

Ethanol-sensitive Hydrogele auf plasmonischen Sensorsubstraten: Einfluss des Quellvorgangs auf die Brechzahländerung

Julia Herzog¹, Nadja Steinke², Marisa Rio³, Thomas Härtling^{1,2}, Christiane Schuster² und Gerald Gerlach¹

¹Institut für Festkörperelektronik, TU Dresden, Dresden, Deutschland

²Fraunhofer-Institut für keramische Technologien und Systeme, Dresden, Deutschland

Fraunhofer Portugal Center for Smart Agriculture and Water Management AWAM, Vila Real, Portugal

Kontakt: julia.herzog@tu-dresden.de

Einleitung

Für die Herstellung von Pharmazeutika und Lebensmitteln sowie in der Biotechnologie spielen verfahrenstechnische Prozesse eine grundlegende Rolle. Für die Sicherung der Qualität und zur Prozesskontrolle ist dabei eine permanente Prozessüberwachung vorteilhaft und teilweise sogar notwendig. Zu den sich in Reaktionsprozessen fortlaufend ändernden Parametern zählen zum einen die stoffliche Zusammensetzung der Prozessflüssigkeit und zum anderen auch Prozessgrößen wie Druck und Temperatur. Für die Prozessüberwachung spielt meist nicht ein einzelner Parameter eine wichtige Rolle, sondern das Zusammenspiel mehrerer Messgrößen. Somit erlangen Messtechniken immer größere Bedeutung, welche inline gleichzeitig mehrere Parameter bestimmen.

Die Echtzeitüberwachung von häufig auftretenden Größen wie z.B. pH-Wert oder Temperatur, ist bereits industriell etabliert [1]. Hingegen ist die gleichzeitige vor-Ort-Überwachung mehrerer chemischer Parameter, die Rückschlüsse auf Stoffkonzentrationen geben, weiter Fragestellung der Forschung.

Häufig wird Nahinfrarotspektroskopie zur gleichzeitigen oder inline Detektion verfahrenstechnischer Prozesse angewendet. Die dafür notwendigen großen und teuren Geräte, arbeiten zuverlässig in Laboren, sind für vor-Ort-Anwendungen jedoch nicht ausreichend robust oder präzise. Des Weiteren sind sehr zeitaufwendige Datenauswertungen notwendig [2,3].

Das hier eingesetzte Sensorkonzept dient der optischen Detektion der Änderung der stofflichen Zusammensetzung von Flüssigkeiten. Dabei kommt ein kompaktes, plasmonisch aktives Sensorsubstrat zum Einsatz, welches eine Sensitivität gegenüber der oberflächennahen Brechzahländerung des zu untersuchenden Mediums aufweist und kostengünstig herstellbar ist [4]. Darüber hinaus bietet ein solches Sensorsubstrat entsprechend der Herstellung und des Sensoraufbaus die Möglichkeit mehrere Parameter gleichzeitig zu detektieren.

Für die selektive, parallele Parameterbestimmung bietet die Anwendung von Stimuli-responsiven Hydrogelen einige Vorteile. Zum einen sind Hydrogele kostengünstig und einfach in der Handhabung, zum anderen handelt es sich dabei um biokompatible Substanzen, die auch im medizinischen Bereich Anwendung finden [5]. Hydrogele sind dreidimensionale Polymernetzwerke, die in Folge eines Stimulus große Mengen an Flüssigkeit absorbieren. Dieser Vor-

gang ist reversibel, wobei die Flüssigkeit desorbiert wird sobald der Stimulus entfernt wurde [5,6]. Entsprechend ändert sich das Polymer-Flüssigkeits-Verhältnis während eines Quell- bzw. Entquellvorgangs.

Mittels des plasmonischen Sensorsubstrats wird die Brechzahl des Hydrogels n_{Hydrogel} detektiert, die von den Brechzahlen von Polymeretzwerk n_{Polymer} und Analyt n_{Analyt} sowie den gemäß Quellgrad vorliegenden Volumenanteilen v_i abhängt (s. Glg. 1).

$$n_{\text{Hydrogel}} = n_{\text{Analyt}} * v_{\text{Analyt}} + n_{\text{Polymer}} * v_{\text{Polymer}} \quad (1)$$

In diesem Beitrag werden erste Ergebnisse von Untersuchungen vorgestellt, die eine getrennte Messung der Brechzahl des Analyts und der des Hydrogels verfolgen. Dies erfolgt am Beispiel eines Ethanol-sensitiven Hydrogels zur Ermittlung von verschiedenen Ethanolkonzentrationen. Die inline Detektion von Ethanol spielt unter anderem in Fermentationsprozessen eine zentrale Rolle.

