

Wir schaffen harmonisierte Referenzmasse für chemische Analysen

Ein zukunftssträchtiges metrologisches Entwicklungsgebiet stellt die Metrologie in der Chemie, insbesondere in der klinischen Chemie dar. Um auch auf diesem relevanten metrologischen Gebiet einen Beitrag leisten zu können, hat METAS vor einem Jahr mit dem Aufbau eines Labors für elektrochemische Analytik begonnen. Nähere Informationen liefert ein Gespräch mit dem Leiter des Labors, Dr. Samuel Wunderli.

INTERVIEW: JÜRIG NIEDERHAUSER, RUDOLF WULLSCHLEGER

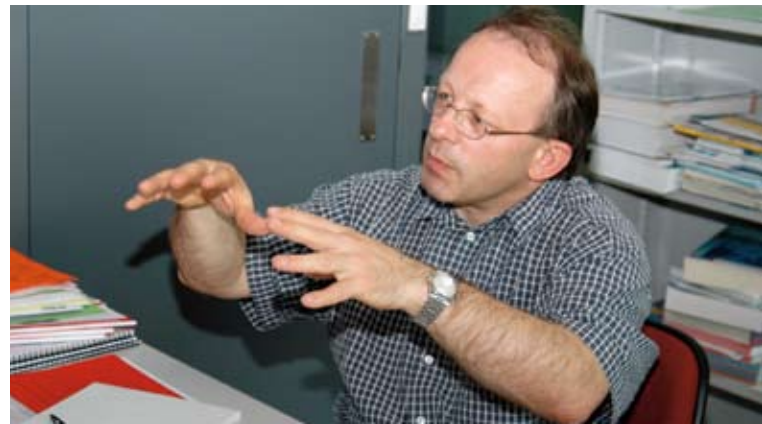
Die Metrologie in der Chemie ist ein zukunftssträchtiges metrologisches Entwicklungsgebiet. Insbesondere in der klinischen Chemie werden international anerkannte Messsysteme zur Identifikation und quantitativen Bestimmung von Analyten in medizinisch relevanten Medien benötigt. METAS ist seinem gesetzlichen Auftrag entsprechend daran, im Rahmen seiner Möglichkeiten auch auf diesem für die Schweizer Wirtschaft relevanten und zukunftssträchtigen metrologischen Gebiet einen Beitrag zu leisten. Nach gründlichen Abklärungen und Vorarbeiten wurde vor einem Jahr am METAS mit dem Aufbau eines Labors für elektrochemische Analytik begonnen. In einem Gespräch gibt der Leiter des Labors, Dr. Samuel Wunderli, Auskunft über diesen Bereich der Metrologie, über die Ziele und die Ausrichtung des Labors sowie über den Stand der Arbeiten.

METInfo: Die Metrologie in der Chemie ist ein eher junger Zweig der Metrologie?

Samuel Wunderli: Das ist so. Man sieht das nicht zuletzt daran, dass mit dem Aufbau einer internationalen Zusammenarbeit für Metrologie in der Chemie erst in den letzten Jahrzehnten des vergangenen Jahrhunderts begonnen worden ist. Das heisst, mehr als ein Jahrhundert später als bei den physikalischen Grössen. Die Meterkonvention wurde 1875 unterzeichnet. Ein Konsultativkomitee für die Belange der Metrologie in der Chemie, das CCQM, wurde von den Organen der Meterkonvention 1993 eingesetzt. Viele Jahre setzte sich die Vereinigung für klinische Chemie und Labormedizin (IFCC) für Referenzsysteme ein.

Das internationale Komitee für Rückverfolgbarkeit in der Labormedizin (JCTLM), das sich für die weltweite Vergleichbarkeit und Rückverfolgbarkeit klinischer Messresultate einsetzt, wurde 2002 als Folge der EU-Direktive (98/79/EC) gegründet.

Erst 1967 wurde die heute gültige Einheit für die Stoffmenge, das Mol, von internationalen Körperschaften vorgeschlagen und 1971 von der 14. Conférence Générale des



1 Dr. Samuel Wunderli im Gespräch.

Poids et Mesures (CGPM) ins internationale Einheitensystem aufgenommen.

