DECHEMA
Gesellschaft für Chemische Technik
und Biotechnologie e.V.

LANGFASSUNGSBAND

6. – 8. Dezember 2021

15. Dresdner Sensor-Symposium

www.dechema.de/DSS15



© l.: BillionPhotos.com – stock.adobe.com; r.: Dmitry Kalinovsky – stock.adobe.com

MIT FREUNDLICHER UNTERSTÜTZUNG VON

AMA
Verband für Sensorik + Messtechnik
Innovatoren verbinden

Springer
ANALYTICAL & BIOANALYTICAL CHEMISTRY

Tagungsband

15. Dresdner Sensor-Symposium

Bei diesem Band handelt es sich um den Kongressband der
15. Dresdner Sensor-Symposium.
Dieser Band beinhaltet die Manuskripte zu den jeweiligen Vorträgen und Posterbeiträgen.

Für Form und Inhalt der Beiträge zeichnen sich die Autoren verantwortlich. Die AMA Service GmbH übernimmt keine Gewähr für die Richtigkeit, Genauigkeit und Vollständigkeit der Angaben sowie die Beachtung privater Rechte Dritter.

Herausgeber / Publisher:

AMA Service GmbH
Von-Münchhausen-Str. 49 • 31515 Wunstorf / Germany
Tel. +49 5033 9639-0 • Fax +49 5033 9639-20
info@ama-service.com • www.ama-service.com /
www.sensor-test.com / www.ama-science.org

ISBN 978-3-9819376-5-7

© AMA Service GmbH, 2021

DOI 10.5162/15dss2021/1

Einleitung

Zwei Themen haben in den letzten beiden Jahren in der Öffentlichkeit, aber auch in der Wissenschaft dominiert, nämlich der Klimawandel und die CoViD-19-Pandemie. Bei beiden spielen auch Messtechnik und Sensorik eine große Rolle, man denke nur an die Schnell- und PCR-Tests, aber auch an die statistischen Daten wie Inzidenzzahlen und Infektionsrisiko in der Pandemie sowie die inzwischen zumindest in der Wissenschaft geklärte Frage, ob der Klimawandel vom Menschen verursacht ist. Diese Themen werden uns selbstverständlich auch beim diesjährigen Dresdner Sensor-Symposium begegnen, vor allem freuen wir uns aber, dass die Veranstaltung – zumindest nach aktuellem Planungsstand – wieder in Präsenz stattfinden kann. Somit ermöglicht das DSS wieder den in den letzten knapp zwei Jahren schmerzlich vermissten direkten Austausch.

Das Thema Klimawandel bzw. Ansätze zu dessen Abmilderung bilden den Einstieg in das diesjährige Symposium mit Vorträgen zu Sensoren für die Wasserstoffwirtschaft und allgemeiner zum European Green Deal. Auch die anschließende Podiumsdiskussion wird sich mit der Frage beschäftigen, wie Sensorik und Messtechnik bzw. allgemein Grundlagen- und anwendungsorientierte Forschung zu einer nachhaltigen Zukunft beitragen können. Traditionell präsentiert das Dresdner Sensor-Symposium dann in zwei Tagen in kompakter Form neueste Ergebnisse aus Forschung und Entwicklung in Forschungseinrichtungen und der Industrie. Es bietet damit eine hervorragende Gelegenheit, sich mit exzellenten Wissenschaftlern und Entscheidern aus der Industrie zu vernetzen und über den Tellerrand zu schauen, da das einzügige Vortragsformat und die umfassende Posterpräsentation mit Kurzvorstellung und ausgiebigen Diskussionssessions zum Austausch einlädt. 30 wissenschaftliche Vorträge und 63 Poster erwarten die Teilnehmenden. Acht Übersichtsvorträge renommierter Fachleute, u.a. von der EU-Kommission, der Siemens AG und dem GreenTech-Start-up Dryad sowie den Universitäten Basel, Regensburg und Zürich, prägen das hochkarätige Programm mit Beiträgen zum European Green Deal, zur Waldbrandfrüherkennung mit Gassensoren über die hyperspektrale Bildgebung bis zu Quanten-Sensortechnologien.

Das wissenschaftliche Schwergewicht stellen traditionell die vielen Posterbeiträge in einem breiten Spektrum von (Bio-)medizinischer bis Umweltsensorik dar, die den Charakter des Dresdner Sensor-Symposiums wesentlich prägen.
Die Diskussion an und um die Poster wird durch das Veranstaltungsformat mit Posterkurzpräsentationen und Posterparty am Montag, Postersessions in den Kaffeepausen und abschließender Prämierung der besten Poster am Mittwoch gestärkt. Die Online-Veröffentlichung aller Tagungsbeiträge auf dem Portal ama-science.org einerseits und die Kooperation mit wissenschaftlichen Zeitschriften zur Veröffentlichung erweiterter Beiträge andererseits garantieren die Sichtbarkeit der präsentierten Ergebnisse in der Community und für die breite Öffentlichkeit. Ich heiße Sie herzlich willkommen zum Dresdner Sensor-Symposium, einer führenden Plattform für Entwickler, Forscher, Hersteller und Nutzer moderner Sensoren und Messsysteme, und lade Sie ein zum Informations-austausch, zum Knüpfen neuer Kontakte und zur Initiierung von F&E-Projekten.



Prof. Andreas Schütze
Universität des Saarlandes
Chairman des 15. DSS

Dresdner Sensor-Symposium – Programmkomitee

Thorsten Conrad	3S GmbH - Sensors, Signal Processing, Systems, Saarbrücken
Frank Bier	Fraunhofer Institut für Biomedizinische Technik, Golm
Daniel Frank	DECHEMA e.V., Frankfurt am Main
Richard Fix	Bosch SensorTec GmbH, Stuttgart
Maximilian Fleischer	Siemens AG, München
Andreas Förster	DECHEMA e.V., Frankfurt am Main
Erik Frauendorfer	Wacker Chemie AG, Burghausen
Holger Fritze	Technische Universität Clausthal,Goslar
Jens Füssel	Westsächsische Hochschule Zwickau
Günter Gauglitz	Universität Tübingen
Gerald Gerlach	Technische Universität Dresden
Herbert Grieb	Siemens AG, Karlsruhe
Marek Höhse	Sartorius Weighing Technology GmbH, Göttingen
Ulrich Kaiser	Endress + Hauser Management AG, Reinach/CH
Fred Lisdat	Technische Hochschule Wildau
Reinhard Nießner	Technische Universität München
Thomas Scheper	Leibniz Universität Hannover
Andreas Schütze	Universität des Saarlandes, Saarbrücken
Heiko Tober	T & T medilogic Medizintechnik GmbH, Schönefeld
Winfried Vonau	Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik e.V., Meinsberg
Udo Weimar	Universität Tübingen
Stefan Zimmermann	Leibniz Universität Hannover

Vorträge

1. European Green Deal

Leitung: R. Fix, Bosch Sensortec GmbH, Reutlingen/D

1.1 Sensoren für die zukünftige Wasserstoffwirtschaft 14
J. Zosel, Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim/D;
M. Mertig, Technische Universität Dresden, Dresden/D

1.2 Was können Sensorik und Messtechnik zum Green Deal beitragen 20
S. Bowadt, European Commission, Research and Innovation

2. Industrielle Sensorik

Leitung: U. Kaiser, Innosuisse, Bern/CH

2.1 Hyperspektrale Bildgebung in der industriellen Anwendung 21
A. Gigler, Siemens AG, München/D

2.2 Mit UWB-Lokalisierung gekoppelte inertiale Lage- und Bewegungsverfolgung für instrumentierte Strömungsfolger 22
L. Buntkiel, S. Reinecke, Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf/D; A. Heller,
Fachhochschule Münster, Münster/D; C. Budelmann, Budelmann Elektronik GmbH, Münster/D;
U. Hampel, Technische Universität Dresden, Dresden/D

2.3 Erprobung eines neuartigen akustischen Sensorsystems zur Bestimmung von Gasgehaltsverteilungen in Mehrphasensystemen 28
M. Elfering, S. Annas, H. Jantzen, Fachhochschule Münster, Steinfurt/D;
U. Janoske, Bergische Universität Wuppertal, Wuppertal/D

3. (Bio-)Medizinische Sensorik

Leitung: G. Gauglitz, Eberhard Karls Universität Tübingen, Tübingen/D

3.1 Entwicklung von Nanomaterialien für sensitive und spezifische Biosensoren zum Einsatz in der klinischen Diagnostik, der Lebensmittelsicherheit und dem Umweltmonitoring 32
A. Baeumner, Universität Regensburg, Regensburg/D

3.2 Elektrochemische Aktivitätsbestimmung der humanen Monoaminooxidase B durch selektive Bindung 33
S. Höfs, T. Greiner, G. Göbel, F. Lisdat, Technische Hochschule Wildau, Wildau/D; A. Talke,
U. Ahnert, Biotez GmbH, Berlin/D

3.3 Vergleich von Strategien zur Funktionalisierung von Goldnanopartikeln mit Antikörpern für Lateral Flow POCT 37
M. Conrad, G. Proll, G. Gauglitz, E. Karls, Universität Tübingen, Tübingen/D; E. Builes, A. Dietzel,
Technische Universität Braunschweig, Braunschweig/D; S. Wagner, A. Sill, Universität Oldenburg,
Oldenburg/D

3.4 Porous architectures of boron-doped diamond for electroanalysis 43
S. Baluchová, K. Schwarzová-Pecková, Charles University, Prague/CZ; A. Taylor, S. Sedláková,
V. Mortet, L. Klimša, J. Kopeček, FZU - Institute of Physics of the Czech Academy of Sciences,
Prague/CZ

3.5 Induzierte pH-Wert Änderungen innerhalb mikrofluidischer Kanäle mittels licht-adressierbarer Elektroden 47
R. Welden, Fachhochschule Aachen, Jülich/D; P. Wagner, Katholische Universität Leuven,
Leuven/BEL; M. Schöning, T. Wagner, Forschungszentrum Jülich GmbH, Jülich/D

3.6 Detektion von Antikörpern gegen SARS-CoV-2 und ihrem Neutralisationspotential mittels Microarray-Immunoassays 51
J. Klüpfel, M. Elsner, M. Seidel, U. Protzer, O.Hayden, Technische Universität München, München/D;
M. Ungerer, ISAR Bioscience GmbH, Planegg/D

4. Umweltsensorik

Leitung: W. Vonau, Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik e.V., Meinsberg/D

4.1 Tragbare und selektive Gassensoren 57
A. Güntner, UniversitätsSpital Zürich und Universität Zürich, Zürich/CH

4.2 Compact Electrospray Ionization Ion Mobility Spectrometer 60
C. Thoben, C. Raddatz, A. Ahrens, J. Schulte, A. Staschel, S. Zimmermann,
Leibniz University Hannover, Hannover/D

4.3 Echtzeitfähige aktive Gas-Kamera 64
M. Bergau, B. Scherer, Endress+Hauser Process Solutions GmbH, Freiburg/D; J. Wöllenstein,
Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg/D

4.4 Impedimetrischer Biofilm-Inlinesensor 68
A. Delan, M. Günther, G. Gerlach, Technische Universität Dresden, Dresden/D; M. Becker, M. Boer,
4H-JENA engineering GmbH, Jena/D; K. Liefeith, M. Frant, J. Rost, U. Schirmer, Institut für
Bioprozess- und Analysenmesstechnik e.V., Heilbad Heiligenstadt/D

4.5 Die Pulveraerosoldepositionsmethode - ein neues Verfahren zur Herstellung dichter Sensorschichten bei Raumtemperatur 72
R. Moos, Universität Bayreuth, Bayreuth/D

5. Smarte (Gas-)Sensorik

Leitung: H. Grieb, Siemens AG, Karlsruhe/D

5.1 Erhöhung der Dimensionalität und Stabilität von Gassensorsystemen als Basis für die erfolgreiche Anwendung von Methoden des maschinellen Lernens 75
C. Schultealbert, T. Baur, M. Leidinger, W. Reimringer, T. Conrad, 3S GmbH, Saarbrücken/D

5.2 Embedded AI for Gas Sensors - An Industrial Perspective 81
A. Schröter, R. Schreiber, C. Meyer, Renesas Electronics Germany GmbH, Dresden/D;
R. Chilumula, C. Kostelecky, Renesas Electronics America, Longmont/USA

5.3 Überwachung der Luftqualität in Innenräumen mittels komplexer Sensorsysteme und Deep Learning Ansätzen 85
Y. Robin, J. Amann, P. Goodarzi, T. Baur, C. Schultealbert, T. Schneider, A. Schütze,
Universität des Saarlandes, Saarbrücken/D

5.4 Abschätzung der Messunsicherheit in smarten Sensornetzwerken mittels künstlichem Rauschen und maschinellem Lernen 92
T. Dorst, ZeMA – Zentrum für Mechatronik und Automatisierungstechnik gGmbH, Saarbrücken/D;
P. Christoffel, J. Kunze, A. Schütze, Universität des Saarlandes, Saarbrücken/D

5.5 Waldbrandfrüherkennung mit Gassensoren 97
J. Müller, Dryad Networks GmbH, Berlin/D

6. Neuartige Sensormaterialien und -technologien

Leitung: S. Zimmermann, Leibniz Universität Hannover, Hannover/D

6.1 Quanten-Sensortechnologien basierend auf Elektronenspins in Diamanten 98
P. Maletinsky, University of Basel, Basel/CH

6.2 Herstellung und Charakterisierung von smarten thermosensitiven Hydrogelen mit eingebetteten Gold- und Silber-Nanopartikeln 99
K. Rückmann, R. Middendorff, J. Körner, Leibniz Universität Hannover, Hannover/D

6.3 Neuartige Methode zur Veränderung der charakteristischen Sensoreigenschaften der WO_3-Sensoren 101
U. Geyik, N. Barsan, U. Weimar, Eberhard Karls Universität Tübingen, Tübingen/D; H. Raza, N. Pinna, Humboldt-Universität zu Berlin, Berlin/D

6.4 Monitoring der Sättigungszustände von Deichbauwerken mittels impedimetrischer Sensoren . . . 105
W. Fichtner, M. Mertig, Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim/D; D. Fleischer, U. Helbig, Technische Universität Dresden, Dresden/D

7. Hochtemperatursensorik

Leitung: J. Füssel, Westsächsische Hochschule Zwickau, Zwickau/D

7.1 Temperaturmessung bis 1000°C mit Hilfe gehauster piezoelektrischer Resonatoren 111
M. Schulz, R. Ghanavati, H. Fritze, Technische Universität Clausthal, Clausthal/D; F. Kohler, J. Wilde, Albert-Ludwigs Universität Freiburg, Freiburg/D

7.2 Chemische Ausdehnung von Sensor- und Elektrolytmaterialien bei hohen Temperaturen 112
D. Kohlmann, H. Wulfmeier, M. Schewe, C. Rembe, H. Fritze, Technische Universität Clausthal, Clausthal/D

7.4 Herausforderungen für Kameras in Automobilanwendungen und wie man diese testet 113
D. Wüller, Image Engineering GmbH & Co. KG, Kerpen/D; S. Ulrich, Robert Bosch GmbH