Zur gleichzeitigen Detektion der Hydrogel- und Analytbrechzahl wurden die Sensorsignale einer mit Hydrogel funktionalisierten Messfläche des plasmonischen Sensorsubstrats und die einer nicht funktionalisierten Referenzfläche ausgewertet und verglichen. Für Echtzeitdetektionen sind schnelle Ansprechzeiten wichtig, diese wurden hier durch dünne Hydrogelschichten (ca. 4 μm) mit zusätzlicher Mikrostrukturierung umgesetzt. Darüber hinaus wurden realitätsnahe Bedingungen durch kontinuierlich fließenden Medien (Ethanollösungen) geschaffen.

Methoden und Materialien

Plasmonisches Sensorsubstrat

Das plasmonische Sensorsubstrat weist vier optisch sensitive, nanostrukturierte Flächen (5x5 mm²) auf. Die Nanostrukturen sind hexagonal angeordnet, besitzen einen Durchmesser von ca. 230 nm, einen Abstand von ca. 450 nm und eine Höhe von ca. 150 nm. Die Herstellung erfolgt mittels Nanoimprintlithographie unter Verwendung eines $\mu\text{Contact-Printers 4.1}$ (GeSiM mbH, Großberkmannsdorf, Deutschland). Als Substrat wurde eine Polymerfolie aus Cyclo Olefin Polymer (COP) verwendet, da diese optisch transparent und im Herstellungsprozess temperaturbeständig ist. Auf den (COP)-Wafer wurde mittels Spincoater WS-650 (Laurell Technologies Corporation, North Wales, USA) eine Photoresist-Schicht (SU-8) aufgebracht und anschließend mittels eines optisch transparenten Polydimethylsiloxan(PDMS)-Stempels, der das Negativ der gewünschten Nanostruktur trägt, die Strukturen geprägt und mit UV-Licht

gehärtet. Dann erfolgte die Beschichtung mit 75 nm Gold mittels Sputtercoater Q300T D (Quantum Design GmbH, Darmstadt, Deutschland).

Die Goldbeschichtung der Nanosäulen ermöglicht eine resonante Anregung von kollektiven Elektronenschwingungen (Oberflächenplasmonen) an der Grenzfläche zwischen Metall (Gold) und Dielektrikum (Resist) durch direkt einfallendes Licht [4,7]. Die Struktur wird durch eine breitbandige LED beleuchtet. Das durch die Struktur transmittierte Licht zeigt in Folge der Energieabsorption aufgrund der Anregung von Oberflächenplasmonen ein Minimum im Transmissionspektrum (s. Abb. 1).

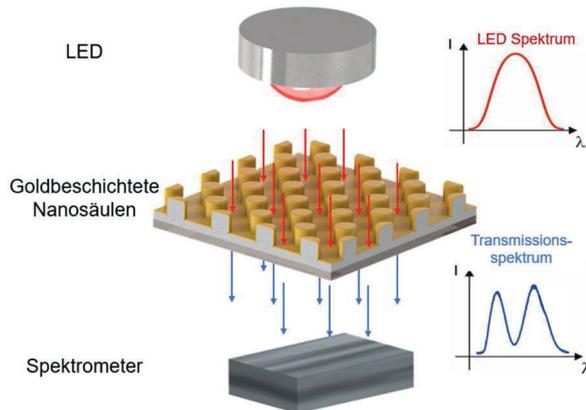


Abb. 1: Schematische Darstellung des Transmissionsaufbaus.

Die spektrale Position dieses Minimums (Resonanzwellenlänge) ist direkt proportional zur oberflächennahen Brechzahl. Die Verschiebung der Resonanzwellenlänge in Folge der geänderten Brechzahl in der Umgebung der Nanosäulen wurde hier zur Detektion der Ethanolkonzentration verwendet.