War die Chemie denn, sehr plakativ ausgedrückt, bis jetzt gegenüber der Physik metrologisch unterentwickelt?

Wenn wir beim plakativen Ausdruck bleiben wollen: Sie ist in der Hinsicht immer noch vergleichsweise unterentwickelt und wird es teilweise auch bleiben. Wobei man natürlich sehen muss, dass das Gebiet der chemisch-analytischen Messungen riesig ist, verglichen mit der Physik. Dies ist kein Argument gegen, sondern für die Verbesserung der metrologischen Harmonisierung in der Chemie und zur Förderung des metrologischen Bewusstseins in der Chemie.

Die Anwendung metrologischer Prinzipien, wie Vergleichbarkeit und Rückverfolgbarkeit der Messresultate, wäre insbesondere in der klinischen Chemie, bei den Analysen für medizinische Zwecke, von grosser Bedeutung?

Rückverfolgbarkeit und Vergleichbarkeit sollten grundsätzliche Voraussetzungen in der klinischen Chemie und Labormedizin sein. Die Vergleichbarkeit der Messergebnisse in der klinischen Chemie ist verbesserungswürdig. Eine grosse Vergleichsstudie bei Spitälern und medizinischen Laboratorien in Nordeuropa hat gezeigt, dass selbst bei Verwendung der gleichen Analyseautomaten und der gleichen Kalibrationslösungen Abweichungen von mehr als zehn Prozent auftreten.

Das ist eigentlich nicht tragbar, denn die physiologischen Variationen des Gehalts sind für gewisse Analyte sehr klein. Selbst relativ kleine Messabweichungen können in der Medizin somit schwere Konsequenzen haben, beispielsweise bei der Entscheidung darüber, ob bei einer Person eine Behandlung eingeleitet wird oder nicht.

Allgemein haben die Ergebnisse chemisch-analytischer Messungen einen unmittelbaren Einfluss auf unsere Lebensqualität.

Und auch auf die Kosten.

Absolut. Mit vergleichbaren, rückverfolgbaren Messungen können Falsch- oder Nichtbehandlungen vermindert werden; vor allem könnte auch auf viele, zum Teil unnötige, Wiederholungsmessungen verzichtet werden. Damit liessen sich Kosten senken.

METAS will mit dem neu aufgebauten Labor für elektrochemische Analytik einen Beitrag zur Verbesserung der metrologischen Möglichkeiten auf diesem Gebiet leisten.

Was sind nun die konkreten Ziele dieses Labors?

Mit dem Labor für elektrochemische Analytik sollen international anerkannte und rückverfolgbare Referenznormale für Aktivität auf dem Gebiet der Potentiometrie mittels ionenselektiver Elektroden (ISE) sowie auf dem Gebiet der Amperometrie mit Biosensoren (enzymdotierte Elektroden) zur Verfügung gestellt werden.

Zunächst werden zwei Referenzmessplätze aufgebaut: ein Potentiometrie-Messplatz zur Messung der Aktivitäten von medizinisch relevanten Ionen in biologischen Flüssigkeiten sowie ein Amperometrie-Messplatz zur Messung der Aktivität von Glukose.

Unser Ziel ist es, reproduzierbare, international abgestimmte Aktivitäts-Standards herzustellen, die für Gerätekalibrationen eingesetzt werden.

Wir werden gleich noch näher auf die angesprochenen Inhalte und Begriffe zu sprechen kommen. Zunächst stellt sich aber noch die Frage, weshalb genau dieser Bereich der chemischen Analytik ausgewählt wurde?

Einerseits ist es für METAS nicht sinnvoll, in einem Gebiet tätig zu sein, auf dem schon Angebote anderer nationaler Metrologieinstitute vorhanden sind, beispielsweise der anorganischen, quantitativen Massenspektrometrie. Andererseits wollte man in ein Gebiet einsteigen, in dem man auf im METAS vorhandene Kenntnisse und Erfahrungen zurückgreifen kann. Auf dem Gebiet der elektrischen Messungen verfügt METAS über einen hervorragenden Wissens- und Erfahrungsschatz. Von daher bot es sich an, auf dem Gebiet der Elektrochemie etwas zu unternehmen. Die Anregung dazu kam von Frau Professor Spichiger vom Zentrum für Chemische Sensoren und chemische Informationstechnik der ETH.