Posterprogramm

P1. Sensornetzwerke für die industrielle Digitalisierung

P1.1 Entwicklung eines Low-Cost PM-Sensorenclusters zur Untersuchung des Abscheideverhaltens eines Nassabscheiders 115
F. Reinke, J. Meyer, A. Dittler, Karlsruher Institut für Technologie, Karlsruhe/D; M. Novosel, ESTA Apparatebau GmbH & Co. KG, Senden/D

P2. Sensoren für Bioprozess- und Verfahrenstechnik

P2.1 Transiente Untersuchungen des Stofftransports von Gasen in porösen Materialien 120
R. Grün, C. Breitkopf, Technische Universität Dresden, Dresden/D

P2.2 Differential Inductive Sensing System using a Differential Transformer with Shielded and Split Primary Coil 121
M. Berger, A. Zygmanowski, S. Zimmermann, Leibniz University Hannover, Hannover/D

P2.3 Kombination optischer Rückstreusensorik und Single-Use-Technologie zur Prozessintensivierung von Zellkultur-Prozessen 126
M. Rotter, L. Käßer, J. Kneitz, F. Eilts, G. Dekevic, D. Salzig, Technische Hochschule Mittelhessen, Gießen/D; T. Hanselmann, G. Cremers, D. Exner, Exner Process Equipment GmbH, Ettlingen/D; P. Czermak, Justus-Liebig Universität, Gießen/D

P2.4 RuO2-basierte pH-Sensoren zur kontinuierlichen Überwachung chemischer Bäder 132
F. Bauer, Y. Joseph, F. Güth, Technische Universität Bergakademie Freiberg, Freiberg/D; D. Wett, C. Boinski, Institut für Korrosionsschutz Dresden GmbH, Dresden/D

P2.6 Charakterisierung von Filtermedien durch den Einsatz von Photozentrifugalfiltration (ACF) 137
S. Boldt, D. Krause, D. Lerche, LUM GmbH, Berlin/D; C. Weibel, P. Lösch, S. Antonyuk, Technische Universität Kaiserslautern, Kaiserslautern/D

P3. (Bio-)Medizinische Sensorik

P3.1 Application of hybrid CeO2/Au nanoparticles for photoelectrochemical sensing schemes 143
F. Lisdat, M. Riedel, Technical University of Applied Sciences Wildau, Wildau/D; S. Zhao, W. Parak, Hamburg University, Hamburg/D; Z. Yue, Nankai University, Tianjin/China

P3.2 Entwicklung eines optischen Sensors basierend auf Reflektometrischer Interferenzspektroskopie zur Charakterisierung von Proteinkinasenhemmung 144
V. Wurster, P. Fechner, G. Proll, C. Huhn, Eberhard Karls Universität Tübingen, Tübingen/D

P3.3 Smarte Hydrogele als sensorische Elemente in der Atemgas-Analyse 145
S. Wang, G. Gerlach, Technische Universität Dresden, Dresden/D; J. Körner, Leibniz Universität Hannover, Hannover/D

P3.4 Anwendung von silanisiertem Graphenoxid als Plattform für die Immobilisierung von Sonden-Oligonukleotiden für den kabellosen elektrochemischen miRNA-Nachweis 149
S. Falahi, P. Rahimi, Y. Joseph, Technische Universität Bergakademie Freiberg, Freiberg/D

P3.5 Vergleich von Auswertemethoden für quantitative Biomolekulare Interaktionsanalyse 153
M. Conrad, P. Fechner, G. Proll, G. Gauglitz, Eberhard Karls Universität Tübingen, Tübingen/D

P3.6 Ultrasensitiver nicht-enzymatischer Glukosesensor auf der Basis eines nanostrukturierten 3D-Spongin-Atacamit-Komposits 154
P. Rahimi, S. Falahi, I. Petrenko, H. Ehrlich, Y. Joseph, Technische Universität Bergakademie Freiberg, Freiberg/D

P3.7 Photobioelectrochemical cells as potential energy source for low power consumers such as sensors 158
M. Riedel, G. Göbel, S. Morlock, F. Lisdat, Technical University Wildau, Wildau/D; A. Zouni, Humboldt University Berlin, Berlin/D

P3.8 Novel electrochemical probes used to monitor structure-specific behaviour of oligonucleotides on charged electrode surface 159
A. Daňhel, M. Fojta, Institute of Biophysics of the CAS, Brno/CZ; D. Dobrovodský, Masaryk University, Brno/CZ

P3.9 Flexible, amperometrische Biosensoren basierend auf der Seide des Seidenspinners Bombyx mori 164
D. Molinnus, Rheinisch-Westfaelische Technische Hochschule Aachen, Aachen/D; K. Janus, H. Iken, Fachhochschule Aachen, Jülich/D; A. Drinic, M. Köpf, A. Kopp, Fibrothelium GmbH, Aachen/D; N. Kröger, M. Zinser, Universitätskrankenhaus Köln, Köln/D; R. Smeet, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg/D; M. Keusgen, Philipps Universität Marburg, Marburg/D; M. Schöning, Forschungszentrum Jülich, Jülich/D

P3.10 Immobilisierung, physikalische und elektrochemische Charakterisierung von Gold-Nanopartikeln auf kapazitiven Feldeffekt-Sensoren 168
T. Karschuck, C. Kaulen, Fachhochschule Aachen, Jülich/D; A. Poghossian, MicroNanoBio, Düsseldorf/D; P. Wagner, Katholische Universität Leuven, Leuven/BEL;M. Schöning, Forschungszentrum Jülich GmbH, Jülich/D

P3.11 “All-in-one” cell-based biosensor for on-site monitoring of cell response 173
D. Özsoylu1, Fachhochschule Aachen, Jülich/D; M. Schöning, T. Wagner, Forschungszentrum Jülich GmbH, Jülich/D

P3.12 Online-Monitoring der Sterilisationsgüte in aseptischen Lebensmittelverpackungen mittels Sensortechnologie 177
F. Vahidpour, T. Wagner, Fachhochschule Aachen, Jülich/D; M. Schöning, Forschungszentrum Jülich GmbH, Jülich/D

P4. (Bio-)Medizinische Sensorik

P4.1 Chitosan-modifizierte Sensoren für elektrochemische Anwendungen in Spreewasserproben . . 181
J. Schwarz, K. Trommer, Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim/D; A. Svirepa, M. Mertig, Technische Universität Dresden, Dresden/D; S. Schwarz, Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden e.V., Dresden/D

P4.2 Entwicklung einer miniaturisierten Multiparametersonde für limnologische Anwendungen 185
F. Gerlach, W. Vonau, Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim/D; R. Bannasch, I. Lange, EvoLogics GmbH, Berlin/D; O. Mietz, S.-Ch. Mietz, Institut für angewandte Gewässerökologie GmbH, Seddiner See/D

P4.3 Analyse von Legionella pneumophila in Aerosolen aus Verdunstungskühlanlagen mittels einer flussbasierten Mikroarray- Plattform 190
L. Heining, M. Seidel, Technische Universität München, Garching/D; L. Welp, A. Hugo, Institut für Energie- und Umwelttechnik, Duisburg/D

P4.4 Stabilitätsuntersuchungen an miniaturisierten Nitratsensoren 193
M. Silva de Assis, K. Trommer, A. Kick, J. Schwarz, Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim/D; M. Mertig, Technische Universität Dresden/D

P4.6 Kombinierung eines Wasser-Sensorsystems mit einem vollautomatischen indirekt kompetitiven Durchfluss-Mikroarray-Immunoassay als Frühwarn-System für vermehrtes Algenwachstum und Freisetzung von Algentoxinen in Oberflächengewässern 199
A. Auernhammer, M. Seidel, Technische Universität München, Garching/D; C. Hu, A.U.G. Signals Ltd., Ontario/CAN

P4.7 Multiparameter Messkette für tiefenaufgelöste Gewässerüberwachung 203
O. Dreier, F. Güth, Y. Joseph, TU Bergakademie Freiberg, Freiberg/D

P4.8 Neue Wege in der wasserbezogenen Umweltsensorik 208
M. Seidel, Technische Universität München, München/D

P4.9 Stimuli-responsive Ferrogele zur Umweltüberwachung von Schwermetallen 212
A. Mieting, Y. Wei, D. Franke, M. Günther, G. Gerlach, Technische Universität Dresden, Dresden/D

P4.10 Entwicklung eines voltammetrischen In-situ-Sensorsystems zum Nachweis von As(III) und As(V) 216
J. Weißpflog, K. Trommer, J. Schwarz, M. Mertig, Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim/D

P4.11 Voltammetrische Bestimmung von Schwermetallionen in Umweltproben mit elektrochemischen All-Solid-State-Sensoren 222
J. Yao, J. Schwarz, K. Trommer, Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim/D; M. Mertig, Technische Universität Dresden, Dresden/D

P4.12 Glyphosat geprägte Polymere als kostengünstige und robuste künstliche selektive Sorptionsmittel für die Modifizierung von low-cost Sensoren 227
M. Zarejousheghani, P. Rahimi, Y. Joseph, Technische Universität Bergakademie Freiberg, Freiberg/D; H. Borsdorf, Helmholtz Centre for Environmental Research-UFZ, Leipzig/D; S. Zimmermann, Leibniz University Hannover, Hannover/D

P4.13 Zeitaufgelöste Messungen mit einem LSPR-Sensorsystem am Beispiel des Spurenstoffs Diclofenac 231
K. Thomschke, N. Steinke, C. Schuster, Fraunhofer Institut für keramische Technologien und Systeme IKTS, Dresden/D; M. Rio, Fraunhofer Center for Smart Agriculture and Water Management – AWAM, Vila Real/PRT; M. Seidel, Technische Universität München, München/D; F. Dortu, D. Bernier, MULTITEL asbl., Mons/BEL; S. Howitz, Gesellschaft für Silizium-Mikrosysteme mbH, Radeberg/D; T. Härtling, Technische Universität Dresden, Dresden/D

P4.14 Quantifizierung von Legionella spp. mittels isothermaler Amplifikation auf einem Chemilumineszenz-basierten Mikroarray 234
G. Schwaiger, M. Seidel, Technische Universität München, München/D

P4.15 Signalverstärkersystem basierend auf der Pheromon-gekoppelten Bildung eines Fluoreszenzproteins in Hefen 237
A. Kick, J. Lenhart, Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim/D; L. Tranelis, J. Döring, M. Patschin, K. Ostermann, M. Mertig, Technische Universität Dresden/D

P4.16 Detektion von Pflanzenviruspartikeln mittels eines feldeffektbasierten kapazitiven Biosensors . . 241
M. Welden, F. Vahidpour, Fachhochschule Aachen, Jülich/D; M. Keusgen, Universität Marburg, Marburg/D; T. Wendlandt, C. Wege, Universität Stuttgart, Stuttgart/D; A. Poghossian, MicroNanoBio, Düsseldorf/D; M. Schöning, Forschungszentrum Jülich GmbH, Jülich/D

P5. Lebensmittelsensorik

P5.1 Automatisierte Auswertung chromatographischer Daten für die Bewertung von Whisky 245
H. Haug, S. Singh, A. Grasskamp, T. Sauerwald, Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung IVV, Freising/D

P6. Smart Farming

P6.1 Sensorik zur bodenfeuchteabhängigen Saatgutablage 251
W. Fichtner, M. Mertig, Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim/D; P. Zimmermann, TEB, Berlin/D; D. Horlacher, H. Schönleber, LWB Heinz Friedrich Schönleber e.K., Niederstriegis/D

P6.2 Apparative Lösungen zur automatisierten potenziometrischen Analyse von Ackerbodenproben auf dem Feld 255
M. Decker, P. Teichmann, W. Vonau, Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim/D; M. Hönicke, F. Findeisen, Agricon GmbH, Ostrau/D

P8. Neuartige Sensormaterialien und -technologien

P8.1 Localized Catalyst Formation, Characterization and In Operando Monitoring of the Electrocatalytic Activity in Flow Reactors 260
C. Iffelsberger, M. Pumera, Brno Universitiy of Technology, Brno /CZE; S. Wert, F. Matysik, Universität Regensburg, Regensburg/D

P8.2 Dickschicht-Sulfidionensensor auf Basis einer Chalkogenidglas-ISE 261
U. Enseleit, W. Vonau, Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim, Waldheim/D; C. Feller, U. Partsch, Fraunhofer Institut für Keramische Technologien und Systeme, Dresden/D

P8.3 Spatially resolved read-out of enzymatic reactions based on CdSe/ZnS quantum dots 265
S. Zhao, W. Parak, Universität Hamburg, Hamburg/D; M. Riedel, G. Göbel, F. Lisdat, Technische Hochschule Wildau, Wildau/D; Z. Yue, Nankai University, Tianjin/China

P8.4 Herstellung und Charakterisierung von flexiblen potentiometrischen pH-Sensoren auf Parylene C Substraten 266
F. Selbmann, Technische Universität Bergakademie Freiberg, Freiberg/D; F. Güth, C. Miersch, Y. Joseph, Fraunhofer-Institut für Elektronische Nanosysteme, Chemnitz/D

P8.5 Feldeffektbasierte pH-Sensoren für die Überwachung von sauren Grubenwässern 271
T. Ihling, F. Güth, P. Arki, Y. Joseph, Technische Universität Bergakademie Freiberg, Freiberg/D

P8.6 Demonstrating Fast Current Measurement from Femtoamperes to Nanoamperes with an Ultra-Low Noise Current Amplifier 276
C. Wendt, A. Bohnhorst, S. Zimmermann, A. Kirk, Leibniz University Hannover, Hannover/D

P8.7 Herstellung stimuli-responsiver Ferrogele mittels alkalischer Präzipitation in Eisensalzen 280
A. Mieting, Y. Wie, D. Franke, M. Günther, G. Gerlach, Technische Universität Dresden, Dresden/D

P8.8 Electron capture detector based on X-rays 281
N. Solle, E. Bunert, S. Zimmermann, Leibniz University Hannover/D

P8.9 Split-Ring Resonator as Detector for Liquid Chromatography 285
K. Dehning, M. Hitzemann, E. Sterr, S. Zimmermann, Leibniz University Hannover, Hannover/D

P8.10 Chemische Hydrogelsensoren auf Basis des Bimorpheffekts mit kurzer Ansprechzeit 290
S. Schreiber, G. Gerlach, Technische Universität Dresden, Dresden/D; N. Steinke, Fraunhofer Institut für Keramische Technologien und Systeme (IKTS), Dresden/D

P8.11 Chemiresistiver Toluolsensor auf Basis von Polymerkompositen 295
M. Ehsani, F. Güth, Y. Joseph, Technische Universität Bergakademie Freiberg, Freiberg/D

P9. Miniaturisierte Sensorik und Messsysteme

P9.1 Charakterisierung der Quelldynamiken von smarten Hydrogelen mittels direkter optischer Erfassung 300
G. Mu, K. Rückmann, J. Körner, Leibniz Universität Hannover, Hannover/D

P9.2 Untersuchung kostengünstiger (Feinstaub-) Sensoren für die Überwachung der Aerosolausbreitung unter realen Bedingungen 302
M. Kerner, S. Antonyuk, Technische Universität Kaiserslautern, Kaiserslautern/D

