro* Diagnostik lassen sich Biosensoren in drei Teilbereichen anwenden, das sind:

- zentralisierte Analysen,
- dezentralisierte Analysen,
- Analysen durch den Patienten selbst.

Den größten Marktanteil weist zur Zeit die zentralisierte Analytik in speziell dafür ausgerüsteten Labors auf. Im Prinzip ist die Anwendung von Biosensoren überall dort denkbar, wo sie ihre Vorteile gegenüber der herkömmlichen Technik deutlich machen können. Die Chan-

cen für Biosensoren, in diesen zum größten Teil gut etablierten Markt eindringen zu können, liegen primär in ihrer Anwendung in automatisierten Analysegeräten. Zum Teil werden sie bereits erfolgreich eingesetzt. Damit sich Biosensoren in diesen automatisierten Analysegeräten gegenüber Konkurrenztechniken durchsetzen können, sollten die folgenden Voraussetzungen erfüllt sein:

- ein reduzierter Verbrauch an Reagenzien,
- eine hohe Spezifität,
- die Verbesserung der Präzision,
- reduzierte Antwortzeiten,
- ein höherer Probendurchlauf,
- eine Vereinfachung der Informationsauswertung,
- ein geringerer Aufwand bei der Probenvorbereitung,

(Morris und Higgins 1993).

Der Einsatz von Biosensoren bietet sich auch für den nicht-zentralisierten Bereich der medizinischen Diagnostik, d. h. direkt in den Praxen der behandelnden Ärzte, an. Der Vorteil der dezentralisierten Analytik liegt insbesondere in der Zeitersparnis und den somit dem Arzt sofort zur Verfügung stehenden Analyseergebnissen, die für die Diagnose von Bedeutung sind. Wesentliche Bedingungen für die Realisierung dieser dezentralisierten Analysen sind die Zuverlässigkeit und die einfache Handhabbarkeit der Tests, so daß nicht notwendigerweise speziell ausgebildetes Laborpersonal erforderlich ist. Die größten Chancen werden für Geräte vorausgesagt, die direkt am Krankenbett der Patienten genutzt werden können.

Einen dritten Einsatzbereich innerhalb der *in vitro* Diagnostik bilden die Geräte, die direkt durch den Patienten selbst angewandt werden können. Eine große Rolle spielt hier wiederum die Überwachung des Blutzuckerspiegels bei Diabetespatienten. In diesem Bereich gibt es bereits einige sehr erfolgreiche Geräte am Markt wie z. B. den "ExacTech" Glucose-sensor von Medisense (USA) oder auch "Glucocard" von Kyoto Daiichi (Japan).

Neben der *in vitro* Diagnostik wird auch der Einsatz von Biosensoren in der *in vivo* Diagnostik angestrebt. Hier gibt es jedoch noch eine Reihe von technischen Problemen insbesondere bezüglich der Biokompatibilität, Allergenität sowie der Zuverlässigkeit und Lebensdauer der Biosensoren zu lösen, bevor *in vivo* Biosensoren die Marktreife erlangen. Eine nicht zu unterschätzende Bedeutung kommt dem Problemkreis eines eventuellen Versagens der *in vivo* Biosensoren zu. Neben den technischen Problemen sind auch ethische Aspekte des Einsatzes von Biosensoren im menschlichen Körper zu berücksichtigen (Morris und Higgins 1993, Griffith und Hall 1993).

4.2 Anwendungen in der Lebensmittelindustrie

Nur langsam halten Biosensoren auch Einzug in die Lebensmittelindustrie. Dieser Industriezweig war bisher als besonders konservativ bei der Einführung neuer Methoden bekannt und liegt auch bezüglich der FuE-Intensität mit nur 0,7 % des Umsatzes (1992), die in Forschung und Entwicklung investiert werden, an drittletzter Stelle unter den 12 großen Wirtschaftszweigen der Bundesrepublik (Koschatzky und Maßfeller 1994, S. 239). Diese geringe FuE-Intensität ist aber auch international typisch. Als zusätzliches Problem für die Einführung von Biosensoren in die Lebensmittel- und Getränkeindustrie gilt die relativ starke Fragmentierung und Spezialisierung des Bereiches. Dies zeigt sich in der Vielfalt der verwendeten Materialien, der Diversität der Prozesse und der Spannbreite der physikalischen Bedingungen unter denen die Prozesse in der Lebensmittelherstellung ablaufen. Daher wäre die Entwicklung von Biosensoren mit sehr individuellen Charakteristika erforderlich, was wiederum die Bereitstellung entsprechender finanzieller Mittel voraussetzen würde (Severs 1994).

Trotz der beschriebenen Probleme sind auch innerhalb der Lebensmittel- und Getränkeindustrie verschiedene Anwendungsbereiche für den Einsatz von Biosensoren denkbar. Sie können für den Nachweis von Verunreinigungen in Lebensmitteln und Getränken (z. B. mit Toxinen, Mikroorganismen, Pestiziden oder Insektiziden), die Bestimmung der Produktinhaltsstoffe, die Überwachung der Umwandlung der Ausgangsmaterialien sowie für die Bewertung der Frische von Lebensmitteln eingesetzt werden. Unter den wenigen Biosensoren, die heute schon in der Lebensmittel- und Getränkeindustrie eingesetzt werden, dominieren *amperometrische Enzymsensoren* (primär auf der Basis immobilisierter Oxidasen), die relativ preisgünstig und einfach zu handhaben sind. Die wichtigsten Anwendungen sind die Bestimmung des Glucose- oder Saccharosegehaltes bzw. des Lactatgehaltes der Produkte. Zunehmend wird Sensoren, die auf die Bewertung der Frische von Lebensmitteln (z. B. von Fisch) gerichtet sind, Aufmerksamkeit zuteil (Luong et al. 1991, Severs 1994).

In der Entwicklung befinden sich verschiedene *mikrobielle Biosensoren*, die beispielsweise für die Bestimmung von Glucose, Essigsäure, Äthanol, Methanol, Ammoniak und Nystatin geeignet sind. Die wichtigsten *Nachteile* mikrobieller Biosensoren sind deren geringe Selektivität und die vergleichsweise langen Antwortzeiten. Sie sind daher primär als Forschungsgeräte für den Einsatz im Labor geeignet.

Neben diesen Sensortypen wurden auch Biosensoren, die auf tierischem oder pflanzlichem *Gewebe* oder *Gewebeteilen* basieren u. a. für den Nachweis von Glutamin, Adenosin, Glutamat, Pyruvat und Cytosin entwickelt.