Bei der Potentiometrie habe ich von diesem Wissen und der Erfahrung der Spezialisten des METAS schon profitieren können. Das im Messplatz Potentiometrie verwendete Gerät wurde hier am METAS auf Quantennormale rückverfolgbar kalibriert.

Vor allem war aber entscheidend, dass auf dem Gebiet der Sensortechnik in der Schweiz zahlreiche Unternehmen tätig sind.

Nicht zuletzt können wir auf dem Gebiet der elektrochemischen Messungen einen Beitrag leisten mit der Messung von Aktivitäten, mit der sich noch niemand aus metrologischer Sicht beschäftigt hat.

Ist Aktivität nicht das gleiche wie Konzentration?

Nein. Insbesondere bei zweiwertigen Ionen, wie etwa bei Kalzium, ist das gar nicht das gleiche. Die Aktivität betrifft

Ein Begründer der Elektrochemie: Walther Nernst



Eine der grundlegenden Gleichungen der Elektrochemie ist die Nernst-Gleichung. Sie verbindet elektrische Grössen (Potentialdifferenz) mit chemischen Grössen (Konzentration, Aktivität). Sie ist benannt nach dem deutschen Physiker und Chemiker Walther Nernst, der die Gleichung in ihrer ursprünglichen Form 1889 hergeleitet hat.

Walther Hermann Nernst (1864 – 1941) ist einer der Begründer der modernen physikalischen Chemie. Er arbeitete vor allem auf den Gebieten der Elektrochemie und der Thermodynamik. 1920 erhielt er den Nobelpreis für seine Formulierung des 3. Hauptsatzes der Thermodynamik. Dieser auch *Nernstsches Theorem* genannte Hauptsatz sagt, vereinfacht ausgedrückt, aus, dass der absolute Nullpunkt der Temperatur nicht erreicht werden kann. Nernst war neben der Grundlagenforschung auch an praktischen Anwendungen wissenschaftlicher Tätigkeit interessiert. So erfand er eine verbesserte elektrische Lampe, untersuchte als begeisterter Autofahrer der ersten Stunde Prozesse in Verbrennungsmotoren im Hinblick auf Leistungssteigerung und war an der Entwicklung eines elektrisch verstärkten Klaviers beteiligt.

Er verfasste ein einflussreiches Werk über theoretische Chemie, das unzählige Male neu aufgelegt wurde: *Theoretische Chemie vom Standpunkte der Avogadroschen Regel und der Thermodynamik. Stuttgart 1893.*

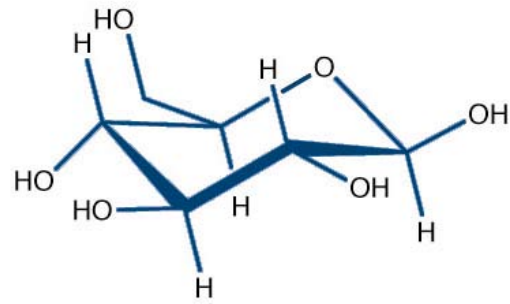
nur einen Teil des Stoffs der chemisch frei verfügbar ist. Auch in einer Lösung von Kalium oder Natrium, die den physiologischen Gegebenheiten des menschlichen Organismus entspricht, betragen die Aktivitätskoeffizienten nur in etwa 0.75. Das heisst die Aktivität ist in diesem Fall etwa 25 Prozent niedriger als die Konzentration. Die Aktivität hängt dann vom Zustand des Individuums ab. Wieviel Eiweiss und andere Stoffe, die Ionen binden, sind in der Lösung? Wie gross ist der Restwassergehalt? Das kann man alles nicht sehen, wenn nur die Konzentration gemessen wird. Man verliert einen Teil der Information, wenn man sich auf die Konzentration beschränkt. Mit der Aktivität können wir in gewissen, bekannten Systemen auf die Konzentration umrechnen. Umgekehrt lässt sich das nicht bewerkstelligen.

Mit der Aktivität schlägt ihr gewissermassen zwei Fliegen mit einer Klappe?