P9.3 Entwicklung eines Hochtemperaturmessgerätes für die elektrische Leitfähigkeit, die Hall-Konstante und den Seebeck-Koeffizienten 303
R. Werner, J. Kita, R. Moos, Universität Bayreuth, Bayreuth/D; M. Gollner, F. Linseis, Linseis Messgeraete GmbH, Selb/D

P9.4 Neuartiger Pyroelektrischer Detektor mit Integrierter Signalkonditionierung und Digitaler Kommunikationsschnittstelle 305
R. Lehmkau, InfraTec GmbH, Dresden/D

P9.5 Compact, ultra-fast polarity switching ion mobility spectrometer with gas chromatographic pre-separation 311
M. Sehlmeyer, A. Ahrens, A. Bohnhorst, M. Hitzemann, S. Zimmermann, Leibniz University Hannover, Hannover/D; H. Brües, A. Walte, Airsense Analytics GmbH, Schwerin/D; V. Ruzsanyi, University of Innsbruck, Innsbruck/A

P9.6 Versatile platform for metal oxide semiconductor gas sensors for application specific optimization of temperature cycled operation 316
C. Fuchs, H. Lensch, O. Brieger, A. Schütze, Lab for Measurement Technology, Saarland University, Saarbrücken/D; T. Baur, 3S GmbH, Saarbrücken/D

P10. Hochtemperatursensorik

P10.1 Temperaturverteilung beheizter keramischer Sensorelemente innerhalb eines Gehäuses – Experimentelle Untersuchungen 321
T. Wöhrl, J. Herrmann, G. Hagen, J. Kita, R. Moos, Universität Bayreuth, Bayreuth/D

P10.2 Bestimmung der Verdampfungsgeschwindigkeit von Ag und Ag-Cu in der Schwerelosigkeit . . . 323
M. Schulz, H. Fritze, Technische Universität Clausthal, Clausthal/D

P10.3 Oberflächenwellensensoren für Hochtemperaturanwendungen basierend auf neuartigen Materialsystemen 324
B. Leszczynska, M. Seifert, N. Hampel, R. Weser, H. Schmidt, T. Gemming, A. Winkler, S. Menzel, Leibnitz-Institut für Festkörper- und Werkstoffforschung Dresden, Dresden/D

P10.4 Untersuchung der Langzeitstabilität von LiNb1-xTaxO3-Mischkristallen für Sensoranwendungen bei hohen Temperaturen 325
S. Hurskyy, Y. Suhak, H. Fritze, Technische Universität Clausthal, Clausthal/D; S. Ganschow, Leibniz Institut für Kristallzüchtung, Berlin/D

P13. (Selbst-) Validierung, Kalibrierung und Überwachung von Sensoren

P13.1 Modular design of a gas mixing apparatus for complex trace gas mixtures 326
D. Arendes, H. Lensch, J. Amann, A. Schütze, Saarland University, Saarbrücken/D; T. Baur, 3S GmbH, Saarbrücken/D

P13.3 Verfahren zur Bestimmung des Verschmutzungsgrades von Thermoelementen im Betrieb 332
D. Felkl, Ernst-Abbe-Hochschule Jena, Jena/D; H. Ruser, Universität der Bundeswehr München, Neubiberg/D

P13.4 Entwicklung eines kostengünstigen Gaschromatographie-Systems für die Messung von Reifegas mit Kompensation der Temperatureinflüsse auf die Säule 338
M. Köhne, G. Zeh, C. Schmidt, Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung, Freising/D; T. Sauerwald, Universität des Saarlandes, Saarbrücken/D

Vorträge

DOI 10.5162/15dss2021/1.1

Sensoren für die zukünftige Wasserstoffwirtschaft

Jens Zosel[1], Michael Mertig[1,2]

[1]Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V. (KSI), Kurt-Schwabe-Straße 4, 04736 Waldheim, Deutschland
[7]Professur für Physikalische Chemie, Mess- und Sensortechnik, Technische Universität Dresden, 01062 Dresden, Deutschland
Kontakt: jens.zosel@ksi-meinsberg.de

Einleitung

Als chemischer Grund-, Prozess- und Hilfsstoff wird Wasserstoff (H_2) bereits seit vielen Jahrzehnten in einer Vielzahl von Industriezweigen verwendet [1]. Geschultes Personal und eine ausgereifte Sicherheitstechnik gewährleisten hier den sicheren Umgang mit H_2 [2]. Jedoch wird dieses Gas in immer mehr Anwendungen als sauberer Energieträger aus erneuerbaren Quellen in Erwägung gezogen und zunehmend eingesetzt. Beispiele dafür sind die Entwicklung von Brennstoffzellenfahrzeugen aller Leistungsklassen [3], der Aufbau von Hochleistungs-Elektrolysesystemen für die Umsetzung überschüssiger Elektroenergie aus Wind-, Wasser- und Solarkraftwerken (*power-to-gas*) [4, 5] und der dezentrale Einsatz von H_2 als Energieträger auch im Heimbereich [6]. Diese Applikationen führen neben einer Dezentralisierung der H_2-Versorgungskette von der Herstellung über den Transport und die Zwischenspeicherung bis hin zu den Endnutzern auch zum zunehmenden Umgang mit H_2 durch ungeschultes Personal.

Auf der anderen Seite nimmt H_2 wegen mehrerer Besonderheiten als Gefahrstoff eine Sonderstellung unter den bislang verwendeten fluiden Energieträgern ein. Die wohl wichtigste sicherheitsrelevante Eigenschaft betrifft die äußerst geringe Zündenergie von 16 µJ, die mit einem vergleichsweise weiten Zündbereich der H_2-Volumenkonzentration an Luft zwischen 4 % und 75 % sowie einer sehr geringen Dichte verknüpft ist. Diese Eigenschaften führten dazu, dass bei der Mehrzahl der bislang eingehend untersuchten Unfälle mit gezündeten H_2-Luft-Gemischen die Zündquelle nicht aufgeklärt werden konnte [7]. Heute werden deshalb in zunehmenden Maß Selbstentzündungsmechanismen austretender H_2-Hochdruck-Jets untersucht [8]. Zudem ist H_2 gemäß Abb. 1 [9] in einem sehr weiten Volumenstrombereich zündfähig. Ein weiteres Risiko im Umgang mit H_2 besteht darin, dass Wasserstoffflammen für das menschliche Auge weitgehend unsichtbar sind und so bereits häufiger vor ihrer Entdeckung signifikante Sekundärschäden verursacht haben. Aus diesen vielfältigen Risiken resultiert neben der Notwendigkeit einer angepassten Auslegung von H_2-enthaltenden Anlagen auch ein kontinuierliches Sicherheitsmonitoring der Infrastrukturen der neu entstehenden H_2-Wirtschaft. Dafür müssen hochsensitive und hochselektive H_2-Sensoren mit unteren Messgrenzen < 10 Vol.-ppm vorhanden sein, deren Signale intelligent verarbeitet und automatisiert mit aktiven Sicherheitskomponenten verknüpft werden müssen [10].

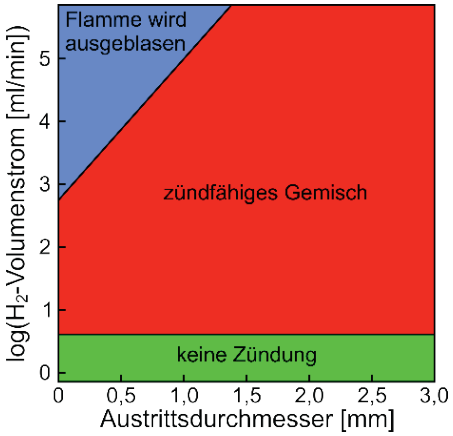


Abb. 1: Bereich der Entstehung zündfähiger Gemische bei Austritt von H_2 an Luft (nach [9]).

Neben der Leckageüberwachung werden im zunehmendem Maß auch Sensoren für die Überwachung der Konzentration und der Reinheit von H_2 in den Infrastrukturen für dessen Herstellung, Verteilung, Lagerung und Verarbeitung benötigt. Obwohl für diese neuen Anwendungsfelder bereits heute viele verschiedene H_2-Sensoren kommerziell verfügbar sind [11], bleiben dennoch immer noch wichtige Forderungen der Anwenderseite unerfüllt, die neben Selektivität, Zuverlässigkeit und Kosten auch erweiterte Messbereiche und äußere Bedingungen wie hohe Drücke und Gasfeuchten betreffen [12]. Deshalb wurden im abgeschlossenen Verbundvorhaben „Prozess- und Sicherheitssensorik für das Wasserstoff-Qualitätsmanagement (HyProS)“ die in Abb. 2 dargestellten H_2-Sensoren entwickelt, die im vorliegenden Beitrag näher vorgestellt werden.

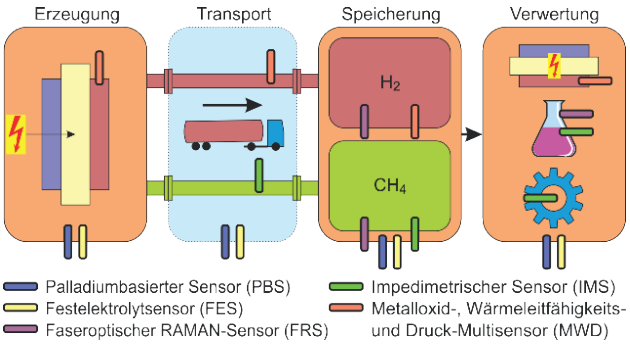


Abb. 2: Schematische Darstellung der Applikation von Sensoren und Messsystemen, die im Verbundvorhaben HyProS entwickelt wurden.

Methoden und Materialien

Für die Leckageüberwachung an wasserstoffverarbeitenden Anlagen wurden im Vorhaben hochminiaturisierte palladiumbasierte Sensoren (PBS) entwickelt, die im explosionsgeschützten Bereich einsetzbar sind [13]. Der Messbereich dieser Sensoren erstreckt sich von etwa 100 Vol.-ppm bis 100 Vol.-%. Um diesen bis zu Spurenkonzentrationen ab 0,5 Vol.-ppm zu erweitern, wurden diese Sensoren mit coulometrisch arbeitenden Festelektrolytsensoren (FES) kombiniert [14], die zur Selektivitätsverbesserung eine chromatographische Vortrennung des H_2-haltigen Messgases aufweisen.

Die Überwachung von Wasserstoff in Erdgasnetzen im Konzentrationsbereich bis 20 Vol.-% stellt eine weitere neue Applikation in der modernen Wasserstoffwirtschaft dar, da auf diese Weise beispielsweise der in *Offshore*-Windparks erzeugte Wasserstoff zu den Bedarfsträgern in den Industriegebieten ohne größere Investitionen transportiert werden kann. Dafür wurden im Vorhaben katalytisch-impedimetrische H_2-Sensoren (IMS) [15] sowie faseroptische Raman-Sensoren (FRS) [16] entwickelt und erprobt. Diese beiden Entwicklungsrichtungen wurden durch ein diversitär-redundantes H_2-Multisensorsystem (MWD), komplettiert, das aus einem selektivem Metalloxid(MOX)-Halbleitergassensor, einem miniaturisierten Wärmeleitfähigkeitsdetektor und einem H_2-stabilen Drucksensor besteht [17]. Die Signale dieser Einzelsensoren werden dabei durch eine intelligente Signalverarbeitung verknüpft, um beispielsweise in H_2-Druckspeichern bis 100 bar die Qualität des eingelagerten H_2 lückenlos überwachen zu können.

Themenübergreifend waren im Vorhaben weiterhin Querschnittsaufgaben vorgesehen, in denen Fragestellungen zur Materialauswahl für die Sensoren, zu deren Zuverlässigkeit und zu Alterungsvorgängen unter rauen Umgebungsbedingungen bearbeitet wurden. Weiterhin wurden im Rahmen dieser Querschnittsaufgaben Simulationsrechnungen zur Optimierung von Sensorlayouts, zu Bauteildeformationen und zu den Einsatzbedingungen der Sensoren in den o.g. Applikationen des erweiterten Projektkonsortiums im HYPOS-Verein durchgeführt [18].

Beschreibung der Sensoren und Messprinzipien

A) IMS

Der gemeinsam von der Hochschule für Technik und Wirtschaft und Kultur, Leipzig (HTWK), dem Leibniz-Institut für Katalyse e.V., Rostock, der Sciospec GmbH, Wurzen, und der Union Instruments GmbH, Karlsruhe, entwickelte IMS beruht auf der Erfassung des Spillover-H_2. Das in Abb. 3 dargestellte Prinzipschema dieses Sensor zeigt, dass die in der Gasphase vor dem Sensor vorhandenen Wasserstoffmoleküle an einer mit Platin-Keimen versehenen Oberfläche aus einem platinhaltigen H_2-Akzeptor adsorbieren und dort in einzelne angeregte H-Atome dissoziieren. Diese Atome diffundieren an der Sensoroberfläche in einem zweiten Schritt auf einen für die H_2-Dissoziation nicht katalytisch aktiven Bereich (Spillover) und binden dort unter Abgabe eines Elektrons an oberflächliche Sauerstoffatome unter Bildung von OH-Molekülen. Die Oberflächenleitfähigkeit des H_2-Akzeptors wird durch diese Moleküle modifiziert und kann mit Messungen der komplexen Wechselstromimpedanz an Interdigitalelektroden auf der Oberfläche des Akzeptors ausgelesen werden. Da H_2 als einziges Molekül im Gasstrom schnell und reversibel mit dieser speziell gestalteten Oberfläche wechselwirkt, ist das Sensorsignal hochselektiv und weist auch in komplexen Gasgemischen mit vielen verschiedenen Einzelkomponenten wenig Querempfindlichkeiten auf. Für die Signalbildung muss bei diesem Sensor kein Sauerstoff im Messgas vorhanden sein.

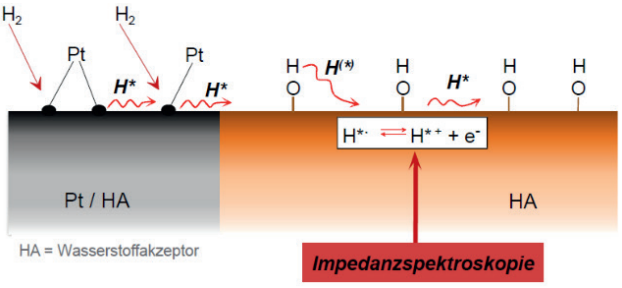


Abb. 3: Funktionsschema eines impedimetrischen Sensors zur Messung des Spillover-Wasserstoffs.

B) FRS

Das in Abb. 4 aufgeführte Funktionsschema der selektiven Gasdetektion mittels Raman-Streuung wurde im Teilvorhaben für die Entwicklung und Erprobung eines hochselektiven faseroptischen Sensors am Leibniz-Institut für Photonische Technologien e.V., Jena, genutzt. Bei diesem Sensor wird ein spezifisch angepasster Laserstrahl in eine speziell entwickelte Hohlkernfaser eingekoppelt, durch die das Messgas strömt. Auf dem Weg des Lichts durch die Faser kommt es in Abhängigkeit von der H_2-Konzentration zu zahlreichen inelastischen Streuvorgängen an H_2-Molekülen. Dadurch treten im Streulichtspektrum neben der Laser-Wellenlänge ν_i Seitenbänder bei den Frequenzen $\nu_i \pm \nu_{vib}$ auf, die durch den Raman-Effekt erster Ordnung verursacht werden [19].