Hinsichtlich der Transducertypen ist neben den amperometrischen Sensoren auch der Einsatz von *piezoelektrischen Sensoren*, insbesondere beschichtet mit Antikörpern, Enzymen oder organischen Materialien, vielversprechend. Sie können für den Nachweis von Pestiziden, Hormonen, Antibiotika und Mikroorganismen in Lebensmitteln eingesetzt werden. Kontinuierliches *online-Monitoring* kann durch die Koppelung mit *Flow-Injection-Analysesystemen* gewährleistet werden. Hierdurch ergibt sich außerdem die Möglichkeit der Koppelung verschiedener piezoelektrischer Biosensoren, so daß innerhalb einer komplexen Lösung verschiedene Inhaltsstoffe nachgewiesen werden können. Bis zur tatsächlichen kommerziellen Nutzung von piezoelektrischen Biosensoren, sind noch einige *Probleme* zu lösen. Es sind beispielsweise weitere Arbeiten notwendig, um die Veränderungen der Oszillationsfrequenz der in die Lösung eintauchenden piezoelektrischen Kristalle besser zu verstehen. Nicht geeignet sind piezoelektrische Biosensoren, die auf Antikörper-Antigen Reaktionen basieren für den Einsatz in multiplen Analysesystemen, da die gebundenen Analyte nur schwer von der Oberfläche der piezoelektrischen Kristalle zu lösen sind. Dieses Problem könnte u. a. durch die Entwicklung von Wegwerfsensoren gelöst werden, zumal kleine Kristalle relativ preiswert herstellbar sind.

Kalorimetrische Biosensoren können insbesondere für Analysen in trüben und stark chromogenen Lösungen genutzt werden, in denen die Anwendung von elektrochemischen oder optischen Transducern problematisch ist. Ein entsprechendes Gerät wird von der schwedischen Firma Thermometric inzwischen auch kommerziell angeboten (siehe Anhang 1). Ein wesentliches Hemmnis für die breite Anwendung dieses Gerätes in der Lebensmittelindustrie ist sein mit ca. \$ 20.000 - 30.000 doch vergleichsweise hoher Preis. Als vielversprechende Richtung erscheint die Entwicklung von *mikrokalorimetrischen Systemen unter Verwendung von Dünnfilm-Temperatursensoren*.

In der Entwicklung für die Anwendung in der Lebensmittelindustrie sind auch *Halbleitersensoren*. Problematisch bei diesem Sensortyp ist die Koppelung der biologischen Komponente an die Oberfläche des Halbleiters.

Auch die Anwendung von *faseroptischen Sensoren* ist in der Lebensmittelindustrie denkbar. Sie erscheinen als besonders geeignet für online-Monitoring Prozesse, da sie auch in saurer Umgebung, wie sie für viele Prozesse in der Lebensmittelindustrie typisch ist, zum Einsatz kommen können.

Wie unter anderem die Fragen zur Biosensorik (siehe Tabelle 1) innerhalb der Delphi-Studie belegen, wird langfristig die Entwicklung von *hochsensitiven Geruchs- und Geschmackssensoren* für den Einsatz in der Lebensmittel- und Getränkeindustrie angestrebt. Bemerkens-

weiterweise haben in Japan heute schon Unternehmen damit begonnen, grundlegende Aspekte derartiger Sensoren zu erforschen. Weiterhin scheint auch die Entwicklung *kompletter Überwachungssysteme* für die Produktionsprozesse in der Lebensmittelindustrie auch unter Nutzung von Biosensoren einschließlich der Koppelung der Sensorkomponenten an hochentwickelte Auswerteeinheiten von Interesse zu sein. Auch zu dieser Thematik haben die japanischen Experten eine Frage für die Delphi-Studie ausgewählt.

4.3 Anwendungen bei der Umweltüberwachung

Das Umweltmonitoring ist derzeit nach der Medizin international der bedeutendste Einsatzbereich für Biosensoren. Diese Entwicklung ist unter anderem auf neue gesetzliche Regelungen mit Auswirkungen auf den Umweltschutz und die Einhaltung von Umweltnormen zurückzuführen, die insgesamt zu einer steigenden Nachfrage nach Analysemethoden für das Umweltmonitoring führen (Severs 1994).

Wie im Lebensmittelbereich sind auch innerhalb des Umweltmonitoring die meisten möglichen Anwendungsfelder für Biosensoren stark spezialisiert und fragmentiert, d. h. eine Vielzahl von sehr individuell ausgeprägten Sensoren wäre zu entwickeln, um der Vielzahl der möglichen Verunreinigungen wie auch den verschiedenen Umweltmedien gerecht zu werden. Ebenso zahlreich wie die potentiell nachzuweisenden Substanzen sind die Variationen der Umgebungsbedingungen unter denen die Biosensoren zuverlässig arbeiten müssen.

Für das Umweltmonitoring stehen auch eine Reihe konventioneller Analysemethoden zur Verfügung, die jedoch in der Regel relativ zeitaufwendig und teuer sind und die zudem meist nur in speziell ausgestatteten Labors mit gut ausgebildetem Personal realisierbar sind. Ein wesentlicher Vorteil, den der Einsatz von Biosensoren bringen soll, liegt daher in der vereinfachten Durchführung von Analysen und der Kostenreduzierung.

Den größten Einsatzbereich für Biosensoren innerhalb des Umweltmonitoring stellt die Wasseranalytik dar. Hier ist der Einsatz von Biosensoren sowohl für Analysen von Meerwasser, Flüssen und Seen als auch von Abwässern oder Trinkwasserreservoirs denkbar. Nachgewiesen werden sollen Verunreinigungen aller Art wie z. B. durch chemische Rückstände, Pestizide, Herbizide, Insektizide, Toxine und Mikroorganismen (van der Lelie et al. 1994, Griffith und Hall 1993). Vor allem in Japan wird der Gewässerüberwachung mit Biosensoren große Bedeutung zugeschrieben. Man denkt dort beispielsweise an die Entwicklung kompletter Überwachungssysteme für fließende Gewässer auf Biosensorbasis. Hieraus könnte sich künftig ein Markt für Massenanwendungen entwickeln.

Trotz der starken Fragmentierung des Anwendungsbereiches Umweltmonitoring erscheint insbesondere die Entwicklung von *allgemeinen Toxizitätssensoren* zum unspezifischen Nachweis von Verunreinigungen als vielversprechende Entwicklungsrichtung der Biosensorik. Diese Toxizitätssensoren, die sich im Gegensatz zu anderen Biosensoren nicht durch eine hohe Spezifität für eine konkrete Substanz auszeichnen, sind dazu gedacht, eine möglichst hohe Anzahl von Verunreinigungen anzeigen zu können. Sie können insbesondere als *Frühwarnsysteme* eingesetzt werden. Aufgrund der Vielzahl der möglichen Umgebungsbedingungen, denen diese Art von Sensoren ausgesetzt sein werden, sind an sie spezielle Anforderungen hinsichtlich der *Robustheit, Verlässlichkeit und Lebensdauer* zu stellen (Griffith und Hall 1993, Bains 1992).