Genau. Dazu braucht es aber mindestens zwei Messungen. Die Messung in der originalen Lösung (meist konzentriert) liefert die Aktivität. Die Aktivitätskoeffizienten werden auf Modellen basierend berechnet. Mit einer zweiten Messung in verdünnter Lösung kann die Gesamtkonzentration gemessen werden. Das ist mit erhöhtem Aufwand verbunden. Ich muss also die Aktivität in den Kalibrationslösungen kennen. Das ist nicht einfach. Dazu muss das zu messende Potential für mehrere Störgrössen korrigiert werden.

Analyseautomaten, die heute eingesetzt werden, bestimmen ca. 70 Analyte. Sie rechnen immer auf Konzentrationen um. Die Aktivitätsstandards könnte man nun nutzen, um wichtige Teilsystem dieser Geräte zu kalibrieren.

Ihr messt Aktivitäten mit zwei elektrochemischen Verfahren mit Potentiometrie und Amperometrie. Könntest du diese beiden Verfahren kurz charakterisieren?

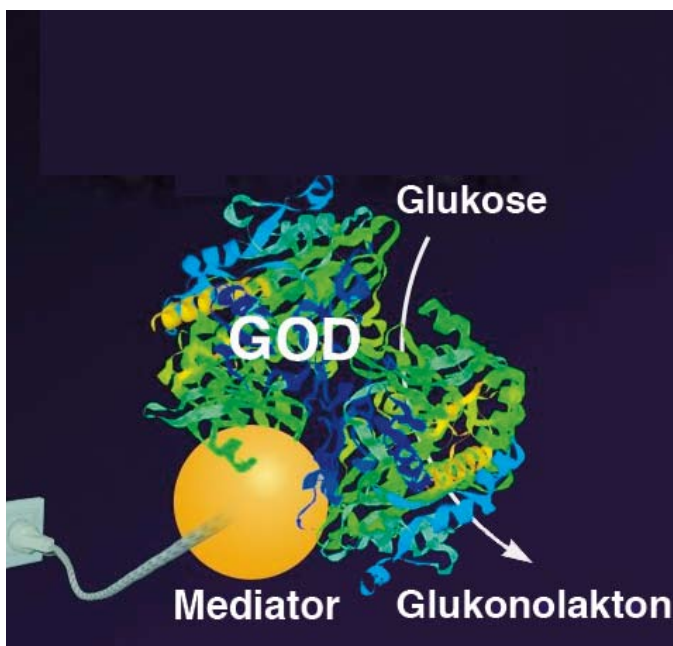


2 Modell eines β -D-Glukosemoleküls.

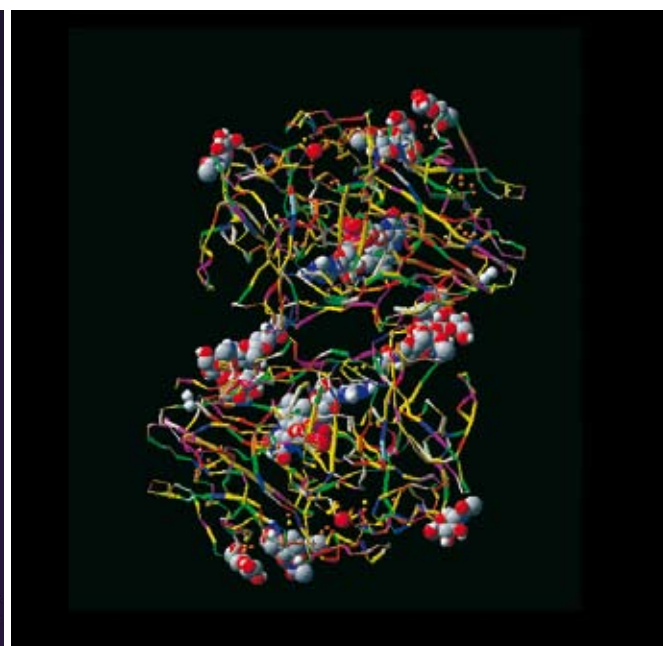
Vereinfacht ausgedrückt wird bei der Amperometrie bei konstanter Spannung der resultierende Strom, der bei einer chemischen Reaktion fliesst, gemessen. Bei der Potentiometrie wird die Summe der Potentialdifferenzen an allen Phasengrenzflächen gemessen. Die Selektivität in der Potentiometrie wird mit hochspezifischen Bindungspartnern hergestellt.