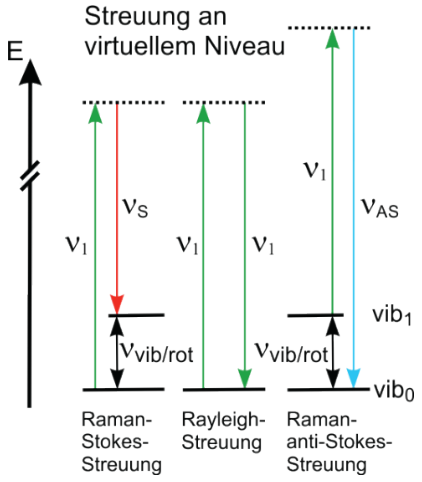


Abb. 4: Prinzipschema der selektiven H_2-Messung mittels Raman-Streuung.

Die Intensität dieser Seitenbänder hängt von der Konzentration der korrespondierenden H_2-Moleküle ab. Da die Schwingungsfrequenz ν_{vib} von H_2 selektiv für dieses Molekül ist und sich von Frequenzen anderer Gasmoleküle deutlich unterscheidet, kann dieser Analyt mittels Spektrometer und hochempfindlichem Detektor mit hoher Selektivität bis herunter zu Konzentrationen im oberen ppm-Bereich erfasst werden.

C) MWD

Von der Umweltsensortechnik UST GmbH, Geschwenda, und der CiS Forschungsinstitut für Mikrosensorik GmbH, Erfurt, wurde das in Abb. 5 gezeigte Konzept des diversitär-redundanten H_2-Multisensorsystems entwickelt und erprobt. Bei diesem Ansatz werden die Signale dreier Einzelsensoren miteinander intelligent verknüpft, die jeweils ganz unterschiedliche Informationen aus dem Messgas liefern. Während mit dem Wärmeleitfähigkeitsdetektor vor allem die Konzentration des vorhandenen Wasserstoffs charakterisiert werden kann, liefert der parallel ausgelesene Multielektroden-MOX-Sensor Informationen zu möglichen Verunreinigungen, die beispielsweise in Kavernenspeichern oder Elektrolyseuren auftreten können. Der Drucksensor dient einerseits zum Abgleich der Signale der beiden anderen Sensoren und wird andererseits auch für die Druckmessung selbst an der Messstelle benötigt.

D) PBS

Das Prinzip des palladiumbasierten H_2-Sensors wurde von der Materion GmbH, Wismar, entwickelt und gemeinsam mit dem KSI Meinsberg und der Analytical Control Instruments GmbH (ACI), Berlin, zu einem industrietauglichen Sensor für den Einsatz in explosionsgeschützten Bereichen komplettiert.

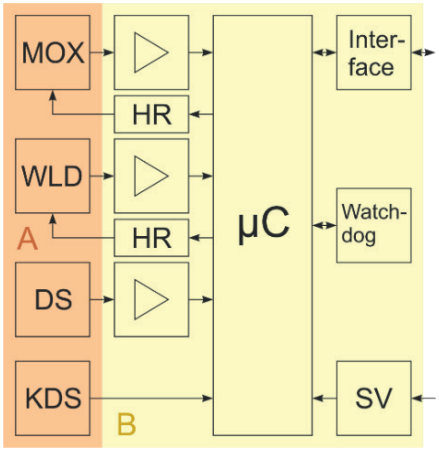


Abb. 5: Funktionsschema des diversitär-redundanten H_2-Multisensorsystems für die Überwachung von Großspeichern und Elektrolyseuren;
MOX = Metalloxid-Gassensor,
WLD = Wärmeleitfähigkeitsdetektor, DS = Drucksensor,
KDS = Kalibrierdatenspeicher, HR = Heizungsregelung,
µC = Mikrocontroller, SV = Stromversorgung,
A = austauschbarer intelligenter Sensorkopf,
B = Datenaufnahme und –verarbeitung.

Für diesen Sensor wurde die seit längerem bestehende Erkenntnis genutzt, dass sich Eigenschaften wie Farbe, Leitfähigkeit oder mechanische Spannung von Palladium (Pd) ändern, sobald sich H_2 in das Metall-Gefüge einlagert. Dabei ermöglicht Pd die Lösung höherer H_2-Mengen und ändert dabei seine optischen, elektrischen und mechanischen Eigenschaften erheblich. Bei den hier entwickelten Sensoren wurde der reversible Effekt der Volumenvergrößerung bei H_2-Einlagerung in Pd sowie in Pd-haltige Legierungen genutzt. Die Wasserstoffkonzentration und die damit verbundene Ausdehnung einer Pd-haltigen Schicht wurde mit dem in Abb. 6 gezeigten mikroelektromechanischen System (MEMS) durch Dehnungsmessung erfasst.

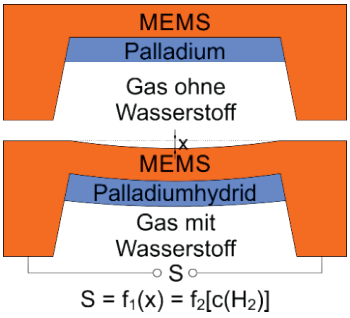


Abb. 6: Prinzipschema der selektiven H_2-Messung mittels Dehnungsmessung an H_2 einlagernden palladiumhaltigen Schichten.

Dazu wird das Signal S eines PBS als Funktion der Durchbiegung x ermittelt, die ihrerseits von der Menge des eingelagerten Wasserstoffs und somit vom H_2-Partialdruck in der Gasphase abhängt. Somit korreliert das Signal S mit der H_2-Konzentration in der Gasphase. Durch die Aufbringung sehr dünner Pd-haltiger Schichten werden vergleichsweise kurze Ansprechzeiten von wenigen Sekunden erreicht.

E) FES

Das gemeinsam von KSI Meinsberg und ACI entwickelte Konzept eines industrietauglichen H_2-Messsystems auf der Basis eines coulometrischen Festelektrolytsensors wurde für die verteilte H_2-Leckageüberwachung geschaffen. Die H_2-Selektivität dieses Messsystems, das mit einem nichtselektiven coulometrischen Festelektrolytsensor auf der Basis von stabilisiertem Zirconiumdioxid ausgerüstet ist, wurde wie in Abb. 7 gezeigt durch eine chromatographische Vortrennung des Messgasgemisches gewährleistet. Durch diese Vortrennung wird zudem sichergestellt, dass sich im heißen Festelektrolyt-Gassensor keine endzündbaren Messgasgemische bilden können. Die Trennung erfolgte in chromatographischen Säulen. Der Festelektrolytsensor wird dann als schnell ansprechender coulometrischer Detektor eingesetzt, indem durch konstante Polarisation der Messelektrode gegenüber einer Pt-Luft-Referenzelektrode ein gleichbleibender Sauerstoffpartialdruck im Bereich 0,01 - 0,1 Pa eingestellt wird. Ein einlaufender H_2-Peak wird in einem sauerstofffreien Trägergas durch einen positiven Faraday-Strom angezeigt, während reduzierbare Analyte wie O_2 einen negativen Peak hervorrufen. Die Peakfläche ist ein absolutes Maß für die injizierte Analytmenge.

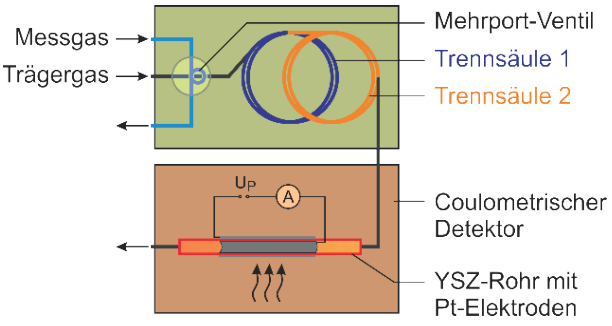


Abb. 7: Schema des Festelektrolytsensors mit chromatographischer Vortrennung zur selektiven Messung von H_2-Spurenkonzentrationen im ppb-Bereich.

Die Vorteile dieses schnellen Detektors bestehen in seinem breiten Messbereich über etwa 6 Zehnerpotenzen und seiner hohen Langzeitstabilität, die kalibrierfreie Messungen von vielen Monaten ermöglicht. Ein weiterer Vorteil dieses Messsystems besteht in der inhärenten Möglichkeit, durch die chromatographische Trennung parallel zu H_2 auch weitere Analyte bestimmen zu können, wodurch sich auch potentielle Applikationen bei der Qualitätsüberwachung ergeben.

Ergebnisse

A) IMS

Der in Abb. 8 dargestellte Versuchsstand zur Erprobung von IMS wurde an der HTWK aufgebaut. Für die impedimetrische Messung und die erweiterte Signalanalyse wurden von Sciospec miniaturisierte Multisensor-Impedanzspektrometer neu entwickelt und erfolgreich eingesetzt. Der Prüfstand ermöglicht den flexiblen Einsatz verschiedener Gasmischungen zur Nachbildung der Einsatzbedingungen in Erdgasnetzen. Die in Abb. 9 als Beispiel aufgeführten Bodeplots belegen, dass die gewählten Sensorbeschichtungen den Spillover-Effekt zeigen und bereits ab H_2-Konzentrationen von 1 Vol.-% zu deutlichen Änderungen des Betrages und der Phase der komplexen Wechselstromimpedanz führen. Mit zunehmender H_2-Konzentration ändert sich der Betrag der komplexen Impedanz vor allem bei niedrigen Frequenzen signifikant. Die Sensitivität der Phasenverschiebung auf H_2 ist bei Frequenzen um 1 kHz besonders groß.

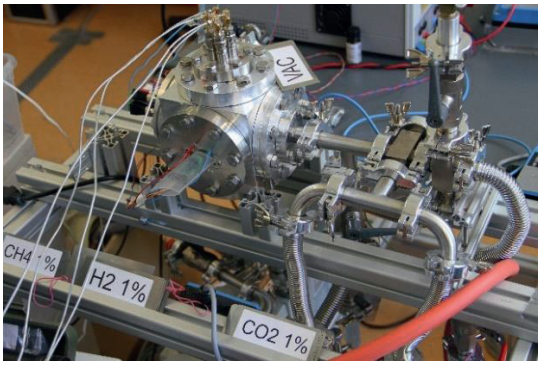


Abb. 8: Versuchsaufbau zur Charakterisierung impedimetrischer H_2-Sensoren.

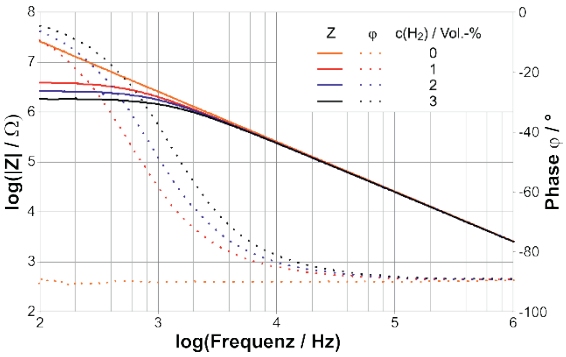


Abb. 9: Impedanz-Bodeplots an einem IMS bei verschiedenen H_2-Konzentrationen.

B) MWS

Vom diversitär-redundanten H_2-Multisensor ist in Abb. 10 der Signalverlauf eines miniaturisierten WLD-Sensors als Beispiel dargestellt. Die Kurve belegt dessen hohe Sensitivität und Ansprechgeschwindigkeit. In Kombination mit den Signalen der ebenfalls integrierten Metalloxid- und Drucksensoren lassen sich neben der Wärmeleitfähigkeit noch weitere für die Beurteilung der Wasserstoffqualität wichtige Informationen aus dem Messgas gewinnen. Weitere Resultate zum diesem praxisreifen Sensor sind in [17] publiziert worden.

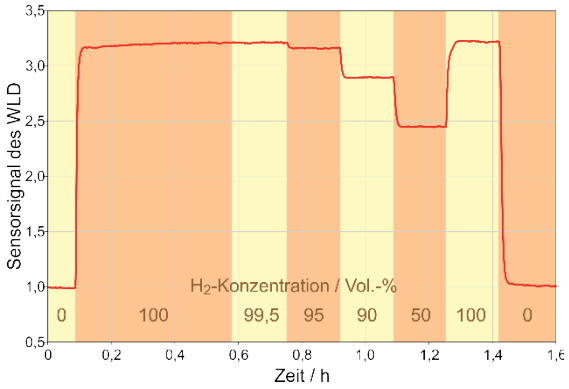


Abb. 10: Signalverlauf eines gemäß Abb. 5 im MWD integrierten Wärmeleitfähigkeitsdetektors (WLD) bei verschiedenen Konzentrationen c(H_2).

C) PBS

In Abb. 11 ist eine typische Signalkurve eines PBS in Gasen mit verschiedenen H_2-Konzentrationen dargestellt. Das Ergebnis belegt kurze Ansprechzeiten unter 30 s, die weitgehend unabhängig von der Richtung des Konzentrationswechsels sind. Weiterhin zeigt das untersuchte Versuchsmuster nach einer Warmlaufphase von einem Beladungszyklus eine ausgezeichnete Wiederholgenauigkeit des Spannungssignals zwischen den einzelnen Zyklen, das logarithmisch von der H_2-Konzentration abhängt [13]. Bei konstanter Konzentration treten nach Abschluss des Einstellvorgangs keine Signaldriften auf. Durch das Fehlen elektrischer Energieeinträge in den Sensor und die optische Signalweiterleitung ist der Sensoreinsatz in explosionsgeschützten Bereichen problemlos möglich.

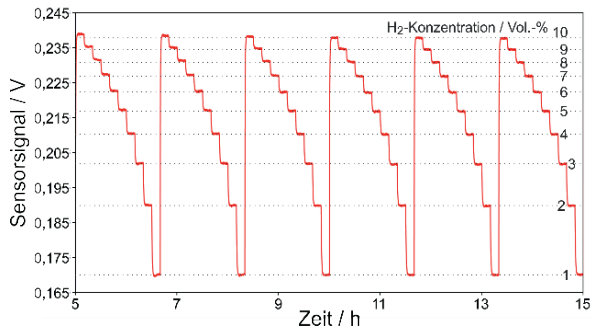


Abb. 11: Signalverlauf eines palladiumbasierten Sensors bei wechselnden H_2-Konzentrationen.