Wie in den übrigen Anwendungsbereichen, so können auch für das Umweltmonitoring Enzyme, Rezeptoren oder Antikörper als biologisch aktive Sensorkomponenten zur Anwendung kommen. Besonders geeignet als allgemeine Toxizitätssensoren scheinen Biosensoren zu sein, deren biologisch aktive Komponente aus *zellulärem Material* besteht. In der Regel werden bakterielle Zellen als immobilisierte biologische Sensorkomponente verwendet. Kürzlich ist es der Gruppe von Aizawa am Tokyo Institute of Technology (Ikariyama et al. 1993) gelungen, gentechnisch einen optischen E. coli-Biosensor zu konstruieren, der ganze Chemikaliengruppen durch Lumineszenz anzeigt. Es werden aber auch bereits Zellkulturen von Säugetieren genutzt (Molecular Devices, USA; University of Bath, GB). Sensoren, die Zellkulturen von Säugetieren verwenden, sind jedoch noch nicht soweit in der Entwicklung fortgeschritten wie diejenigen auf der Basis von Bakterien.

Eine wesentliche Rolle bei der Überwachung von Kläranlagen spielt die Messung des biologischen Sauerstoffbedarfs (BSB bzw. BOD (engl.)). Die übliche Meßmethode benötigt fünf Tage und ist somit beispielsweise für die schnelle Analyse bei Betriebsstörungen oder Einleitungsschwankungen nur bedingt geeignet. Daher wurden vor allem in Japan und in Deutschland BOD-Biosensoren entwickelt, die eine schnelle BOD-Messung ermöglichen. Diese Geräte sind bereits auf dem Markt erhältlich. Aufgrund der begrenzten Anzahl potentieller Anwender (Betreiber kommunaler Kläranlagen), die zudem die etablierte Konkurrenztechnik schon installiert haben, dürfte der BOD-Sensor allerdings kaum ein Massenprodukt werden.

Einige wenige dieser unspezifischen Toxizitätssensoren unter Nutzung von bakteriellen Zellen befinden sich bereits in der Anwendung. So gibt es von der Firma Central Kagaku (Japan) ein System "Rodtox". Von der deutschen GBI (Genossenschaft Berliner Ingenieure) gibt es das System "ToxAlarm" und die amerikanische Firma Microbics Corp. verfügt über das System "Microtox", das auf der Basis von Lumineszenzmessungen arbeitet. Der Nachteil

dieser Systeme ist in der Regel, daß es sich nicht um Sensoren für den kontinuierlichen Gebrauch, sondern um "Batch-Analysen" handelt. Aus diesem Grund ist ihr Einsatz im Umweltmonitoring nach wie vor begrenzt (van der Lelie et al. 1994, Bains 1992).

Neben den unspezifischen Toxizitäts- und BOD-Sensoren gibt es aber auch Bedarf nach und Nischen für spezifischere Biosensoren im Umweltmonitoring. Ihr Einsatz würde sich auf spezielle, relativ klar definierte Einsatzumgebungen, wie zum Beispiel die Abwasserkontrolle in definierten Industriebetrieben oder Analysen in stark landwirtschaftlich genutzten Regionen, konzentrieren. Gearbeitet wird zum Beispiel an der Entwicklung von *Herbizid-Sensoren* (Cranfield Institute of Technology, Großbritannien) und an Sensoren zum Nachweis von *Schwermetallen* (Max Mergaey: VITO, Mol, Belgien). Für den spezifischen Nachweis von Schwermetallionen werden beispielsweise *gereinigte metallbindenden Proteinen* als biologisch aktive Sensorkomponente genutzt. Der Vorteil dieses Sensortyps besteht in der potentiell geringeren Beeinflussung durch Interferenzen von anderen toxischen Substanzen (van der Lelie 1994). Als besonders erfolgversprechend erscheint die Entwicklung von metallbindenden Biosensoren unter Nutzung von immobilisierten Proteinen. Hier liegen die Vorteile in einer höheren Selektivität und in deren geringerer Anfälligkeit gegenüber Inaktivierung. Weiterhin werden Optimierungen der Meßbereiche erwartet. Bisher konnten jedoch erst wenige schwermetallbindende Proteine von Bakterien isoliert und gereinigt werden. Insbesondere liegen zu wenige Informationen über die biochemischen Eigenschaften dieser metallbindenden Proteine vor. Hier sind weitere Arbeiten notwendig. Insgesamt handelt es sich bei den spezifischen Umwelt-Biosensoren um eine neue Entwicklungsrichtung, die erst vereinzelt zu marktfähigen Produkten geführt hat.

Damit Biosensoren im Bereich Umweltmonitoring den erfolgreichen Markteintritt erreichen und sich insbesondere gegenüber den konventionellen Analyseverfahren (Gaschromatographie, Massenspektroskopie, chemische Sensoren, chemische Nachweisreaktionen, Ionenbeweglichkeits-Spektrometrie oder Immunoassays) durchsetzen können, müssen sie stärker den Anforderungen des Einsatzbereiches angepaßt werden und ihre Vorteile gegenüber diesen Verfahren beweisen. Vorteile sollten sich bezüglich der *Sensitivität*, *Selektivität* (eine gewisse Ausnahme bilden hier die allgemeinen Toxizitätssensoren), der *Antwortzeit*, der *Reduzierung des für die Vorbereitung der Proben notwendigen Aufwands* und des *Meßbereichs* zeigen. Außerdem sollten sie eine *einfache Handhabung* gewährleisten und *effektiv* und *kostengünstig herstellbar* sein. Von besonderem Interesse ist die Entwicklung von *real-time* Biosensoren, die z. B. bei Schadstoffabbauprozessen eingesetzt werden können (Rogers und Lin 1992).

4.4 Sonstige Anwendungsbereiche

Landwirtschaft

Auch in der Landwirtschaft gibt es eine Reihe potentieller Anwendungsbereiche für den Einsatz von Biosensoren. Sie können unter anderem für die Diagnose von viralen, bakteriellen oder Pilzkrankungen von Pflanzen oder Tieren genutzt werden. Wie die meisten anderen Anwendungsbereiche, so sind auch in der Landwirtschaft die potentiellen Einsatzfelder der Biosensoren durch hohe Spezialisierung gekennzeichnet, die einer breiten Entwicklung von Biosensoren für diesen Bereich derzeit entgegensteht (Griffith und Hall 1993).