Flusszelle

Um realitätsnahe Messbedingungen in den Versuchen abbilden zu können, wurden die Untersuchungen unter kontinuierlich strömenden Flüssigkeiten durchgeführt. Hierfür wurde das zuvor hergestellte Sensorsubstrat mit einer Folie beklebt, die mikrofluidische Kanäle aufweist. Die Kanäle besitzen eine Höhe von ca. 180 μm und eine Breite von ca. 2,5 mm. Um die eingangs beschriebene Überlage-

rung der Brechzahl des Analyten mit der des Hydrogels detektieren zu können, wurden eine Messfläche und eine Referenzfläche verwendet (s. Abb. 2a). Die Messfläche wurde, wie folgend beschrieben, mit einem Ethanol-sensitiven Hydrogel funktionalisiert und dient somit der Detektion der Brechzahl des Gels. Als Referenzfläche diente die reine goldbeschichtete Nanostruktur zur Detektion der Flüssigkeitsbrechzahl.

Um später den Kanal abzudichten wurde nach der Funktionalisierung der Messfläche eine hydrophile Deckfolie verwendet, die Löcher für Ein- und Auslass der durchströmenden Flüssigkeit vorsieht.

Hydrogelfunktionalisierung

Zunächst wurde die Goldoberfläche der Nanostruktur mittels eines UV/Ozone ProCleaners (NanoAndMore GmbH, Wetzlar, Deutschland) gereinigt und aktiviert. Anschließend erfolgte zur kovalenten Bindung des Gels an die Oberfläche eine Funktionalisierung mit 1,3 mg Bisacryloylcrystamin in 25vol%iger Dimethylsulfoxid-Lösung (ca. 12 h bei Raumtemperatur).

Die Synthese einer Ethanol-sensitiven Hydrogellösung wurde entsprechend [8] durchgeführt und diese wie in [9] beschrieben mit UV-Initiator versetzt.

Zum Polymerisieren und Strukturieren der Hydrogellösung wurde der $\mu\text{ContactPrinter 4.1}$ (GeSiM mbH, Grobberkmannsdorf, Deutschland) eingesetzt. Um die Strukturierung innerhalb des mikrofluidischen Kanals vornehmen zu können, wurde ein zuvor hergestellter PDMS-Stempel mit einer Stempelfläche von $2 \times 2 \text{ mm}^2$ mit 2 μm Parylene-C beschichtet. Die Polymerisierung von 0,5 μL der Hydrogellösung erfolgte unter UV-Licht für 2 min. Die entstandene Hydrogelschicht wies eine Höhe von ca. 4 μm und Strukturelemente von ca. $15 \times 15 \mu\text{m}^2$ auf (s. Abb. 2b).

Nach der der Polymerisierung des Gels wird das Hydrogel für 24h in deionisiertem Wasser gewaschen und anschließend mehrmals mit wechselnden Ethanolkonzentrationen konditioniert.

Fluidisches Messsystem

Das in Abb. 3 gezeigte Sensorkonzept vereint sowohl fluide als auch optische Komponenten. Mittels Spritzenpumpen der Fluideinheit (GeSiM mbH, Grobberkmannsdorf,