D) FES

Der im Vorhaben entwickelte Prototyp eines FES mit chromatographischer Vortrennung wurde in ein 19-Zoll-Gehäuse integriert, wie in Abb. 12 gezeigt ist. An dem dort verwendeten Festelektrolyt-Detektor wurden die in Abb. 13 dargestellten Ausschnitte von Chromatogrammen aufgezeichnet. Die Kurven belegen, dass H_2 in den chromatographischen Säulen ausreichend vom darauffolgenden O_2-Peak getrennt und als positiver Peak vollständig aufgezeichnet wird. Die langzeitstabile Funktion des Detektors auf der Basis des Faraday-Gesetzes, die bei vollständigem Umsatz der zu messenden Gaskomponenten im Detektor gegeben ist, ermöglicht einen kalibrierfreien Betrieb [14].

E) Materialauswahl und Zuverlässigkeit

Neben den Arbeiten an den Sensorprinzipien und entsprechenden Versuchsmustern erfolgten im Vorhaben am Fraunhofer-Institut für Mikrostruktur von Werkstoffen und Systemen IMWS, Halle, und an der Technischen Universität Bergakademie Freiberg Untersuchungen zur Materialauswahl für die Sensoren und zur Zuverlässigkeit von Strukturelementen. Damit konnten Alterungsvorgänge aufgeklärt werden, die vor allem unter den im Feldbetrieb teilweise auftretenden rauen Umgebungsbedingungen die Sensorstandzeit begrenzen können. Ein Beispiel für diese Untersuchungen ist in Abb. 14 illustriert.



Abb. 12: Prototyp des FES mit Steuerung, Injektion und chromatographischer Trennung, integriert in einem 19-Zoll-Gehäuse.

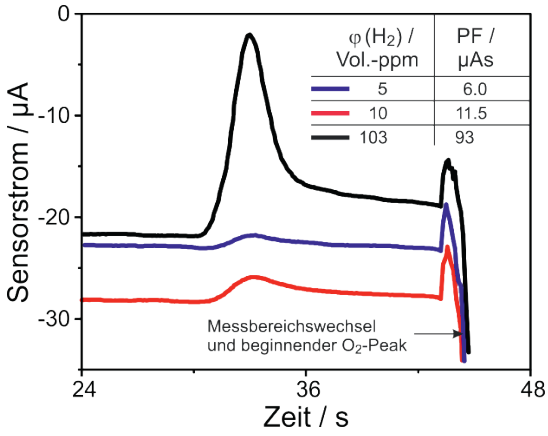


Abb. 13: Ausschnitte aus Chromatogrammen, aufgenommen mit einem coulometrischen Detektor gemäß Abb. 7.

Diskussion

Die Entwicklung einer modernen Wasserstoffwirtschaft ist untrennbar mit der Schaffung neuer Konzepte für die Gewährleistung der Anwendungssicherheit und der Einsatzqualität verknüpft. Bedingt durch die Besonderheiten von H_2 als Energieträger und Grundstoff werden dafür hochselektive Sensoren und automatische Sicherheitsvorrichtungen benötigt. Im Verbundvorhaben „Prozess- und Sicherheitssensorik für das Wasserstoff-Qualitätsmanagement (HyProS)“ wurden deshalb neuartige Wasserstoffsensoren für eine zukünftige H_2-Infrastruktur zur Herstellung, Verteilung und Applikation von H_2 aus erneuerbaren Energiequellen entwickelt [20]. Im Fokus standen fünf verschiedene Sensorprinzipien, deren Einsatzfähigkeit nachgewiesen wurde. Unter Nutzung des Spillover-Effektes, des H_2-Nachweises mittels Raman-Streuung, der Kombination verschiedener Einzel-Gassensoren zu einem neuartigen Multisensor, der Wechselwirkung zwischen H_2 und Palladium sowie der coulometrischen Umsetzung von H_2 konnten für alle Sensorprinzipien erste praxistaugliche Versuchsmuster geschaffen werden. Im Vorhaben durchgeführte Feldtests belegen die Einsatzfähigkeit in modernen Anlagen zur Herstellung, Lagerung und Verarbeitung sowie zum Transport von H_2.

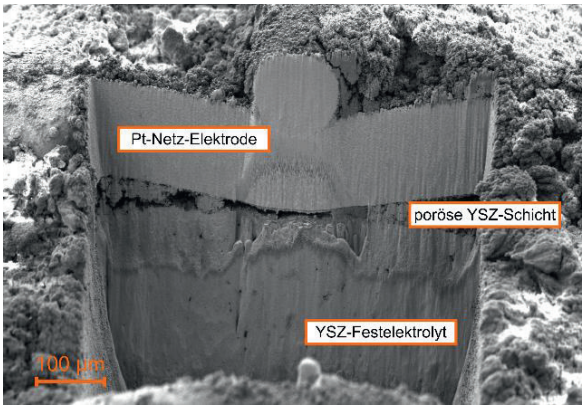


Abb. 14: REM-Aufnahme eines Materialverbundes aus dicht gesintertem YSZ, poröser YSZ-Schicht und Platin-Netzelektrode, Querschliff mittels Laserablation.

Literatur

[1] RAMACHANDRAN, R. ; MENON, R.K.: An overview of industrial uses of hydrogen. In: *Int J Hydrogen Energ* 23 (1998), Nr. 7, S. 593-598; doi: 10.1016/S0360-3199(97)00112-2

[2] STAFFELL, I. ; SCAMMAN, D. ; VELAZQUEZ ABAD, A. ; BALCOMBE, P. ; DODDS, P.E. ; EKINS, P. ; SHAH, N. ; WARD, K.R.: The role of hydrogen and fuel cells in the global energy system. In: Energ Environ Sci 12 (2019), Nr. 2, S. 463-491; doi: 10.1039/C8EE01157E

[3] SINIGAGLIA, T. ; LEWISKI, F. ; MARTINS, M.E.S. ; SILUK, J.C.M.: Production, storage, fuel stations of hydrogen and its utilization in automotive applications-a review. In: *Int J Hydrogen Energ* 42 (2017), Nr. 39, S. 24597-24611; doi: 10.1016/j.ijhydene.2017.08.063

[4] MAROUFMASHAT, A. ; FOWLER, M.: Transition of Future Energy System Infrastructure; through Power-to-Gas Pathways. In: *Energies* 10 (2017), Nr. 8, S. 1089-1111; doi: 10.3390/en10081089

[5] FERRERO, D. ; GAMBA, M. K LANZINI, A. ; SANTARELLI, M.: Power-to-Gas Hydrogen: techno-economic assessment of processes towards a multi-purpose energy carrier. In: *Energy Procedia* 101 (2016), S. 50-57; doi: 10.1016/j.egypro.2016.11.007

[6] KNOSALA, K. ; KOTZUR, L. ; RÖBEN, F.T.C. ; STENZEL, P ; BLUM, L ; ROBINIUS, M. ; STOLTEN, D.: Hybrid Hydrogen Home Storage for Decentralized Energy Autonomy. In: *Int J Hydrogen Energ* 46 (2021), Nr. 42, S. 21748-21763; doi: 10.1016/j.ijhydene.2021.04.036

[7] ASTBURY, G.R. ; HAWKSWORTH, S.J.: Spontaneous ignition of hydrogen leaks. In: *Proceedings of International Conference on Hydrogen Safety* Pisa, Italy, 2005

[8] KESSLER, A. ; SCHREIBER, A. ; WASSMER, C. ; DEIMLING, L. ; KNAPP, S. ; WEISER, V. ; SACHSENHEIMER, K. ; LANGER, G. ; EISENREICH, N.: Ignition of Hydrogen Jet Fires from High Pressure Storage. In: *Proceedings of International Conference on Hydrogen Safety* Brussels, Belgium, 2013

[9] BUTLER, M.S. ; MORAN, C.W. ; SUNDERLAND, P.B. ; AXELBAUM, R.L.: Limits for hydrogen leaks that can support stable flames. In: *Int J Hydrogen Energ* 34, (2009), S. 5174–5182, doi: 10.1016/j.ijhydene.2009.04.012

[10] ISO 26142, ‚Hydrogen detector apparatus-stationary applications', 2010.

[11] HÜBERT, T. ; BOON-BRETT, L. ; BLACK, G. ; BANACH, U.: Hydrogen sensors – A review. In: *Sensor Actuat B-Chem* 157 (2011), Nr. 2, S. 329-352; doi: 10.1016/j.snb.2011.04.070

[12] BUTTNER, W. J. ; POST, M.B. ; BURGESS, R. ; RIVKIN, C.: An overview of hydrogen safety sensors and requirements. In: *Int J Hydrogen Energ* 36 (2011), Nr. 3, S. 2462-2470; doi: 10.1016/j.ijhydene.2010.04.176

[13] WIENECKE, M. ; GODENRATH, L. ; ZACHARIAS, B.: Sensitivität und Selektivität optischer und neuartiger MEMS-Wasserstoffsensoren. In: *Tagungsband der 20. GMA/ITG-Fachtagung Sensoren und Messsysteme* Nürnberg, 2019, DOI 10.5162/sensoren2019/3.3.2

[14] SOOD, P. ; ZOSEL, J. ; MERTIG, M. ; OELßNER, W. ; HERRMANN, O. ; WORATZ, M.: Development and test of a highly sensitive and selective hydrogen sensor system. In: *J Sens Sens Syst* 9 (2020), S. 309-317; https://doi.org/10.5194/jsss-9-309-2020

[15] RÖßNER, F. ; SIMON, U. ; FRANKE, M. ; ROLAND, U.: Verfahren und Sensor zur Bestimmung der Wasserstoffkonzentration in fluiden Medien. *Schutzrecht*, DE 10011164B4 (2004)

[16] FROSCH, T.: Aktuelle Entwicklungen der Raman-Gasspektroskopie für die Wasserstoffsensorik und Energieforschung. In: *7. HYPOS-Dialog „Innovative Wasserstoffsensorik"* Halle, 19.6.2019.

[17] KIESEWETTER, O. ; KRAUßER, A. ; KIESEWETTER, N. ; MÜLLER, J. ; BOSE, M. ; MAY, M.: Innovative hydrogen sensors in fuel cell vehicles. In: *Proceedings of SMSI 2021-Sensor and Measurement Science International* Nürnberg, 2021; DOI 10.5162/SMSI2021/B1.1

[18] GRAFF, A. ; MÜNCHGESANG, W. ; ALTMANN, F. ; HIMCINSCHI, C. ; KÖHLER, T. ; SOOD, P. ; ZOSEL, J. ; MERTIG, M.: Failure analysis of overloaded coulometric hydrogen sensor. In: *Proceedings of SMSI 2021-Sensor and Measurement Science International* Nürnberg, 2021; DOI 10.5162/SMSI2021/B1.2.

[19] HANF, S. ; KEINER, R. ; YAN, D. ; POPP, J. ; FROSCH, T.: Fiber-Enhanced Raman Multigas Spectroscopy: A Versatile Tool for Environmental Gas Sensing and Breath Analysis. In: *Anal Chem* 86 (2014); Nr. 11, S. 5278–5285; doi: 10.1021/ac404162w

[20] MERTIG, M ; Kiesewetter, O.: HyProS: Neue Sensorlösungen für die Wasserstoffwirtschaft. In: *6. HYPOS-Forum*, Leipzig, HYPOS e.V., 03.-04.11.2020

Danksagung

Das diesem Beitrag zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 03ZZ0724 gefördert. Das Kurt-Schwabe-Institut Meinsberg wird mitfinanziert durch Steuermittel auf der Grundlage des vom Sächsischen Landtag beschlossenen Haushaltes.

DOI 10.5162/15dss2021/1.2

1.2
Was können Sensorik und Messtechnik zum Green Deal beitragen

S. Bowadt, European Commission, Research and Innovation

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/2.1

2.1
Hyperspektrale Bildgebung in der industriellen Anwendung

A. Gigler, Siemens AG, München/D

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/2.2

Mit UWB-Lokalisierung gekoppelte inertiale Lage- und Bewegungsverfolgung für instrumentierte Strömungsfolger

Lukas Buntkiel[1], Andreas Heller[2], Christoph Budelmann[3], Sebastian Reinecke[1] und Uwe Hampel[1,4]

[1]Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf, Deutschland
[2]Halbleiterlabor FH Münster, Münster, Deutschland
[3]Budelmann Elektronik GmbH, Münster, Deutschland
[4]Institut für Energietechnik, TU-Dresden, Dresden Deutschland
Kontakt: l.buntkiel@hzdr.de

Einleitung

Zur räumlichen Vermessung von Prozessparametern und zur Strömungscharakterisierung in großen Behältern, wie z.B. Biogasfermentern und Belebtschlammbecken wurde am HZDR das Konzept strömungsfolgender Sensoren entwickelt [1,2]. Alle derzeit verfügbaren oder in Entwicklung befindlichen instrumentierten Strömungsfolger nutzen zur Strömungsanalyse lediglich vertikale Positionsprofile, gemessen über den hydrostatischen Druck [3].

Für eine weitere Analyse und Optimierung von Prozessen in großen Behältern soll deshalb der sog. Sensorpartikel aus [1, 2] derart weiterentwickelt werden, dass eine dreidimensionale Rekonstruktion der Trajektorie des Sensorpartikels im Behälter durchgeführt werden kann. Dazu wurde das System um eine inertiale Messeinheit und ein auf Ultrabreitbandfunktechnologie (Ultra-Wide-Band, UWB) basierendes Lokalisierungssystem erweitert.

Im Folgenden wird das Sensorsystem vorgestellt. Daran anschließend wird die Problematik der Bewegungsverfolgung mit limitierter Sensorik eingeführt und die Bewegungsverfolgung basierend auf inertialer Sensorik und UWB-Lokalisierung präsentiert. Anschließend wird der gesamte Ablauf beispielhaft für ausgewählte Szenarien gezeigt.

Messsystem

Das Sensorsystem besteht aus dem Sensorpartikel und mindestens vier Ankerknoten. Jeder Sensorpartikel (Abb. 1) hat integrierte Sensoren für die Drehrate, die Beschleunigung, die magnetische Feldstärke sowie den hydrostatischen Umgebungsdruck, der hier nicht weiter betrachtet werden soll. Diese Sensorik wird zur Bewegungsverfolgung während des Tauchganges genutzt. Das UWB-Modul dient zusammen mit den Ankerknoten zur Lokalisierung und Datenübertragung, wenn sich der Sensorpartikel an der Fluidoberfläche befindet. Die Dämpfung des elektrischen Feldes innerhalb des Fluids lässt eine Lokalisierung und Datenübertragung im getauchten Zustand nicht zu. Zum Ab- und Auftauchen verfügt der Sensorpartikel über eine Auftriebseinheit. Zur Messung von Prozessparametern ist der Sensorpartikel mit einem Temperatursensor und einem Sensor für die elektrische Leitfähigkeit ausgestattet. Abb. 2 zeigt den Sensorpartikel mit einem Durchmesser von 90 mm.