Forschung

Biosensoren können auch in Forschung und Entwicklung Anwendung finden. Ein Beispiel dafür ist das Gerät "BIAcore" der schwedischen Firma Pharmacia. Dieses Gerät ermöglicht in Echtzeit biospezifische Interaktionsanalysen (BIA), d. h. Analysen, die helfen die Zusammenhänge zwischen Molekularstruktur und biologischer Funktion aufzudecken bzw. das Wissen über die aufgrund von Wechselwirkungen der Moleküle realisierten molekularen Funktionen zu erhöhen. Diese Fragen lassen sich nach Ansicht vieler Wissenschaftler am besten durch die molekulare Affinität, Assoziations- und Dissoziationsraten sowie die Stöchiometrie, mit der molekulare Komplexe gebildet werden, beschreiben (Carson 1994). Zu deren Untersuchung sind fortgeschrittene Analysetechniken notwendig, die nun unter anderem durch "BIAcore" zur Verfügung gestellt werden. Genutzt wird hierbei ein optischer Sensor der auf der Basis der Oberflächenplasmon-Resonanz oder "Surface Plasmon Resonance" (SPR) arbeitet. Mit ca. \$ 300.000 ist dieses Gerät jedoch ausgesprochen teuer und wird bisher primär von Pharmaunternehmen genutzt. Ein Vergleich der Entwicklungskosten des Gerätes mit der Marktgröße wird mit Sicherheit ergeben, daß die finanziellen Aufwendungen für FuE am Markt derzeit nicht einlösbar sind. Pharmacia verspricht sich jedoch von dem Gerät gerade durch seinen Einsatz im FuE-Bereich auch, daß Wissen akkumuliert werden kann, das den späteren Einsatz des Gerätes für Routineanalysen möglich macht. Hier zeigt sich, daß nicht ausschließlich kurzfristige Interessen bei der Entwicklung von Biosensoren eine Rolle spielen können (Morris und Higgins 1993).

Militär

Neben vielfältigen zivilen Einsatzbereichen ist die Entwicklung von Biosensoren nicht zuletzt auch für militärische Einsatzbereiche relevant. Insbesondere die Entwicklung von transportablen Sensoren für den Nachweis von biologischen Kampfmitteln (Pathogene) oder

chemischen Kampfstoffen (Chemikalien oder Giftgase) aber auch von Sprengstoffen oder Drogen steht im Mittelpunkt des Interesses der Militärs (Griffith und Hall 1993). Auch hier zeigt sich vor allem die Nachfrage nach Geräten, die für *real-time* Messungen geeignet sind.

Insbesondere in den USA gibt es im Rahmen des Biotechnologie-Programms des Verteidigungsministeriums (Department of Defense (DOD)) auch einen Schwerpunkt zur Entwicklung der Biosensortechnologie. Dabei geht es sowohl um die Erforschung allgemeiner Funktionsprinzipien als auch um die Entwicklung konkreter Biosensoren. Es werden verschiedene Typen der möglichen biologischen Komponenten (Antikörper, Rezeptoren, Enzyme, DNA/RNA) genutzt. Unter anderem wird an der Entwicklung von *multiplen Sensor-systemen* gearbeitet, die auf der Basis verschiedener zur Verfügung stehender Techniken und unter Ausnutzung von Mustererkennungsprozessen arbeiten. Diese Arbeiten befinden sich allerdings noch im Anfangsstadium. Mit ihrer Fertigstellung wird nicht vor 1996 gerechnet. Für das Auffinden von Sprengstoffen und Drogen wird an der Entwicklung von *Geruchssensoren* gearbeitet. Mit ihrer Fertigstellung wird für 1995 gerechnet. Verglichen mit den Einschätzungen, wie sie im Rahmen der Delphi-Studie zu Geruchssensoren vorgenommen wurden (siehe Kapitel 5.2), erscheint diese Erwartung für die Realisierung von Geruchssensoren als sehr optimistisch. Für den Nachweis von Organismen, die am "Biofouling" beteiligt sind sowie von Mikroorganismen, die zum biologischen Schadstoffabbau beitragen, werden Biosensoren auf der Basis von *DNA/RNA-Proben* entwickelt. Hier wird der Durchbruch für 1994/1995 erwartet (Marron 1992).

5. Ergebnisse der Delphi-Studie

Die vom ISI für das BMFT durchgeführte Delphi-Befragung (BMFT 1993) enthält auch mehrere Fragen mit Relevanz für die Biosensorik. Die Experten wurden nicht nur nach ihrer Einschätzung der Realisierungszeiträume einzelner Entwicklungen befragt, sondern auch nach ihrer Bewertung des internationalen Standes und der entscheidenden Rahmenbedingungen für die künftige Entwicklung. Im folgenden werden die entsprechenden Ergebnisse für die Biosensorik dargestellt.

5.1 Delphi-Fragen zur Biosensorik

Zum einen gibt es unter den betrachteten Teilgebieten die Bioelektronik, deren Fragen sich zu einem beträchtlichen Teil auf Entwicklungen zur Biosensorik beziehen. Zum anderen wurden alle übrigen Teilgebiete, die durch den Delphi-Bericht abgedeckt wurden, nach relevanten Fragen zur Biosensorik überprüft. So wurden insgesamt 19 Fragen zur Biosensorik in den Teilgebieten Werkstoffe und Verfahrenstechnik, Elektronik und Informationstechnik, Biowissenschaften, Land- und Forstwirtschaft, Fischerei und Medizin gefunden und ausgewertet. Die entsprechenden Fragen wurden in Tabelle 1 zusammengefaßt. Zu beachten ist, daß die Fragen des Delphi-Berichtes in Japan generiert wurden, daher ist es möglich, daß sie nicht unbedingt repräsentativ für das Gesamtgebiet Biosensorik sind, sondern insbesondere die japanische Sichtweise des Gebietes widerspiegeln.

Die Fragen konzentrieren sich zu einem großen Anteil auf Bereiche, die für die Anwendung von Biosensoren relevant sind. Überwiegend werden Themen abgedeckt, die sich auch in der ausgewerteten Literatur als weiter zu verfolgende Entwicklungsrichtungen oder Problemkreise herauskristallisiert hatten. Hierzu zählen die weitere Verbesserung der Sensitivität, die Erhöhung der Lebensdauer und die weitere Miniaturisierung der Biosensoren. Ebenfalls angesprochen wird die Entwicklung von implantierbaren Geräten, die neben *in vivo* Biosensoren zur Überwachung gleichzeitig Komponenten zur Realisierung der Therapiefunktion integrieren. Ebenfalls im Zusammenhang mit den *in vivo* Biosensoren kann die Frage zu den sich selbst regenerierenden Biosensoren gesehen werden, da insbesondere bei *in vivo* Geräten ein eventuelles Versagen der Sensoren dramatische Auswirkungen nach sich ziehen könnte. Ein weiteres Thema ist die Koppelung der Biosensoren mit Auswerteeinheiten bis hin zur Entwicklung komplexer Systeme zur Überwachung von Industrieprozessen. Neben diesen anwendungsorientierten Fragen konzentrieren sich weitere Fragen auf die Verbesserung der verwendeten Membranen und anderer Bioanlogmaterialien, die sensorische Funktionen realisieren können.