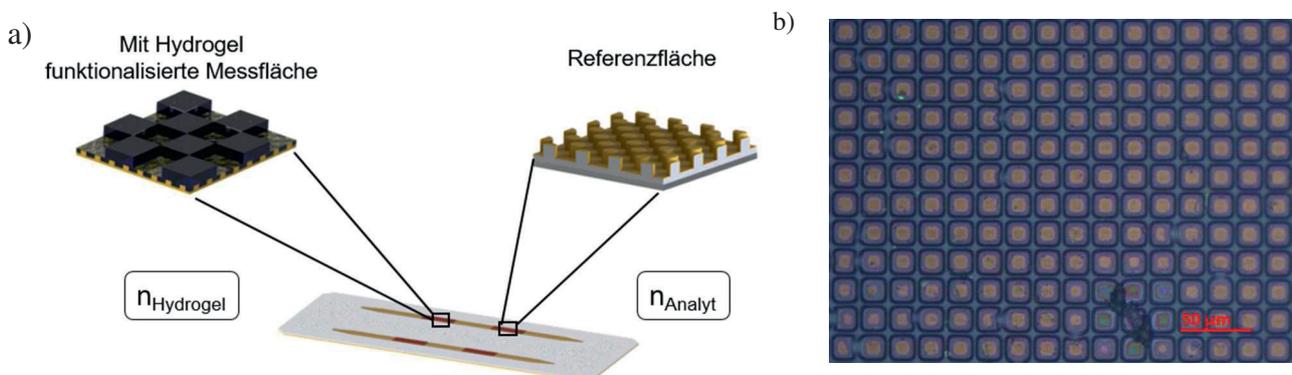


Abb. 2: a) Sensorsubstrat mit mikrofluidischen Kanälen zur Detektion der Brechzahl des Hydrogels (Messfläche) und der Flüssigkeit (Referenzfläche) b) Mikroskopbild eines mikrostrukturierten Hydrogels auf einer Nanostruktur.

Deutschland) werden kontinuierlich 500 μL mit 3 $\mu\text{L/s}$ der zu untersuchenden Lösungen über die Sensorflächen geführt. Gleichzeitig können durch integrierte LEDs, Oberflächenplasmonen auf den vier nanostrukturierten Flächen angeregt werden. Die Verwendung eines fasergekoppelten Spektrometers (Multitel, Mons, Belgien) ermöglicht die Detektion der Transmissionsspektren und die anschließende Bestimmung der Minima mittels Fit einer Lorenz-Funktion.

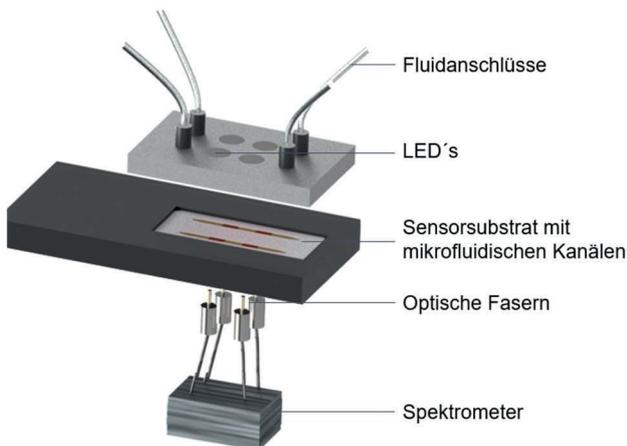


Abb. 3: Schematischer Aufbau des Sensors mit optischen und fluidischen Komponenten.

Ergebnisse

Zunächst wurden Ethanolösungen von 0 vol% bis 30 vol% mit aufsteigender Konzentration mit dem zuvor beschriebenen Sensoraufbau untersucht. Mittels automatisierter Resonanzwellenlängenbestimmung erfolgte die parallele Aufzeichnung der Sensorgramme von Mess- und Referenzfläche (s. Abb. 4). Dabei verschieben sich sowohl die Resonanzwellenlänge der Messfläche als auch die der Referenzfläche in den roten Wellenlängenbereich.

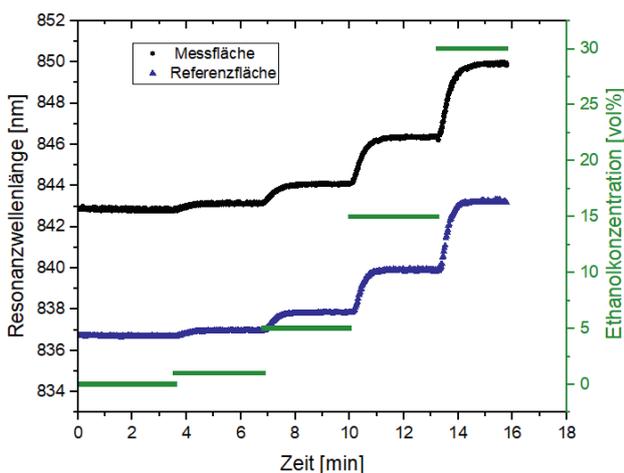


Abb. 4: Sensorgramme der Mess- und Referenzfläche für Ethanolösungen von 0 bis 30 vol%

Mit aufsteigender Ethanolkonzentration entquillt das Hydrogel und die im Polymernetzwerk enthaltene Flüssigkeit

(Analyt) wird desorbiert. Die Brechzahl des Hydrogels wird größer, da der Volumenanteil des gegenüber der Flüssigkeit höherbrechenden Polymers steigt. Gleichzeitig erhöht sich die Brechzahl des Analyten mit steigender Ethanolkonzentration. Mit der Messfläche wird die Brechzahländerung des Hydrogels durch Änderung des Quellgrades in Überlagerung mit der Brechzahländerung des im Polymernetzwerk enthaltenden Analyten (s. Glg. 1) detektiert. Zur Trennung des Effekts der Brechzahländerung durch einen Quell- oder Entquellvorgang vom Effekt der Brechzahländerung des Analyten muss folglich eine getrennte Detektion erfolgen.