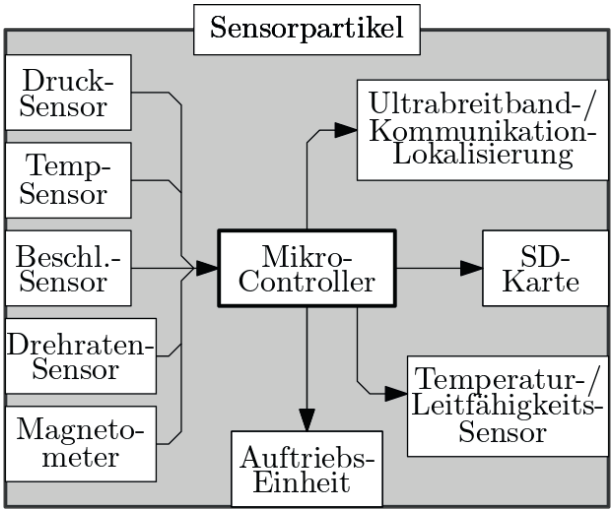


Abb. 1: Schema der Hauptkomponenten in einem Sensorpartikel mit interner Sensorik. Der Temperatursensor auf der linken Seite ist im Sensorpartikel verbaut, während sich der rechte auf der Leitfähigkeitsmesselektrode befindet und die Medientemperatur misst.

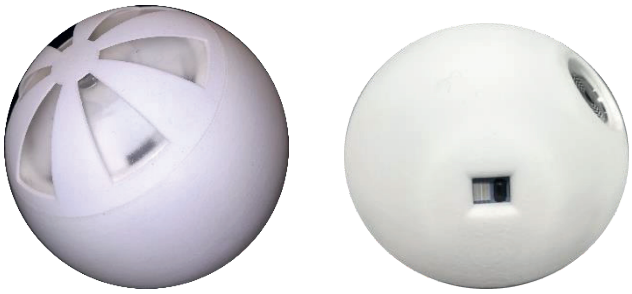


Abb. 2: Ansichten eines Sensorpartikels mit (links) Druck- und Leitfähigkeitssensor und (rechts) Auftriebseinheit.

UWB-Lokalisierung

Zur Vermessung der Oberflächenströmung von offenen Behältern wurde an der FH Münster ein System zur Echtzeitlokalisierung von Strömungsfolgern basierend auf UWB-Kommunikation entwickelt [4, 5]. Das System besteht aus stationären Ankerknoten,

die um den Behälter herum befestigt sind, und schwimmenden Bojen (sog. Tags). Diese Knoten sind mit UWB-Transceivern ausgestattet. Im Gegensatz zur Lokalisierung über Satellitennavigationssysteme oder Ultraschall liegt die Genauigkeit unter 15 cm [4, 5].

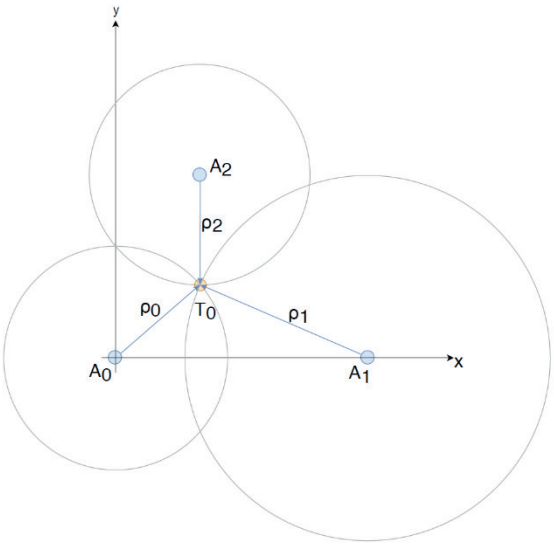


Abb. 3: Lateration in der Ebene (2D-Ansatz). Dargestellt sind die Ankerpositionen A_n, die gemessenen Distanzen ρ_n und die Position des Tags T_0 im Schnittpunkt der Kreise. Abbildung aus [5]

Zur Lokalisierung im dreidimensionalen Raum werden mindestens vier Distanzen zu verschiedenen Ankerknoten benötigt. Zuerst werden die Abstände zwischen Tag und jedem Anker über eine Laufzeitmessung durchgeführt. Eine Laufzeit-/Distanzmessung mittels Alternative Double Sided Two Way Ranging (AltDS-TWR) wird eingesetzt, da dieses Schema keine Uhrensynchronisierung der Kommunikationspartner voraussetzt. Im Folgeschritt werden die gemessenen Distanzen mittels Lateration verarbeitet, womit eine Positionsbestimmung des Tags im dreidimensionalen Raum möglich ist. Bei der Lateration werden die Distanzen als Kugelradien interpretiert. Diese Kugeln weisen einen Schnittpunkt auf, an dem sich das Tag zum Zeitpunkt der Messung befindet (siehe Abb. 3).

Inertiale Bewegungsverfolgung mit UWB

Inertiale Bewegungsverfolgung, d.h. die Bestimmung von Orientierung, Beschleunigung, Geschwindigkeit und Position (in der Gesamtheit als Pose bezeichnet) im 3D-Raum in den Koordinaten des Behälters, basierend auf den Messungen von Gyroskop und Beschleunigungssensor (in den Koordinaten des Sensorpartikels, i. Allg. Körperkoordinaten genannt), beruht auf dem als Dead Reckoning bezeichneten Verfahren. Dabei wird das Fortschreiten der Trajektorie auf Basis der Pose $\boldsymbol{p}$ zum Zeitpunkt k und den Messwerten der Drehrate $\boldsymbol{\omega_m}$ und der Beschleunigung $\boldsymbol{a_m}$ in Körperkoordinaten fortgeschrieben:

$$\boldsymbol{p}(k+1) = \boldsymbol{f}((\boldsymbol{p}(k), \boldsymbol{\omega_m}(k), \boldsymbol{a_m}(k)),$$

wobei $\boldsymbol{f}(\dots)$ der ins zeitdiskrete transformierten Zustandsbeschreibung

$$\dot{\boldsymbol{p}} = \boldsymbol{v} \quad (1)$$
$$\dot{\boldsymbol{v}} = \boldsymbol{R}\{\boldsymbol{q}\}(\boldsymbol{a_m} - \boldsymbol{a_b} - \boldsymbol{a_n}) + \boldsymbol{g} \quad (2)$$
$$\dot{\boldsymbol{q}} = \boldsymbol{0,5} * \boldsymbol{q} \otimes (\boldsymbol{\omega_m} - \boldsymbol{\omega_b} - \boldsymbol{\omega_n}) \quad (3)$$
$$\dot{\boldsymbol{a}}_{\boldsymbol{b}} = \boldsymbol{a_w} \quad (4)$$
$$\dot{\boldsymbol{\omega}}_{\boldsymbol{b}} = \boldsymbol{\omega_w} \quad (5)$$

entspricht. Dabei sind $\boldsymbol{p}$ die Position und $\boldsymbol{v}$ die Geschwindigkeit jeweils in Behälterkoordinaten. Die Lage des Sensorpartikel in Bezug zu den Behälterkoordinaten ist als Einheitsquaternion $\boldsymbol{q}$, d.h. $|\mathbf{q}| = 1$ mit

$$\boldsymbol{q} = q_w + q_x i + q_y j + q_z k = \begin{bmatrix} q_w \\ \boldsymbol{q_v} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \cos\theta/2 \\ \mathrm{e_x}\sin\theta/2 \\ \mathrm{e_y}\sin\theta/2 \\ \mathrm{e_z}\sin\theta/2 \end{bmatrix}$$

parametrisiert, wobei θ der Drehwinkel und $\boldsymbol{e}$ die normierte Drehachse ist. Für die Rotationsmatrix $\boldsymbol{R}$ gilt $\boldsymbol{R} \triangleq \boldsymbol{R}\{\boldsymbol{q}\}$. Das Zustandsraummodell aus Gl. 1 - 3 wird typischerweise um die langsam zeitveränderlichen Sensorbias $\boldsymbol{a}_b$ und $\boldsymbol{\omega}_b$ des Beschleunigungssensors (Gl. 4) und des Gyroskops (Gl. 5) erweitert. Damit ist der Zustandsvektor $\boldsymbol{x} = [\boldsymbol{p}, \boldsymbol{v}, \boldsymbol{q}, \boldsymbol{a}_b, \boldsymbol{\omega}_b]^T$.

Das Sensorrauschen $\boldsymbol{a}_n, \boldsymbol{\omega}_n, \boldsymbol{a}_w$ und $\boldsymbol{\omega}_w$ wird typischerweise über die Allanvarianzmethode [6] bestimmt und als Velocity/Angular Random Walk und die sog. Bias Instability bezeichnet. Die für diese Sensoreinheit bestimmten Rauschterme finden sich in Tab.1 und basieren auf einer statischen Messung über 4 Stunden.

Tabelle 1: Rauschparameter der Sensoren

	Angular/Velocity random walk	Bias Instabilits
Gyro x	4,74 m°/√s	4,16 °/h
Gyro y	6,4 m°/√s	4,76 °/h
Gyro z	4,59 m°/√s	3,97 °/h
Acc x	100,71 µm/s/√s	78.14 mm/s²/h
Acc y	96,63 µm/s/√s	64.59 mm/s²/h
Acc z	140,64 µm/s/√s	429.67 mm/s²/h

Um die langsam zeitveränderlichen Sensorbias zu korrigieren und eine driftfreie Lageschätzung zu realisieren, existieren bereits zahlreiche Lösungen [7, 8, 9]. Im Allgemeinen wird dazu die Inertialsensorik mit einem Magnetometer erweitert und eine Lageschätzung mit Hilfe eines linearisierten Kalmanfilters (eng. Error-state kalman filter ESKF) durchgeführt. Dabei werden das Erdmagnetfeld und die Erdbeschleunigung als Richtungsinformationen genutzt.

DOI 10.5162/15dss2021/2.2

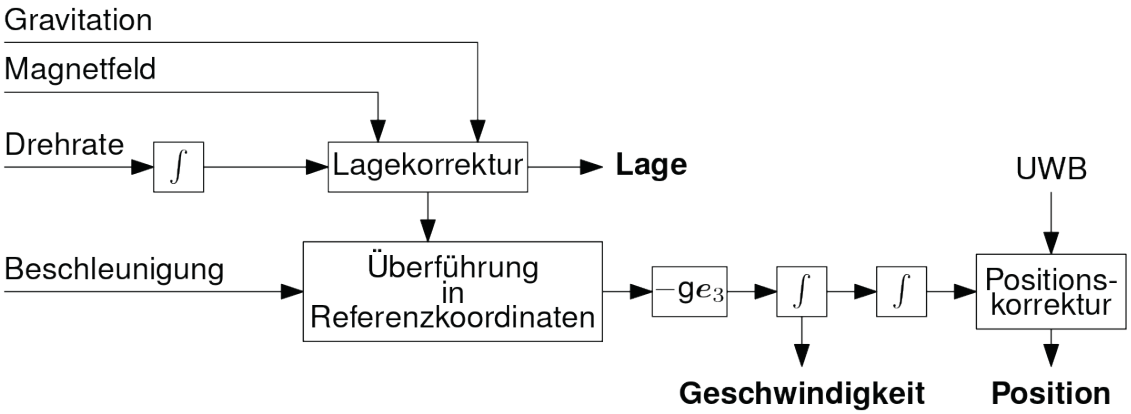


Abb. 4: Blockdiagramm des Algorithmus zur Bewegungsverfolgung. Im Falle des Dead Reckonings fallen alle Korrekturschritte weg.

Für die Messungen des Beschleunigungssensors gilt unter der Annahme das außer der Erdbeschleunigung keine weiteren linearen Beschleunigungen gemessen werden, d.h. $|\boldsymbol{a}_m = g,$

$$\hat{\boldsymbol{a}}_{\boldsymbol{m}} = \frac{\boldsymbol{a}_m}{|\boldsymbol{a}_m|} = -\boldsymbol{R}^T \boldsymbol{e}_3$$

.

Für das Magnetometer gilt unter der Annahme eines konstanten (lokalen) Magnetfeldes $\boldsymbol{B}_0$

$$\boldsymbol{B}_B = \boldsymbol{R}\{\boldsymbol{q}\}\boldsymbol{B}_0.$$

Die Lokalisierungsdaten des UWB liegen direkt in Positionsdaten in Behälterkoordinaten vor.

Das Kalman-Filter führt zuerst eine A-priori Schätzung des Zustands auf Basis der Eingangsgrößen $\boldsymbol{a_m}$ und $\boldsymbol{\omega_m}$ durch. Dieser wird im zweiten Schritt, dem sogenannten Filterupdate, über die Messgleichungen korrigiert. Der hier genutzte Error-State Kalman-Filter wurde nach [7 - 11] implementiert. Um das in Schritt 2 durchgeführte Filterupdate nicht unter Verletzung der Annahme kleiner Beschleunigungen durchzuführen, wurde die Updatebedingung nach [12] dem Filter hinzugefügt. Diese erlaubt das Update nur, wenn sich der Messwert innerhalb der 3-fachen Standardabweichung des Messrauschens des Beschleunigungssensors liegt. Das Prinzip des hier vorgestellten Algorithmus findet sich in Abb. 4.

Versuchsaufbau und Durchführung

Der Versuchsaufbau besteht aus einem Hexapod, an dem ein 2 m langer Arm befestigt ist, um den Bewegungsradius zu erhöhen. An diesem Arm ist die inertiale Messeinheit mit UWB-Modul befestigt (siehe Abb. 5). Die Ankerknoten sind nach Abb. 6 um den Hexapod herum installiert. Zur Beurteilung der Leistungsfähigkeit der Bewegungsverfolgung und der Tauchzeitabschätzung wurden zwei verschiedene Bewegungsszenarien getestet. Das erste Szenario ist ein Stillstand an der Startposition und das Zweite umfasst 12 Kreise in der vertikalen yz-Ebene innerhalb 60 s gefolgt von 60 s Pause. Dieser Zyklus wurde 25-mal wiederholt.

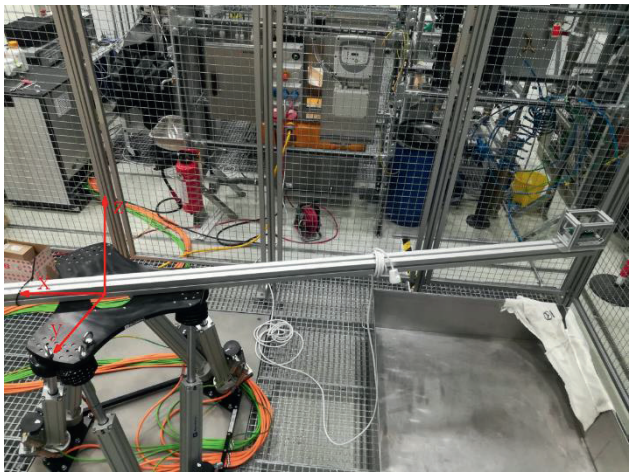


Abb. 5: Hexapod mit Arm und inertialer Messeinheit.