Potentiometrie und Amperometrie gehören in das Gebiet der Sensorik. In der Amperometrie können Enzyme eingesetzt werden. In diesem Fall spricht man von Biosensorik. Sie enthalten als nötiges Selektivitätselement eine biologische Komponente (Enzyme). Neben Enzymen sind auch Antikörper, DNA oder biochemische Rezeptoren gebräuchlich. Das klassische Beispiel ist ein Glukosesensor zur Blutzuckerbestimmung bei Diabetikern. Hier ist die biologische Komponente in der Regel ein Enzym, das Glukose umsetzt, zum Beispiel das Enzym Glukose-Oxidase.

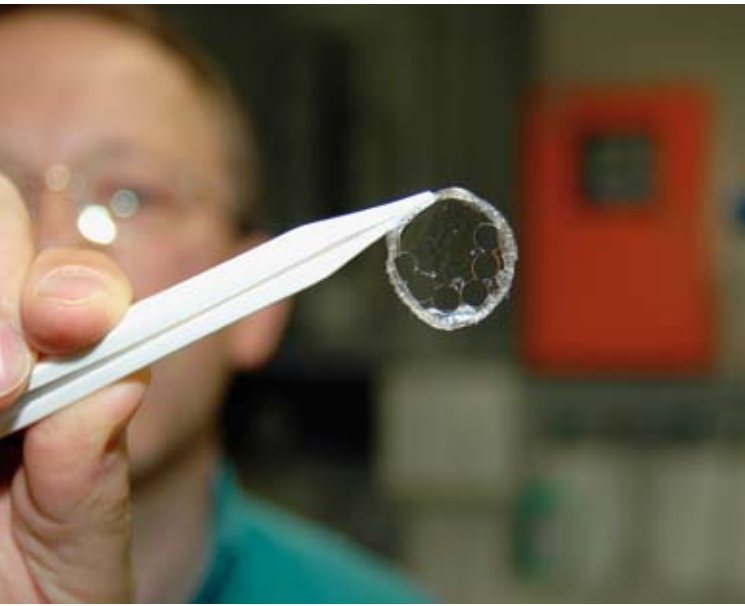
Übrigens gehen diese Methoden und damit die elektrochemische Bestimmung von Aktivitäten im Grunde genommen auf einen der Pioniere der Elektrochemie zurück: Walther Nernst hat die ersten Schritte zum heutigen Verständnis unternommen und eine Theorie dazu geliefert (vgl. Kasten auf Seite 14).



3 Mit der amperometrischen Messung werden die Elektronen gemessen, die bei der enzymatischen Oxydation von Glukose frei werden.



4 Modell der Glukose Oxidase (GOD).



5 Kaliumsensitive PVC-Membran mit ausgestanzten Sensorscheibchen. Diese gelangen in der Potentiometrie mit ionenselektiven Elektroden zur Anwendung.

Einer der Messplätze ist auf die Messung von Glukose ausgerichtet. Wieso gerade Glukose?

Zunächst ist Glukose der zentrale Energieträger für Mensch und Tier. Der ganze Energiestoffwechsel der höheren Wirbeltiere beruht auf Glukose. Den Hirnzellen kann nur durch Glukose Energie zugeführt werden. Deswegen hat unser Hirn auch einen vergleichsweise hohen Glukoseverbrauch. Er beträgt im Mittel etwa sechs Gramm pro Stunde.

Vor allem aber ist die Regelung des Glukosespiegels im Blut lebenswichtig. Eine krankheitsbedingte Störung der Aktivitätsregelung von Glukose im Blut bedarf medizinischer Behandlung (Diabetes).



6 «Spritzen-technik» zur gravimetrischen Herstellung von Flüssigkeitsgemischen für Kalibrationszwecke.

Glukose ist vermutlich der Analyt, der in der klinischen Chemie am häufigsten gemessen wird.