In weiteren Messreihen wurden Ethanolkonzentrationen von 0 vol% bis 100 vol% untersucht. Zum Vergleich der Mess- und Referenzfläche wurden die Resonanzwellenlängen der stationären Zustände (20 Messwerte gemittelt) bestimmt und die Verschiebung gegenüber der Resonanzwellenlänge für deionisiertes Wasser (0 vol% Ethanol) ermittelt. Diese Verschiebung (gemittelt aus zwei Messreihen, Fehlerbalken aus den Standardabweichungen) wurde über den Ethanolkonzentrationen aufgetragen (s. Abb. 5).

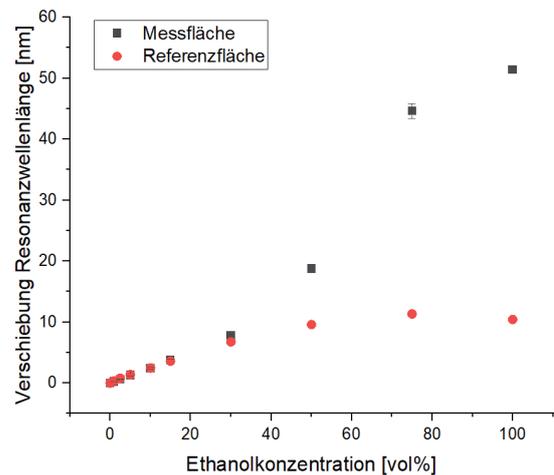


Abb. 5: Verschiebung der Resonanzwellenlänge von Mess- und Referenzfläche für Ethanolkonzentrationen von 0 bis 100 vol%.

Die Referenzkurve zeigt ein entsprechend [10] zu erwartendes Verhalten. Die Brechzahl von Ethanol-Wasser-Lösungen zeigt bis ca. 75 vol% (41 mol% [10]) einen Anstieg und ein anschließendes Abflachen. Die Anomalie solcher Lösungen ist unter anderem auf stärker auftretende intermolekulare Wechselwirkungen zwischen Ethanol- und Wassermolekülen zurückzuführen [10].

Der direkte Vergleich der Kurven von Mess- und Referenzfläche (s. Abb. 5) zeigt, dass diese anfangs einen ähnlichen Verlauf haben, aber mit steigender Konzentration weiter voneinander abweichen. Das Ethanol-sensitive Hydrogel entquillt mit aufsteigender Konzentration, somit verliert der Anteil der Analytbrechzahl immer weiter an Einfluss, aufgrund des kleiner werdenden Volumenanteils der Flüssigkeit. Die exakten Volumenanteile von Polymernetzwerk und Analyt sind aus Abb. 5 nicht abzulesen und sind daher Bestandteil zukünftiger Arbeiten.

Diskussion

Die Verwendung von Sensorsubstraten mit plasmonisch aktiven Flächen ermöglicht die parallele Detektion von mehreren Parametern. Hier wurden Ergebnisse vorgestellt, welche gleichzeitig die Brechzahl eines Ethanol-sensitiven Hydrogels (Messfläche) und die Brechzahl des untersuchten Analyten (Referenzfläche) unter kontinuierlich fließenden Medien detektieren. Dabei wurde festgestellt, dass die Brechzahl des Analyten Einfluss auf die Brechzahl des Hydrogels hat. Dieser Einfluss wird kleiner je mehr das Hydrogel entsprechend der Anwesenheit des Stimulus entquillt. Während des Entquellvorgangs wird der Volumenanteil der im Polymernetzwerk enthaltenen Flüssigkeit immer kleiner, somit wird der Einfluss der Analytbrechzahl auf die Brechzahl des Hydrogels ebenfalls kleiner. Die Verläufe der Volumenanteile von Polymer und Flüssigkeit im Hydrogel während eines Quell- bzw. Entquellvorgangs sind für die Kalibrierung zur Untersuchung von komplexen Medien entscheidend und werden in zukünftigen Arbeiten untersucht. Hier konnte zunächst gezeigt werden, dass mit dem beschriebenen Sensorsystem eine getrennte Detektion mit Mess- und Referenzfläche möglich ist.