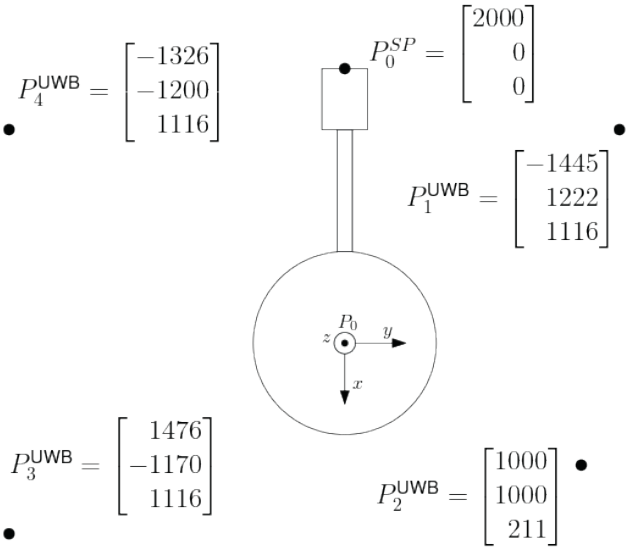


Abb. 6: Schema des Versuchsaufbau mit Koordinaten der Ankerknoten und der Messeinheit.

Vor der Messung wurden Kalibrierdaten für das Magnetometer aufgenommen, indem die Messeinheit um alle Achsen gedreht wurde. Ist das Magnetometer kalibriert, liegen alle Messwerte auf einer Kugel. Der Kalibrieralgorithmus aus [13] wurde dazu genutzt. Der lokale Magnetfeldvektor $\boldsymbol{B}_0$ bestimmt sich aus dem Mittelwert aus einer 60 s Periode der Messung, bevor die Bewegung startet.

Messergebnisse

Ziel der Versuche ist eine Abschätzung der maximalen Tauchzeit, bevor aufgrund von zu großen Unsicherheiten in Position und/oder Geschwindigkeit wieder aufgetaucht werden muss. Zur Beurteilung der Leistungsfähigkeit der Algorithmen werden folgende Maße für die Messabweichung verwendet: Die mittlere quadratische Abweichung (root mean square error)

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{T}\sum_{k=1}^{T}(x_k - \hat{x}_k)^2},$$

der gemittelte absolute Bias (averaged absolute values of bias AAVB), als Metrik für einen Bias in der Zustandsschätzung

$$AAVB = \frac{1}{T}\sum_{k=1}^{T}|x_k - \hat{x}_k|$$

und die maximale Abweichung (maximum absolute

$$MAE = |x_k - \hat{x}_k|.$$

Auswertung Stillstandsszenario

Um den Einfluss von verschiedenen Messfrequenzen der UWB-Lokalisierung auf die entstehende Positionsabweichung zu untersuchen, wurden neben dem nominellen UWB-Messintervall von 1 s, zusätzlich auch 1 min bzw. 10 min betrachtet. Die Ergebnisse für die Position in Behälterkoordinaten sind in Abb. 7 und 8 dargestellt. Wie zu erwarten, steigt die Positionsabweichung bei größer werdendem Updateintervall. D.h. insbesondere für große Behälter ist eine Verfolgung der Partikeltrajektorie nur an der Oberfläche oder bei geringen Tauchzeiten möglich. In Behältern im Labormaßstab mit relativ kurzen Zirkulationszeiten oder in besonders flachen Behältern ist die gekoppelte Bewegungsverfolgung hingegen eine gute Option.

Die Messabweichungen sind in Tab. 2 angegeben. Dabei fällt auf, dass insbesondere die z-Achse, d.h. die vertikale Position, starke Abweichungen aufweist. Durch die Integration der Messwerte des hydrostatischen Drucks ließe sich diese Abweichung deutlich reduzieren.

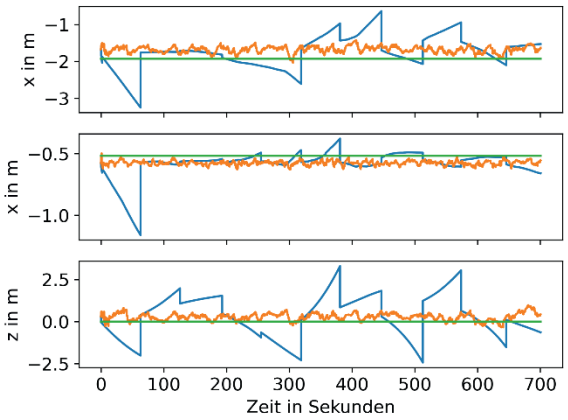


Abb. 7: Position der Messeinheit in Behälterkoordinaten bei Stillstand. Dargestellt sind die Referenz grünt) und die Schätzungen mit einem UWB-Update-Intervall von 1 s (orange), 1 min (blau).

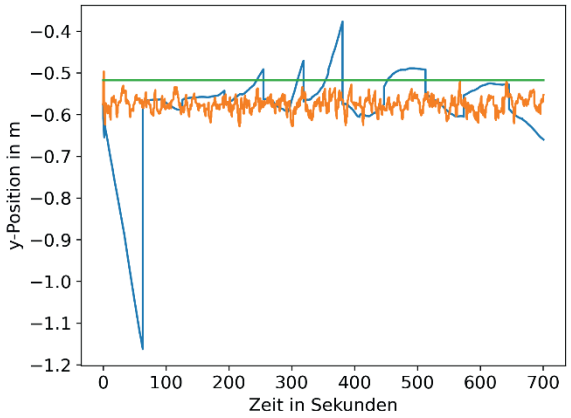


Abb. 8: Position der Messeinheit auf der y-Achse für die ersten 700 s Messdauer bei Stillstand. Dargestellt sind die Referenz (grün) und die Schätzungen mit einem UWB-Update-Intervall von 1 s (orange), 1 min (blau).

Tabelle 2: Auswertung der Zustandsschätzung in Bezug auf die Referenzposition.

Fehlermaß	UWB-Update	X [m]	Y [m]	Z [m]
RSME	1s	0,27	0,06	0,37
AAVB		0,26	0,06	0,32
MAE		0,51	0,13	1,16
RSME	1 min	0,56	0,13	1,42
AAVB		0,43	0,10	1,09
MAE		2,48	0,65	7,10
RSME	10 min	4,27	1,06	27,31
AAVB		3,52	0,69	20,49
MAE		12,09	4,07	75,05

Auswertung Bewegungsszenario

Die initiale Lage ist $\boldsymbol{v}_0 = [0\ 0\ 15°]$, das entspricht $\boldsymbol{q}_0 = [0{,}99\ 0\ 0\ 0.13]$ in Quaternionendarstellung. Die Kreisbewegung führt natürlicherweise dazu, dass bei der Bildung des zeitlichen Mittelwertes wieder die initiale Lage das Ergebnis ist. Das gemittelte Quaternion nach ca. 45 Minuten Messdauer ist $\boldsymbol{q} = [0{,}991\ 0\ 0\ 0{,}076]$ bzw. $\boldsymbol{v} = [0{,}32°\ \ 0\ 16{,}5°]$ als Rotationsvektor, was einer sehr driftarmen Schätzung der Lage entspricht.

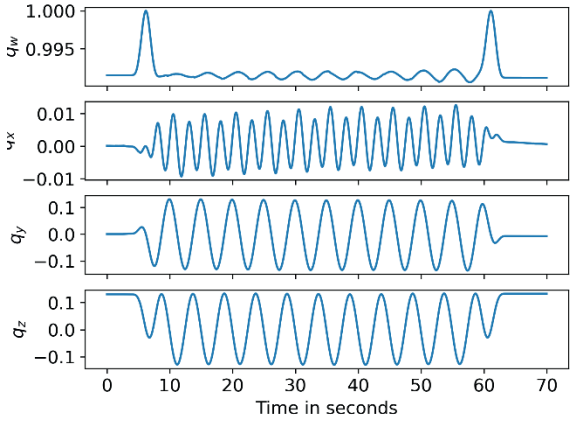


Abb. 9: Geschätzte Lage in Quaternionendarstellung für eine Umdrehung.

In Abb. 9 ist die Lageschätzung für eine Bewegungsperiode dargestellt. Wie zu erwarten war, sind die q_y und die q_z Komponente um 90° phasenverschoben um eine kreisförmige Bewegung zu erzielen. Der erste Anstieg und die noch nicht voll ausgeprägten Ausschläge zwischen 5 s und 10 s spiegeln den Sanftanlauf des Hexapods wider.

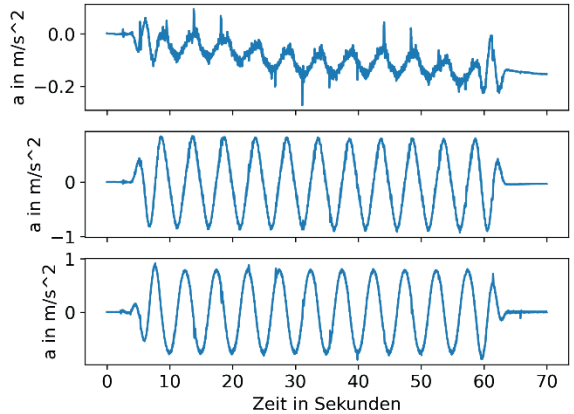


Abb. 10: Beschleunigung auf allen drei Achsen für eine Bewegungsperiode.

Die in Abb. 10 dargestellte Beschleunigung in Behälterkoordinaten zeigt anhand der fast konstant bleibenden Amplitude, die für eine kreisförmige Bewegung zu erwarten ist, dass eine sehr gute Schätzung möglich ist. Wird diese jedoch integriert (Abb. 11 und 12), um die Geschwindigkeit zu bestimmen, zeigt sich, dass das Messrauschen und noch bestehende Abweichungen in der Lage zu einer quadratischen Drift führen. Das ist zu erwarten, da die Geschwindigkeit bereits die zweite Integrationsstufe ist (vgl. Abb.4). In Abb. 11 wird bereits deutlich, dass eine höhere Updaterate der UWB-Lokalisierung eine bessere Schätzung der Geschwindigkeit ermöglicht. In Abb. 12 ist die Geschwindigkeit für zwei Bewegungsperioden dargestellt und zeigt, wie durch ein UWB-Update die Geschwindigkeitsschätzung wieder korrigiert wird. Durch eine bessere Kalibrierung kann dieser Drift noch reduziert werden.

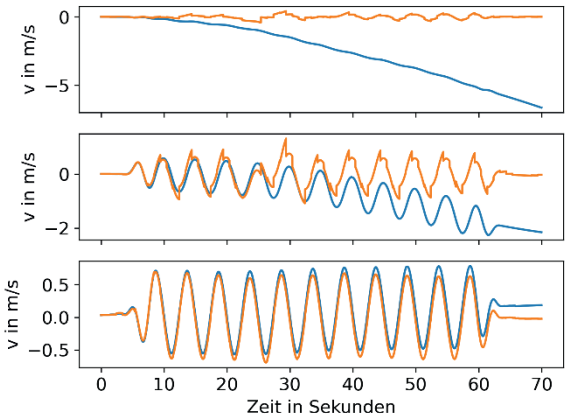


Abb. 11: Geschätzte Geschwindigkeit in Behälterkoordinaten. In orange ist das UWB-Update-Intervall mit 1 s dargestellt, in blau das mit ca. 60 s

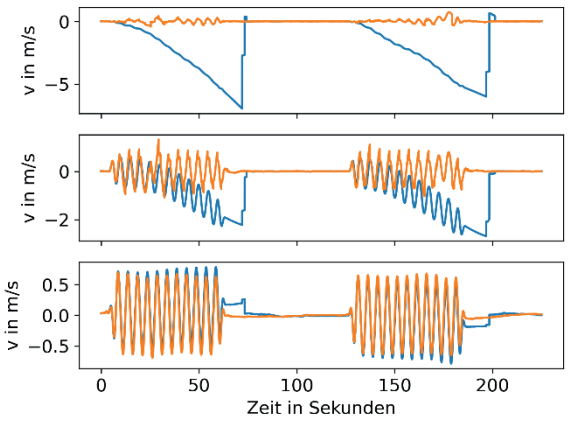


Abb. 12: Geschätzte Geschwindigkeit in Behälterkoordinaten für zwei Bewegungszyklen. In orange ist das UWB-Update-Intervall mit 1 s dargestellt, in blau das mit ca. 60 s

Zusammenfassung und Ausblick

Es konnte gezeigt werden, dass mit der vorgestellten Kombination aus inertialen Messungen und einer

UWB-Lokalisierung eine verbesserte Bewegungsverfolgung erzielt werden kann. Mit dem derzeitigen Algorithmus kann in Laborbehältern mit kurzen Zirkulationszeiten eine komplette Bewegungsverfolgung, d.h. Position, Geschwindigkeit, Beschleunigung und Lage im Behälter, ermöglicht werden. Durch gezielte Datenanalyse können so, trotz der noch großen Abweichungen in der Geschwindigkeit, Aussagen über das Strömungsverhalten im Behälter getroffen werden. Basierend auf den Ergebnissen, kann durch eine optimierte Rauschanalyse und eine zusätzliche Kalibrierung der Inertialsensoren sowie durch eine Einbindung der Druckmesswerte die Zuverlässigkeit weiter erhöht werden. Damit soll der Einsatzbereich auch auf längere Tauchzeiten in größeren Behältern erweitert werden.

Literatur

[1] Thiele, S., Da Silva, M. J., Hampel, U.: Autonomous sensor particle for parameter tracking in large vessels, Meas. Sci. Technol., vol. 21(8), 2010

[2] Reinecke, S. F., Hampel, U.: Instrumented flow following sensor particles with magnetic position detection and buoyancy control, J. Sens. Sens. Syst., vol. 5, 2016, S. 213-22

[3] Bisgaard, J.; Muldbak, M.; Cornelissen, S.; Tajsoleiman, T.; Huusom, J. K.; Rasmussen, T. & Gernaey, K. V.: Flow-following sensor devices: A tool for bridging data and model predictions in large-scale fermentations Elsevier BV, 2020, 18, 2908-2919

[4] Heller, L.; Horsthemke, M.; Gebing; Götz Kappen, P. & Glösekötter: GNSS based Automatic Anchor Positioning in Real Time Localization Systems Proceedings ITISE, 2019, 1068-1073

[5] Heller, A.; Horsthemke, L. & Glösekötter, P.: Design, Implementation, and Evaluation of a Real Time Localization System for the Optimization of Agitation Processes IESS, Friedrichshafen, 2020 [6] FREY, M.; BERNHARDT, M.; COLOMBO, G.; RIENER, R.: Kooperative Regelungsstrategien für die Gangrehabilitation. In: *Tagungsband des Workshops Automed*. Saarbrücken, Oktober 2004

[6] El-Sheimy, N.; Hou, H. & Niu, X.: Analysis and Modeling of Inertial Sensors Using Allan Variance *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement, Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE),* **2008***, 57*, 140-149

[7] L. Buntkiel; S. F. Reinecke & U. Hampel: 3.5 - Inertiale Lage- und Bewegungsverfolgung für instrumentierte Strömungsfolger zur Strömungscharakterisierung *AMA Service GmbH, Von-Münchhausen-Str. 49, 31515 Wunstorf, Germany,* **2019**

[8] Ding, W. & Gao, Y.: A Quaternion Based Error State Kalman Filter for Attitude Estimation Using Low-cost MEMS MARG Sensors *IEEE,* **2020**

[9] Youn, W. & Gadsden, S.: A.Combined Quaternion-Based Error State Kalman Filtering and Smooth Variable Structure Filtering for Robust Attitude Estimation *IEEE Access, Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE),* **2019***, 7*, 148989-149004

[10] Buntkiel, L.; Reinecke, S. & Hampel, U.: B6.3 Towards Standalone Attitude Estimation for Instrumented Flow Followers SMSI 2021 - Sensors and Instrumentation, AMA Service GmbH, Von-Münchhausen-Str. 49, 31515 Wunstorf, Germany, 2021

[11] SOLA, Joan.: Quaternion kinematics for the error-state Kalman filter. *arXiv preprint arXiv:1711.02508*, 2017.