Wir haben vorhin bei der Besichtigung des Labors gesehen, dass das Labor für elektrochemische Analytik eigentlich aus zwei Laboratorien besteht: Neben dem Labor mit den amperometrischen und potentiometrischen Messplätzen gibt es noch ein Wägelabor. Wozu dient das Wägelabor?

Das Wägelabor für chemische Zwecke dient der hochgenauen Präparation der Standards. Die Materialien, die wir für Kalibrationslösungen verwenden, müssen genau charakterisiert werden. Für die Kalibration unserer Waagen und unserer Vergleichsgewichte können wir auf die grosse Kompetenz des Labors Masse im METAS zurückgreifen.

Gibt es denn Unterschiede zwischen dem Wägen in der analytischen Chemie und der Physik?

Durchaus. Im Unterschied zum Wägen eines Gewichtstücks aus Stahl hat das chemische Wägen seine Tücken. So kann die statische Aufladung der Kunststoffflaschen für Kalibrierlösungen und für Proben das Wägeregebnis verfälschen. Deshalb muss die Luft über den Flaschenoberflächen mit Ionisatoren leitfähig gemacht und so die Entladung bewirkt werden. Ebenfalls ist ein automatisiertes Beladen der Waage ausgeschlossen.

Bei der Wägung von Flüssigkeiten gilt es auf Wägetechniken zurückzugreifen, mit denen allzu grosse Verdampfungsverluste vermieden werden können, etwa auf die Spritzentechnik (vgl. Illustration 6) und das Rückwägen.

Wie weit seid ihr mit dem Stand der Aufbauarbeiten?

Das Wägelabor ist aufgebaut, die elektrochemische Grundausrüstung ist da und aufgebaut. Momentan ist die Automatisierung der Messungen im Gang. Diese realisieren wir mit spezifischen LabView-Programmen.

Was folgt als nächstes?

Als nächstes werden wir die Kalibrationssubstanzen zu charakterisieren haben. Anschliessend können wir daran gehen, Kalibrationen mit eigenen Aktivitäts-Standards durchzuführen. Die Aktivitäts-Standards sind teilweise aus komplexen Elektrolyt-Standards zusammengesetzt.

Wir werden natürlich unsere Messungen mit interessierten Partnern besprechen, zum Beispiel mit Spezialisten von anderen nationalen Metrologieinstituten. Die Resultate aus unseren Referenzmesssystemen werden wir mit denjenigen anderer nationaler Metrologieinstitute vergleichen. Weiter haben wir vor, zusammen mit anderen Laboratorien beim JCTLM einen Vorstoss zu machen, der auf die Aktivitätsmessung abzielt.

Das heisst ihr werdet euch vorwiegend auf die klinische Chemie ausrichten?

Das gilt für die ersten Analyte, mit denen wir uns näher beschäftigen wollen. Nachher ist es offen. Man darf nicht vergessen, dass Glukose auch in der Biotechnologie von

CIPM

Comité International des Poids et Mesures

CGPM

Conférence Générale des Poids et Mesures

CCQM

Comité consultatif pour la quantité de matière; beratendes Organ des CIPM für alle Belange der Metrologie in der Chemie, gegründet 1993.

CGPM, CIPM

Internationale Organe der Meterkonvention, einem Staatsvertrag aus dem Jahr 1875.

JCTLM

Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine. Ziel: Vergleichbarkeit, Rückverfolgbarkeit und globale Harmonisierung klinisch-chemischer Messresultate; gegründet 2002 durch Vertreter des Bureau International des Poids et Mesures, der internationalen Vereinigung der klinischen Chemiker (IFCC) und der International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC).

Aktivität

Die Aktivität beschreibt die effektiv an einer chemischen Reaktion teilnehmende Stoffmengen-Konzentration oder den -Gehalt eines Reaktanden. Sie wird durch zwei Bestandteile bestimmt: die Konzentration oder der Gehalt eines Stoffes und dessen mittleren Aktivitätskoeffizienten. Aktivitäten von Stoffen spielen bei der Berechnung von Reaktionsgeschwindigkeiten und energetischen Grössen aller chemischen Reaktionen eine wesentliche Rolle.