Zukünftig können bis zu vier optisch sensitive Flächen des plasmonischen Sensorsubstrats zur parallelen Detektion der zu überwachenden Flüssigkeitsparameter genutzt werden. Neben dem bereits angewendeten Ethanol-sensitiven Hydrogel bietet sich für die Überwachung von Fermentationsprozessen ein Glucose-sensitives Hydrogel an. Während der Fermentation von Glucose mit Hilfe von Hefezellen wird Ethanol und Kohlenstoffdioxid gebildet. Die simultane Detektion der Ethanol- und Glucosekonzentration sowie die Detektion der Analytbrechzahl mit der Referenzfläche kann eine bessere Prozessüberwachung bedeuten.

Literatur

- [1] BORISOV, S. M.; SEIFNER, R.; KLIMANT, I.: A novel planar optical sensor for simultaneous monitoring of oxygen, carbon dioxide, pH and temperature. In: *Analytical and bioanalytical chemistry* 400 (8) (2011), S. 2463–2474.
- [2] HUANG, H., YU, H., XU, H., YING, Y.: Near infrared spectroscopy for on/in-line monitoring of quality in foods and beverages: A review. In: *Journal of Food Engineering* 87 (3) (2008) S. 303–313.
- [3] KASEMSUMRAN, S., BOONDAENG, A., NGOW-SUWAN, K., JUNGTHEERAPANICH, S., APIWATANAPIWAT, W., JANACHAI, P.: Simultaneous Monitoring of the Evolution of Chemical Parameters in the Fermentation Process of Pineapple Fruit Wine Using the Liquid Probe for Near-Infrared Coupled with Chemometrics. In: *Foods* (Basel, Switzerland) 11 (3) (2022).
- [4] YANG, S.-C.; HOU, J.-L., FINN, A., KUMAR, A.; GE, Y., FISCHER, W.-J.: Synthesis of multifunctional plasmonic nanopillar array using soft thermal nanoimprint lithography for highly sensitive refractive index sensing. In: *Nanoscale* 7 (13) (2015), S. 5760–5766.
- [5] SUN, X., AGATE, S., SALEM, K. S., LUCIA, L., PAL, L.: *Hydrogel-Based Sensor Networks: Compositions, Properties, and Applications-A Review*. In: *Journal of Advanced Research* 6 (2) (2021), S. 140–162.
- [6] AHMED, E. M.: Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. In: *Journal of Advanced Research* 6 (2) (2015), S. 105–121.
- [7] MAIER, S. A.: *Plasmonics. Fundamentals and applications*. New York-Springer, 2007.
- [8] ERFKAMP, J., GUENTHER, M., GERLACH, G.: Hydrogel-based piezoresistive sensor for the detection of ethanol. In: *J. Sens. Sens. Syst.* 7 (1) (2018), S. 219–226.
- [9] KROH, C., WUCHRER, R., STEINKE, N., GUENTHER, M., GERLACH, G., HÄRTLING, T.: Hydrogel-based plasmonic sensor substrate for the detection of ethanol. In: *Sensors* (Basel, Switzerland) 19 (6) (2019).
- [10] RIOBOO, R. J., PHILIPP, M., RAMOS, M. A., KRÜGER, J. K.: Concentration and temperature dependence of the refractive index of ethanol-water mixtures: influence of intermolecular interactions. In: *The European physical journal. E, Soft matter* 30 (1) (2009), S. 19–26.

Danksagung

Die Autoren danken Cornelia Heitel für die Unterstützung bei der Aufnahme von Messreihen sowie Philip Knoch für die Hilfe bei der Bestimmung der Hydrogelschichtdicke.

Für die finanzielle Unterstützung im Rahmen des Graduiertenkollegs „Hydrogel-basierte Mikrosysteme“ (GRK 1865) gilt ein weiterer Dank der Deutschen Forschungsgemeinschaft.