Tabelle 1: Biosensorik-relevante Fragen aus dem Delphi-Bericht (sortiert nach dem Median der Realisierungszeiträume)

Frage	Wichtigkeit	Zeitraum		Notwendigkeit der int. Zusammenarbeit	Internationaler Vergleich des Ist-Standes				Mögliche Herausgabe % (bis 2 Antworten)									
		Q1	Q2		Index	USA führend	Japan führend	Ausland führend	Deutschland führend	keine Meinung	Technische Probleme	Vorschriften	Kulturelle Faktoren	Kostenfaktoren	Kapitalmangel	geringer Ausbildungsstand	Fuß-System unzureichend	andere Probleme
Biosensorik																		
3 / 53	62	1999	2003	2008	59	28	46	5	8	36	59	0	0	21	15	0	13	3
9 / 26	50	2000	2004	2010	64	5	15	10	0	70	55	0	0	40	15	0	0	10
9 / 66	47	1999	2004	2009	74	8	4	21	0	67	54	0	0	17	13	0	23	0
2 / 50	67	2001	2005	2013	58	24	8	8	12	52	72	16	16	0	0	0	8	8
3 / 18	68	2002	2006	2010	60	19	37	9	16	47	72	5	2	23	19	0	14	2
1 / 59	67	2003	2007	2020	73	19	13	0	6	63	69	0	0	6	6	0	38	0
2 / 43	51	2006	2008	2011	68	14	19	10	14	57	76	5	0	29	5	0	10	10
2 / 47	39	2003	2008	2017	49	8	4	8	4	75	79	0	0	17	0	0	17	0
2 / 49	77	2003	2009	2014	74	29	12	12	12	47	94	0	0	12	0	0	12	0
2 / 44	51	2006	2010	2017	55	13	13	3	3	70	70	7	7	17	0	0	7	7
3 / 38	51	2006	2010	2016	70	23	18	14	9	68	52	5	0	14	23	0	9	5
15 / 41	45	2004	2011	2016	62	19	27	15	4	46	54	4	0	38	12	6	12	8
2 / 52	40	2006	2011	2015	51	13	4	9	4	74	65	4	30	4	0	0	17	4
2 / 48	57	2007	2011	2019	63	22	17	17	11	44	83	6	0	6	0	0	22	0
9 / 68	17	2003	2015	2019	32	0	6	6	0	88	25	0	6	6	6	0	19	6
2 / 46	34	2008	2016	2021	42	7	4	7	0	81	81	4	15	11	4	0	15	0
2 / 85	26	2008	2016	2022	51	6	3	13	0	81	46	0	16	10	0	0	19	6
2 / 45	24	2008	2017	2021	41	4	4	8	0	83	67	0	13	4	4	0	13	0
3 / 57	46	2007	2018	2022	72	19	14	0	0	76	43	0	10	14	5	0	38	0

5.2 Realisierungszeiträume

Für die Mehrzahl der Probleme wird eine Lösung erst nach dem Jahr 2000 gesehen. Auch nur die optimistischsten Einschätzungen gehen bei der Frage zur Integration von Datenverarbeitungsfunktionen in Biosensoren von einer Realisierung noch vor der Jahrtausendwende aus. Gleiches trifft für die Frage zur Entwicklung von Biosensoren für die kontinuierliche Beobachtung von Wachstumsprozessen zu. Im Durchschnitt wird aber auch für diese Fragen die Lösung erst für die Jahre 2003 bzw. 2004 erwartet. Ebenfalls für 2004 wird der mit der breiten Nutzung von Biosensoren zur Überwachung und Steuerung von Prozeßabläufen insbesondere in der Lebensmittelindustrie gerechnet. Die Anwendung implantierbarer Biosensoren in der Medizin wird etwa für das Jahr 2005 vorausgesagt. Die Lösung des Problems der begrenzten Lebensdauer von Biosensoren läßt nach Aussagen der Experten noch bis zum Jahr 2009 auf sich warten. Erst dann sollen Biosensoren mit einer Lebensdauer von über drei Jahren zur Verfügung stehen. Die Entwicklung von Biosensoren, die über die Fähigkeit verfügen sich selbst zu regenerieren, wird für 2011 erwartet. Noch am weitesten von der Realisierung entfernt ist der Einsatz von Geruchs- oder Geschmackssensoren. Ihre Entwicklung wird für 2015 bis 2017 angenommen.

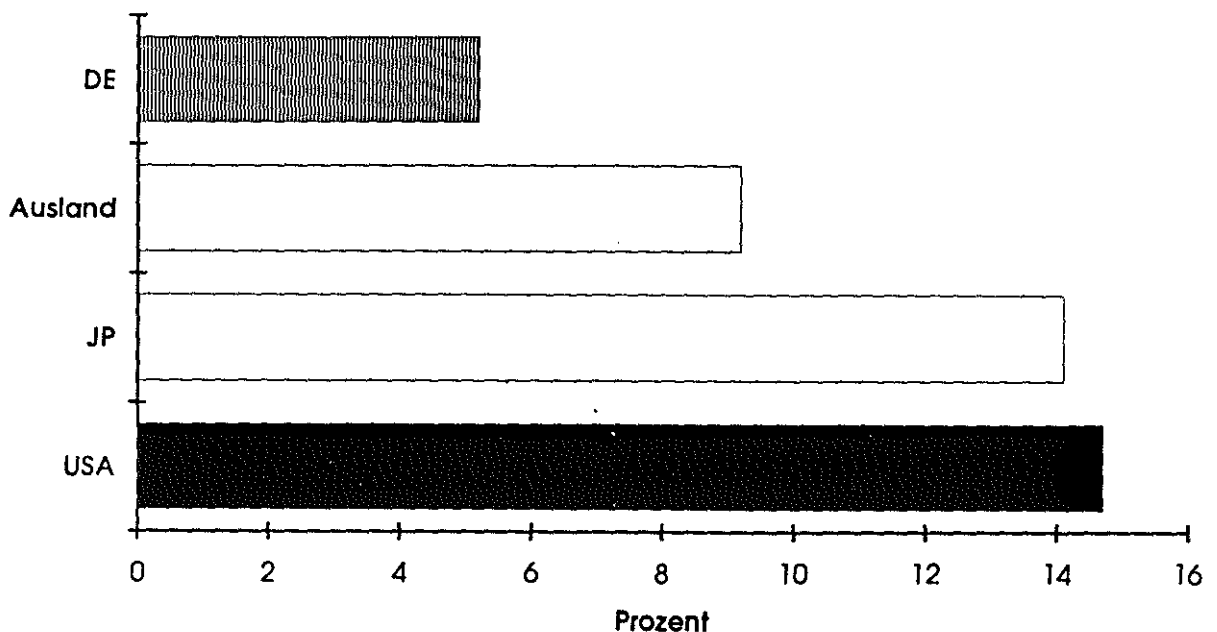
5.3 Internationaler Vergleich

Die befragten Experten sollten unter anderem auch eine Einschätzung zum internationalen Leistungsstand vornehmen. Auffallend ist, daß der Anteil derjenigen, die diese Frage nicht beantwortet haben außerordentlich hoch ist. Durchschnittlich etwa 65 % der Befragten konnten keine Angaben zur Frage bezüglich des internationalen Vergleiches des FuE-Standes machen. Aus diesem Grund sollten die folgenden Aussagen nur als grobe Anhaltspunkte gewertet werden.