Potentiometrie

Elektrochemisches Verfahren aus dem Bereich der Sensorik. Bei der Potentiometrie werden Spannungsdifferenzen zwischen einer Messelektrode (Arbeitselektrode) und einer Referenzelektrode (Bezugselektrode) stromlos gemessen. So können Stoffmengenkonzentrationen oder Aktivitäten gemessen werden. Das Verfahren wird zur Bestimmung von Ionen eingesetzt, z. B. zur Bestimmung der Wasserstoffionenaktivität (pH-Wert) oder Natrium-, Kalium- oder Kalzium-Ionen. Die quantitative Bestimmung der Ionen erfolgt aufgrund von Potentialdifferenzen mit Hilfe ionenselektiver Elektroden (ISE) in Messketten.

Amperometrie

Messung des elektrischen Stroms durch die Arbeitselektrode bei vorgegebenem Potential. Elektrochemisches Verfahren, das u. a. in der Biosensorik angewendet wird. Biosensoren sind chemische Sensoren, die als zusätzliches Selektivitätselement eine biologische Erkennungskomponente enthalten, z. B. Enzyme, Antikörper oder DNA. Bei der Amperometrie wird in einer Messkammer von drei Elektroden bei konstanter Spannung der Stromfluss gemessen. Das Potential gegenüber einer Referenzelektrode ist fix. Das Verfahren ist geeignet zur Bestimmung von Stoffwechsel

produkten, die selektiv oxidiert beziehungsweise reduziert werden können, z. B. Glukose, Glutamat, Harnstoff, Hormone usw.

Glukose

Traubenzucker, ein einfaches Zuckermolekül, bestehend aus sechs C-, zwölf H- und sechs O-Atomen. Glukose kann von den meisten Zellen zur Energiegewinnung herangezogen werden. Glukose ist der Hauptenergeträger des menschlichen Körpers.

Glukose-Oxidase

Enzym aus Pilzen, das als Katalysator bei der Oxidation von Glukose wirkt. Bei diesem Oxidationsprozess entstehen primär d-Gluconsäure-5-Lakton, das dann mit Wasser zu Glukonsäure weiter reagiert. Dabei werden Wasserstoffionen und Elektronen frei. Das Enzym hat eine grosse Bedeutung in der klinischen Chemie bei der Messung von Glukose in physiologischen Medien.

Mediator

Vermittelt die Elektronen zwischen dem Redoxzentrum des selektiven Prinzips (z. B. Glukose-Oxidase) und dem metallischen Leiter.

Bedeutung ist. Analyte wie Nitrit, Nitrat, Ammonium oder Perchlorat spielen in der Umwelt eine wesentliche Rolle. Das ist auch ein Fokus. Die Methode und die Kalibrationsstandards, die wir hier entwickeln, wollen wir auch denjenigen Leuten zur Verfügung stellen, die im Umweltbereich arbeiten. Aber der klinische Bereich ist ganz klar von grösserer Bedeutung, nicht zuletzt wirtschaftlich.

Stellt ihr neben euren Aktivitäts-Standards auch Messvorschriften zu ihrer Anwendung zur Verfügung?

Die Messvorschrift wird ebenfalls genau charakterisiert und offen gelegt. Wir dokumentieren ganz genau, wie wir messen. Die interessierten Fachkreise sollen unsere Resultate aus Publikationen erfahren.

Zu jedem Standard gehört ein Zertifikat. In diesem Zertifikat ist festgehalten, wie der Standard gemacht worden ist, von wem, mit welcher Messunsicherheit usw.

Bevor ihr die ersten Kalibrierungen vornehmen könnt, gibt es aber noch einiges zu tun?

Zunächst müssen wir die Messeinrichtungen in Betrieb nehmen, vollständig austesten und validieren. Dann gilt es, die Dokumentation aller Prozeduren vorzunehmen und die QS-Dokumentation zu erstellen. Wir hoffen, dass wir auf Ende Jahr die ersten Kalibrierungen durchführen können.

Samuel Wunderli, wir danken dir ganz herzlich für das informative Gespräch und wünschen dir weiterhin viel Erfolg bei den Arbeiten zum Aufbau des Labors für elektrochemische Analytik. Wir werden wohl schon bald über erste Resultate der Tätigkeit dieses Labors berichten können.