Wie Abbildung 1 zeigt, wird im Durchschnitt über alle Biosensorik-relevanten Themen der Delphi-Befragung den USA und Japan fast ebenso häufig die international führende Position zugesprochen. Die Kategorie "Ausland" umfaßt weitere Länder außer den USA, Japan und der Bundesrepublik. Eine genauere Auflösung, welche Länder innerhalb dieser Kategorie im einzelnen gemeint sind, ob sich ein Land speziell hervortut oder ob sich hinter dieser Kategorie eine Reihe zusätzlicher Akteure verbergen, ist anhand der vorliegenden Daten nicht möglich. In jedem Fall, so zeigt Abbildung 1, liegt die Bundesrepublik Deutschland hinter dieser Sammelkategorie "Ausland" auf dem vierten Rang. Der Abstand zu den in der Mehrheit als führend eingeschätzten USA und Japan erscheint doch recht deutlich. In der als am wichtigsten eingeschätzten Frage zur Erhöhung der Lebensdauer der Biosensoren wurden

die USA am häufigsten als führende Nation genannt. Deutschland und Japan liegen gleichauf, aber mit deutlichem Abstand dahinter. Nach Einschätzung der Experten bereitet die Lösung dieser Frage technisch auch die größten Probleme. Weitere als wichtig eingestuft Fragen betreffen die Entwicklung von Membranen mit aktivem Transportmechanismus und Rezeptoren zum Empfang von Signalen sowie den Einsatz implantierbarer Biosensoren. Auch in diesen Bereichen sind die meisten Experten der Meinung, daß die USA die führende Position in FuE innehaben. In der Forschung zu implantierbaren Biosensoren liegt Deutschland nach Meinung der Experten hinter den USA an zweiter Stelle. Deutlich wird Japan die führende Position bei den ebenfalls als wichtig eingestuften Fragen zur Entwicklung von Biosensoren mit integrierter Datenverarbeitungsfunktion bzw. der Entwicklung von hochintegrierten Biosensoren zugesprochen. Deutschland liegt in der Entwicklung hochintegrierter Biosensoren etwa gleichauf mit den USA.

Abbildung 1: Internationaler Vergleich des FuE-Standes. Die Daten basieren auf den Experteneinschätzungen, welche Nation in FuE führend ist. Es ist der Durchschnittswert der Nennungen in Prozent angegeben.



5.4 Rahmenbedingungen

Als die Entwicklung hemmende Faktoren wurden in erster Linie technische Probleme identifiziert. Durchschnittlich 61 % der Befragten sehen hier Hemmnisse für die Entwicklung der Biosensorik. Auffallend ist, daß gerade beim wichtigsten Thema der Biosensorik, näm-

lich der Entwicklung von längerlebigen Biosensoren (Frage 2/49, Wichtigkeitsindex 77), auch die größten technischen Probleme gesehen werden. Mit jeweils durchschnittlich 16 % folgen Kostenfaktoren und Mängel im FuE-System. Abgeschlagen mit im Durchschnitt etwa 6 % werden Kapitalmangel und kulturelle Faktoren als die Entwicklung hemmend betrachtet. Existierende Vorschriften werden kaum als Hindernis für die Entwicklung der Biosensorik genannt. Eine Ausnahme bildet hier ausschließlich der Bereich der implantierbaren Systeme. In diesem Fall sind im Durchschnitt 16 % der Befragten der Ansicht, daß existierende Vorschriften entwicklungshemmend wirken.



6. Strategische Entwicklungslinien

Insgesamt gesehen lassen sich die Richtungen, die sich für die zukünftige Entwicklung der Biosensorik abzeichnen, in den folgenden Punkten zusammenfassen:

1. Weitere Forschungsarbeiten sind hinsichtlich der Optimierung der bereits bekannten Biosensoren durchzuführen. Dahinter verbirgt sich die Verbesserung der Sensoreigenschaften. So sind die *Sensitivität* und die *Selektivität* der Sensoren weiter zu erhöhen und damit die Anfälligkeit gegenüber unspezifischen Interferenzen zu senken. Desweiteren ist die *Langzeitstabilität* der biologischen Sensorkomponenten zu steigern, um damit die *Lebensdauer* der Biosensoren insgesamt zu erhöhen. Angestrebt ist auch die Reduzierung der notwendigen *Antwortzeiten* der Sensoren und die Erweiterung des *linearen Meßbereiches*. Die *Miniaturisierung* in Hinblick auf tragbare Geräte ist zu realisieren.
2. Neben der Optimierung der Sensoreigenschaften sind auch die *Methoden*, die zu ihrer Realisierung beitragen sollen, weiterzuentwickeln. Hierbei sind insbesondere die Arbeiten zur Verbesserung der *Immobilisierung* der biologischen Sensorkomponenten weiter voranzutreiben. Zur Optimierung der Eigenschaften der biologischen Sensorkomponenten werden zunehmend Impulse aus der *Gentechnik*, dem *Proteinengineering* und der *Hybridomatechnik* erwartet.
3. Durch Einsatz dieser Techniken sind zudem *neue Erkennungselemente* zur Ausweitung des Spektrums nachweisbarer Analyte zu realisieren bzw. bekannte Komponenten sind zu modifizieren, um sie unter anderem dem Einsatz unter verschiedensten Umgebungsbedingungen anzupassen. Desweiteren ist die Entwicklung von Biosensoren für Gruppenmessungen voranzutreiben. Dabei besteht das Hauptziel in der Realisierung des differenzierten Nachweises der Bestandteile komplexer Proben, d. h. in der Entwicklung *multipler Sensorsysteme*.
4. Eine weitere strategische Entwicklungslinie ist die verstärkte *Integration* der Biosensoren. Dies drückt sich in der direkten Koppelung von Sensorfunktion und Auswertungsfunktion aus. Biosensoren sind somit direkt mit fortgeschrittener Datenverarbeitungstechnik zu koppeln. In diesem Bereich ist ein enger Zusammenhang mit der Weiterentwicklung der Bio- oder Molekularelektronik zu beachten, die letztendlich zur Entwicklung hochintegrierter *Biochips* führen soll. Insbesondere für medizinische Anwendungen zeichnet sich eine enge Anbindung an die Mikrosystemtechnik ab, um so die Entwicklung von implantierbaren integrierten Diagnose/Therapie-Geräten voranzutreiben. In

diesem Zusammenhang ist die Gewährleistung der *Biokompatibilität* der Sensoren weiter zu verfolgen.

5. Von herausragender Bedeutung für die Etablierung der Biosensorik ist die Weiterentwicklung der *Produktionsmethoden* für Biosensoren. Die bisher zeit- und arbeitsintensive Einzelfertigung ist zunehmend durch Methoden der *Massenproduktion* abzulösen. Hier kann auf verschiedenen Verfahren, wie sie in der Mikroelektronik zur Anwendung kommen, zurückgegriffen werden. Erste Ansätze in diese Richtung sind durch die Nutzung von "printing"-Verfahren bereits erkennbar. Nur durch die Möglichkeit der kostengünstigen Produktion von Biosensoren werden sich diese letztlich auch am Markt durchsetzen können.
6. Die Entscheidung, ob *Wegwerfsensoren* oder *Mehrfachsensoren* entwickelt werden, ist differenziert zu betrachten und in der Regel vom angestrebten Anwendungszweck abhängig zu machen. Wegwerfsensoren und deren Realisierung durch Methoden der Massenproduktion versprechen derzeit größere kommerzielle Erfolgchancen.
7. Der größte Anwendungsbereich für Biosensoren ist derzeit die *Medizin*. Eine Veränderung ist hier mittelfristig nicht absehbar. Nach der Medizin jedoch bereits mit beträchtlichem Abstand folgen Anwendungen in der Umweltüberwachung. Den übrigen denkbaren Anwendungsbereichen kommt derzeit und auch mittelfristig eine untergeordnete Bedeutung zu.
8. Die entscheidende Frage hinsichtlich der zukünftigen Anwendung der Biosensoren ist, inwieweit sie sich gegenüber den konkurrierenden Analysemethoden durchsetzen können. Daher ist es notwendig, die Vorteile, die der Einsatz der Biosensoren bringen kann, in jedem Einzelfall präzise darzustellen. Notwendig ist eine stärkere Orientierung an den Anforderungen, die die Nutzer an konkrete Analysegeräte stellen. Daher ist bereits in einem frühen Stadium die Entwicklung der Biosensoren unter realitätsgetreuen Bedingungen zu verfolgen.

Der große Durchbruch, der für die Biosensorik bereits seit längerem vorausgesagt wird, ist derzeit in dem vorhergesagten Maße nicht zu erwarten, zu groß sind die noch zu überwindenden Probleme und die zu lösenden Forschungsfragen, auch wenn die bereits recht gut etablierten Glucosesensoren einen anderen Anschein erwecken. Dabei darf nicht vergessen werden, daß sich die Anstrengungen der vergangenen Jahre primär auf die Entwicklung dieser Sensoren konzentrierten, da hier die größten Marktsegmente zu erwarten waren.

7. Literaturverzeichnis

- Aberl, F. et al. (1992): Development and Evaluation of Biosensors for HIV-Serology. In: Scheller, F.; Schmidt, R.D. (ed.): *Biosensors: Fundamentals, Technologies and Applications*. VCH, Weinheim, New York, 123-127
- Atkin, G. (1993): Biosensors for Dirty Samples. *Electrochemistry* 31 (8), 11
- Bains, W.(1992): Sensors for a Clean Environment. *Bio/Technology* 10 (5), 515-518
- BMFT (1992): *Biosensorik. Förderkonzept und Zwischenbilanz*.
- BMFT (1993): *Deutscher Delphi-Bericht zur Entwicklung von Wissenschaft und Technik*.
- Brooks, S.L.; Higgins, I.J.; Newman, J.D.; Turner, A.P.F. (1991): Biosensors for Process Control. *Enzyme Microb. Technol.* 13 (12), 946-955
- Carson, K.L. (1994): Analyzing Structural/Functional Biomolecular Interactions via Biosensors. *Genetic Engineering News* 14 (4), 10-11
- Clark, L.C.; Lyons, C. (1962): Electrode Systems for Monitoring in Cardiovascular Surgery. *Annals of the New York Academy of Science* 102, 29-45
- Dutton, G. (1993): Environmental Biosensors Offer Quick, Portable, Cost Effective Analysis. *Genetic Engineering News* 13 (18), 6-23
- Griffith, D.; Hall, G. (1993): Biosensors - what real progress is being made? *Trends in Biotechnology* 11 (4), 122-130
- Grupp, H. (Hrg.) (1993): *Technologie am Beginn des 21. Jahrhunderts*. Physica-Verlag, Heidelberg, ebenfalls erschienen als Kurzfassung, FhG-ISI
- Hinze, S. (1994): Bibliographical Cartography of an Emerging Interdisciplinary Discipline: The Case of Bioelectronics. *Scientometrics* 29 (3), 353-376
- Hall, E.A.H. (1992): Overview of Biosensors. *ACS Symposiums* 487, 1-14
- Ikariyama, Y.; Nishigushi, S.; Kobatake, E.; Aizawa, M.; Tsuda, M.; Nakazawa, T. (1992): Luminescent Biomonitoring of Benzene Derivates in the Environment using Recombinant *Escherichia Coli*. *Sensors and Actuators (B)* 13/14, 169-172
- Karube, I.; Yokoyama, K. (1993): Trends in Biosensor Research and Development. *Sensors and Actuators B* 13/14, 12-15
- Koschätzky, K.; Maßfeller, S. (1994): *Gentechnik für Lebensmittel?* TÜV Rheinland, Köln
- Koudelka-Hep, M. et al. (1992): A Microfabricated Glucose Sensor: Fabrication, Characterization, In vitro and In vivo Performances, and Related Problems. In: Turner, A.P.F. (ed.): *Advances in Biosensors. A Research Annual. Vol. 2*, JAI Press Ltd., London, Greenwich, 131-150

- Luong, J.H.T.; Groom, C.A.; Male, K.B. (1991): The Potential Role of Biosensors in the Food and Drink Industries. *Biosensors und Bioelectronics* 6, 547-554
- Manning, B.; Maley, T. (1992): Immunsensors in Medical Diagnostics - Major Hurdles to Commercial Success. *Biosensors and Bioelectronics* 7, 391-395
- Marron, M.T. (1992): Persönliche Mitteilung
- Morris, H.; Higgins, N. (1993): Commercial Realisation of Biosensor Technology in Medical Diagnostic. *The Genetic Engineer and Biotechnologist* 13 (1), 41-48
- Newman, J.D.; Turner, A.P.F. (1992): Biosensors: Principles and Practice. In: Tipton, K.F. (ed.): *Essay in Biochemistry*, Portland Press, London, 147-159
- Newman, J.D.; Turner, A.P.F. Turner (1994): Biosensors: The Analyst's Dream? *Chemistry und Industry* 10, 374-378
- Oh, S. (1993): Immunsensors for Food Safety. *Trends in Food Science and Technology* 4 (4), 98-103
- Reiß, T.; Hüsing, B.; Jaeckel, G. (1994): Analyse von Entwicklungstrends in der Biotechnologie. Teil 1. Biomolekulare Funktionssysteme für die Technik. Fraunhofer-Institut für Systemtechnik und Innovationstechnik, FhG-ISI, Karlsruhe
- Renneberg, R. (1992): Biomonitoring - Umweltüberwachung mit biologischen Methoden. *Spektrum der Wissenschaft* 3, 25-30
- Renneberg, R. (1992a): Molekulare Erkennung mittels Immuno- und Rezeptorsensoren. *Spektrum der Wissenschaft* 9, 103-109
- Roe, J. (1992): Biosensor Development. *Pharmaceutical Research* 9 (7), 835-844
- Rogers, K.R.; Lin, J.N. (1992): Biosensors for Environmental Monitoring. *Biosensors and Bioelectronics* 7, 317-321
- Scheller, F.; Schubert, F. (1989): *Biosensoren*. Akademie-Verlag, Berlin
- Scheller, F.; Schubert, F.; Pfeiffer, D. (1992): Enzym- und Zellsensoren - Anwendungen, Trends und Perspektiven. *Spektrum der Wissenschaft* 9, 99-103
- Scheper, Th.; Müller, C. et al. (1994): Optical Sensors for Biotechnological Applications. *Biosensors and Bioelectronics* 9, 73-83
- Severs, A.H. (1994): Biosensors for Food Analysis. *Trends in Food Science und Technology* 5 (7), 230-232
- Schultz, J. (1991): *Biosensoren*. *Spektrum der Wissenschaft* 10, 100-109
- Turner, A.P.F.; Karube, I.; Wilson, G. (1987): *Biosensors: Fundamentals and Applications*. Oxford University Press, New York

- Vadgama, P.; Crump, P.W. (1992): Biosensors: Recent Trends. *Analyst* 117 (12), 1657-1670
- van der Lelie, D.; Corbisier, P.; Baeyens, W.; Wuertz, S.; Diels, L.; Mergeay, M. (1994): The Use of Biosensors for Environmental Monitoring. *Research in Microbiology* 145 (1), 67-74
- Wijesuriya, D.C.; Rechnitz, G.A. (1993): Biosensors Based on Plant and Animal Tissues. *Biosensors und Bioelectronics* 8 (2), xxi-xxv
- Yacynych A.M. (1992): Chemically Constructed Amperometric Biosensors. In: Turner, A.P.F. (ed.): *Advances in Biosensors. A Research Annual. Vol. 2*, JAI Press Ltd., London, Greenwich, 1-53

Company	Nationality	Product	Analyte	Where applied
Analytical Instrument Corporation	Japan	Glucorecorder-E	Glucose	Clinical lab
ASI	Switzerland	BIOS 1	Immunochemicals	Research lab
Aucoteam GmbH	Germany	BODYpoint	BOD	Wastewater
Baxter Travenol (made by Nova)	US		Urea	Renal dialysis
Biometra Biomedizinische Analytik GmbH	Germany		Acetylcholine, choline, glucose, alcohols, xanthine, hypoxanthine	Clinical lab
Biosensori	Italy	Midas-Pro	Microbial contamination	Industrial fluids
Boehringer Mannheim	US	Acucheck Advantage	Glucose	Home use
Central Kagaku Corporation	Japan	BOD-2000	BOD	Sewage, wastewater
EKF Industrie Elektronik GmbH	Germany	Biosen Med G	Glucose	Clinical lab/Doctor's surge
		Biosen Lactat 2000	Lactate	Clinical lab/Doctor's surge
Electrolux Fermentation Geringe	Sweden	Electrolux	Glucose	Biotechnology
Fisons	UK	IASys	Immunochemicals	Research lab
Fuji Electrical Company	Japan	Gluco-20	Glucose	Clinical lab
		UA 300A	Uric Acid	Clinical lab
Gambro	Sweden	Glucose monitor system	Glucose	Bedside
Gonotec	Germany	Sensomat B10	Alcohol	Brewing, biotechnology
Immunosens	Italy	AmpEIA	Hormones	Clinical lab
Ismatech	Switzerland	ASIA	Glucose, galactose, choline, alcohol (C1-C4), xanthine, hypoxanthine, lactic acid, acetylcholine, oxalic acid	Biotechnology, various
i-STAT	US	6+	Glucose, urea	Clinical lab/Doctor's surge
Kalger GmbH	Germany	Microzym-L	Lactate	Food, biotechnology
Kyoto Daiichi Kagaku	Japan	Autostat GA-1120	Glucose	Clinical lab
		Glucocard	Glucose	Home use
Medisense	US	ExacTech	Glucose	Home use
		Companion	Glucose	Home use
		Satellite G	Glucose	Clinical lab/Doctor's surge

Medingen	Germany	BOD module	BOD	Wastewater
Meteritech	Taiwan	Model 5000	Glucose	Clinical lab
Molecular Devices Corporation	US	Threshold	Total DNA	Laboratory
MLW	Germany	ECA 20	Glucose	Clinical lab
		ESAT 6660	Glucose, lactate	Clinical lab
Nippon Laser	Japan		Immunochemicals	Research lab
Nova Biomedical	US	Statprofile 5, 6, 7 & 9	Glucose, urea, lactate	Clinical lab
Omicron*	US	Smartsense	Pesticides	Laboratory
Omron Tateisi Electrical Company	Japan		Lactate	Clinical lab
Omrom Toyobo	Japan	Diagluca	Glucose	Clinical lab
Orion* (made by Dosivit, France)	US		Glucose, lactose, sucrose lactate, ethanol	Food, biotechnology
Pharmacia	Sweden	BIAcore	Immunochemicals	Research lab
		BIALite	Immunochemicals	Research lab
Radiometer (Solea Tacussel)	France	Glucoprocasseur	Glucose	Clinical lab
Sigma	Russia	EXAN	Glucose	
Thermometric AB	Sweden	TAP 3300	Various	Analytical lab
TOA Electronics	Japan	FGA-1	Glucose	Biotechnology
		Glu-11	Glucose	Food, medicine
Universal Sensors	US		Various	Various uses
Yellow Springs Instrument Company	US	1500 Sidekick	Glucose	Clinical lab
		1500 Sport	Lactate	Sports medicine
		2300 Stat plus	Glucose, lactate	Clinical lab
		2710	Glucose, lactate, ethanol lactose, sucrose, galactose, methanol, starch, choline, glutamine, dextrose	Clinical lab
		5730	BOD	Analytical lab

*Currently unavailable because of technical difficulties