[12] Rehbinder, H. & Hu, X.: Drift-free attitude estimation for accelerated rigid bodies *Automatica, Elsevier BV,* **2004***, 40*, 653-659

[13] Kok, M. & Schon, T. B.: Magnetometer Calibration Using Inertial Sensors *IEEE Sensors Journal, Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE),* **2016***, 16*, 5679-5689

Danksagung

Gefördert durch: Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft auf Grund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages (FKZ 22032618).



DOI 10.5162/15dss2021/2.3

Erprobung eines neuartigen akustischen Sensorsystems zur Bestimmung von Gasgehaltsverteilungen in Mehrphasensystemen

Michael Elfering[1,2], Sven Annas[1], Hans-Arno Jantzen[1] und Uwe Janoske[2]

[1]Labor für Strömungstechnik und -simulation, FH Münster, Steinfurt, Deutschland
[2]Lehrstuhl für Strömungsmechanik, Bergische Universität Wuppertal, Wuppertal, Deutschland
Kontakt: michael.elfering@fh-muenster.de

Mischvorgänge in Mehrphasenströmungen mit Gasanteil haben eine besondere Relevanz in der Verfahrenstechnik und treten in einer Vielzahl verschiedener Prozesse auf. Hierbei ist der Gasgehalt, das Verhältnis des Gasvolumens zum Gesamtvolumen, ein wichtiger Parameter bei der Auslegung und Bewertung der Durchmischung in Reaktoren. Als Messgröße ermöglicht die Gasgehaltsverteilung einen Einblick in die zugrundeliegenden Prozesse und deren räumliche Abläufe, sodass Verfahren zuverlässig überwacht und Optimierungsmaßnahmen der Anlagentechnik zielgerichtet durchgeführt werden können.

Die ortsaufgelöste Erfassung und Beschreibung dieser Größe ist Gegenstand aktueller Forschung. Neueste Ansätze von Elfering et al. [1, 2] forcieren die Entwicklung von Sensorsystemen zur Bestimmung des Gasgehalts in Suspensionen mittels akustischer Transmissionstomographie (GHATT). GHATT nutzt die Abhängigkeit der Schallgeschwindigkeit c_m niederfrequenter Signale vom volumetrischen Gasgehalt ε (Abb. 1). Mit Hilfe von Laufzeitmessungen wird bei der GHATT zunächst die Schallgeschwindigkeitsverteilung ermittelt, aus welcher anschließend der Gasgehalt ortsaufgelöst bestimmt wird. Die Abhängigkeit von Schallgeschwindigkeit und Gasgehalt wurde erstmals von Wood [3] mathematisch beschrieben und gilt für den sogenannten unterkritischen Frequenzbereich, d.h. unterhalb der Resonanzfrequenz für radiale Pulsationen der Blasen [4].

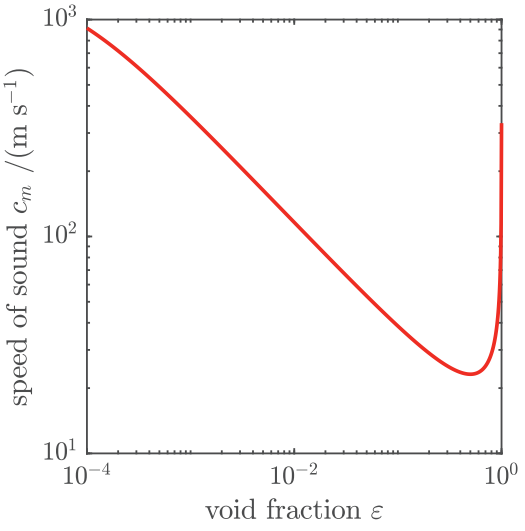


Abb. 1: Schallgeschwindigkeit c_m niederfrequenter Signale in Wasser-Luft-Gemisch in Abhängigkeit vom volumetrischen Gasgehalt ε

Für die Laufzeitmessung bei der GHATT stellt die Resonanzfrequenz der Blasen somit eine natürliche obere Frequenzgrenze für die zu verwendenden Signale dar; Frequenzen oberhalb dieser Grenzen lassen sich nicht für die GHATT einsetzen. Die Signalgestaltung und -auswertung muss entsprechend an dieses Verfahren angepasst werden. Vor diesem Hintergrund thematisiert diese Arbeit die Entwicklung und Erprobung der GHATT und deren Signalauswertung.

GHATT-Verfahren

Für die tomographische Bestimmung des Gasgehaltes werden bei der GHATT akustische Sender und Empfänger im Messvolumen positioniert (Abb. 2). Aufeinander folgend wird das Volumen von den Sendern durchschallt und die Signale werden von den Empfängern aufgezeichnet.

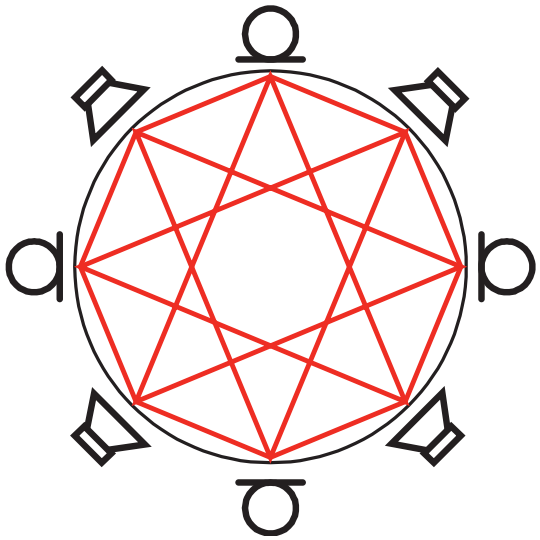


Abb. 2: Aufbau des Messsystems – schematisch dargestellt mit jeweils vier Sendern und Empfängern sowie den individuellen Messstrecken (rot)

Für jede dieser Messstrecken wird die individuelle Laufzeit ermittelt und im nächsten Schritt auf Basis der Laufzeiten ein Schnittbild der Schallgeschwindigkeitsverteilung tomographisch rekonstruiert. Da die lokale Schallgeschwindigkeit bei geeigneter Signalfrequenz primär vom lokalen Gasgehalt abhängt [5], lässt sich hieraus die Verteilung des Gasgehaltes ermitteln.

Laufzeitbestimmung

Die Laufzeitbestimmung der GHATT setzt prinzipiell die Kenntnis der gesendeten und empfangenen Signale voraus. Unter Idealbedingungen entspricht das Empfangssignal x dem um τ zeitverzögerten und um α gedämpften Sendesignal s:

$$x(t) = \alpha \cdot s(t - \tau) \tag{1}$$

Bei Messungen in geschlossenen Volumen erschweren Reflexionen neben Signalrauschen und der Frequenzlimitierung der GHATT die Laufzeitbestimmung. Es ergibt sich somit aus (1) ein Multipfad-Problem, bei dem sich das Empfangssignal aus der additiven Überlagerung von k Sendesignalen mit individuellen Zeitverzögerungen τ_j und Dämpfungsfaktoren α_j, sowie einem additiven Rauschanteil w zusammensetzt:

$$x(t) = \sum_{j=1}^{k} \alpha_j \cdot s\big(t - \tau_j\big) + w(t) \tag{2}$$

Das Multipfad-Modell aus (2) kann als Faltung des Sendesignals mit der Raumimpulsantwort verallgemeinert werden:

$$x(t) = s(t) * h + w(t) \tag{3}$$

Da neben der Raumimpulsantwort h auch die eingesetzte Messtechnik Einfluss auf das aufgezeichnete Signal hat (Wiedergabeelektronik h_{play}, Lautsprecher h_{LS}, Aufnahmeelektronik h_{rec}), ergibt sich aus (3):

$$x(t) = s(t) * h_{play} * h_{LS} * h * h_{rec} + w \tag{4}$$

Um die für die Laufzeitbestimmung relevante Raumimpulsantwort h zu isolieren, werden in dieser Arbeit das Sendesignal s und die systembedingten Signaleinflüsse in (4) durch $\tilde{s}$ substituiert:

$$x(t) = \tilde{s}(t) * h + w \tag{5}$$

mit

$$\tilde{s}(t) = s(t) * h_{play} * h_{LS} * h_{rec} = s(t) * h_{anecho}$$

Voraussetzung für die Anwendung ist eine Vorab-Bestimmung der reflexionsarmen Impulsantwort h_{anecho}, welche die raumunabhängigen, systembedingten Verzerrungen wiedergibt.

Da es bei dem Multipfad-Problem (3) bzw. (5) zu einer zeitlichen Überlagerung des Sendesignals und dem Signalrauschen kommt, scheitern korrelationsbasierte Verfahren häufig bei der Laufzeitbestimmung [5]. Die Ursache hierfür liegt in der Tatsache, dass die Überlagerung durch Interferenzen dazu führt, dass Korrelationsmaxima beeinflusst werden.

Der von Elfering et al. [6] beschriebene und in dieser Arbeit angewandte Ansatz zur Laufzeitbestimmung basiert auf der Approximation der Raumimpulsantwort $\hat{h}$ mittels dünnbesetzter Dekonvolution. Die einzelnen Impulse dieser Raumimpulsantwort entsprechen dabei dem direkten Schall respektive den reflektierten Schallanteilen. Der erste Impuls repräsentiert stets den akustisch kürzesten Pfad und ist daher für die Laufzeitbestimmung entscheidend.

Mathematisch ist das Ziel der dünnbesetzten Dekonvolution, die Abstandsquadrate zwischen dem Empfangssignal s und der rekonstruierten Annäherung $\hat{h} * s$ zu reduzieren und dabei die Anzahl der Einträge in $\hat{h}$, welche nicht Null sind auf ein Maximalwert $\hat{k}$ zu begrenzen. Es ergibt sich somit folgendes Optimierungsproblem:

$$\underset{\hat{h}}{\operatorname{argmin}} \left\| x - \tilde{s} * \hat{h} \right\|_2 \text{ s.t. } \left\| \hat{h} \right\|_0 \leq \hat{k} \tag{6}$$

Vor diesem Hintergrund wurden der Einsatz dünnbesetzter Dekonvolutionsansätze und optimierter Signale unter kontrollierten Bedingungen numerisch erprobt. Durch die Beschränkung auf den unterkritischen Frequenzbereich und durch den Frequenzbereich üblicher Unterwasserlautsprecher ergibt sich bei der GHATT ein praktischer Frequenzbereich von 500…4000 Hz. Zur Pulskompression und zur Verringerung der zeitlichen Überlappung des Direktschalls mit den Reflexionen verwendet die vorgestellte Methode kurze Signale mit einer linear modulierten Frequenz. Für eine zuverlässige Dekonvolution gilt es, die Autokorrelation zu disambiguieren, d.h. lokale Nebenmaxima zu reduzieren. Einerseits kann dies durch eine Verlängerung der Signale erreicht werden, allerdings führen längere Signale auch zu einer Steigerung der zeitlichen Signalüberlappung. Alternativ lassen sich mehrere kurze Signale einsetzen, sodass der direkte Schall weniger mit Reflexionen überlappt. [6]

Numerische Erprobung

Zur zielgerichteten Erprobung der Laufzeitbestimmung mittels dünnbesetzter Dekonvolution eignen sich numerische Verfahren, bei denen Parameter wie das Signal-Rausch-Verhältnis (SNR) oder die zugrundeliegende wahre Raumimpulsantwort bekannt sind und unabhängig voneinander variiert werden können.

Hierzu werden die Empfangssignale x entsprechend (3) aus einem bekannten Sendesignal s einer Raumimpulsantwort h mit arbiträrer dünnbesetzter Struktur sowie additivem weißen Rauschen w artifiziell erzeugt. Diese Empfangssignale lassen sich anschließend mittels dünnbesetzter Dekonvolution bezüglich ihrer Laufzeit auswerten.

Ein Beispiel eines solchen Signals und dessen Dekonvolution ist in Abb. 3 abgebildet. In Schwarz wird dabei das Sendesignal, die zugrundeliegende Raumimpulsantwort und das sich daraus ergebende Empfangssignal mit einem SNR = 3 dB dargestellt. Die zugrundeliegende Raumimpulsantwort wurde im gezeigten Beispiel mit einer Kardinalität $\|h\|_0 = k = 6$ generiert. In Rot sind die Ergebnisse des Optimierungsproblems (6) für $\hat{h}$ sowie dem approximierten Empfangssignal $\hat{h} * s$ dargestellt. Für die Laufzeitbestimmung ist der Zeitpunkt des ersten rekonstruierten Impulses entscheidend. Die weiteren Impulse spiegeln die Erstreflexionen wieder. Deren Rekonstruktion ist lediglich erforderlich, um die Lage des relevanten ersten Impuls zuverlässig und präzise bestimmen zu können.

Abb. 3 zeigt, dass das angenäherte Empfangssignal gut mit dem wahren Empfangssignal übereinstimmt. Auch das approximierte Ergebnis der Raumimpulsantwort und damit

ihr für die Laufzeitbestimmung relevanter erster Impuls zeigen gute Übereinstimmung mit der wahren Raumimpulsantwort. Das Verfahren eignet sich in diesem Fall somit ideal für die Laufzeitbestimmung.

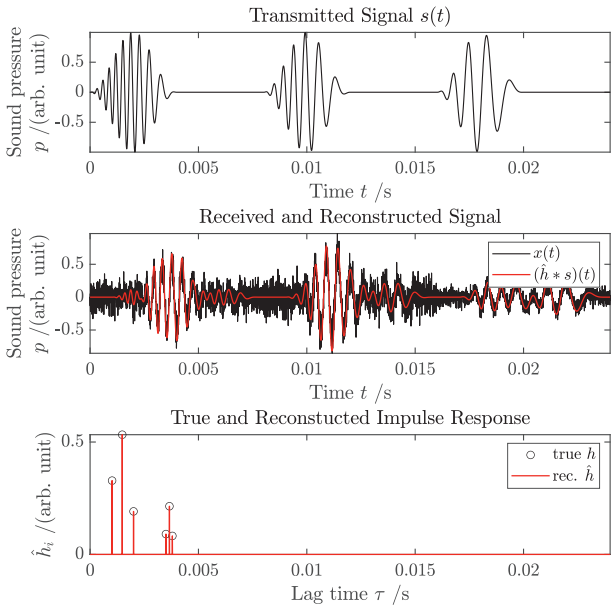


Abb. 3: Beispiel einer Signal-Dekonvolution mit dem gesendeten Signal s, dem simulierten Empfangssignal x (SNR = 3 dB), der rekonstruierten und wahren Raumimpulsantwort $\hat{h}$ bzw. h sowie dem daraus resultierenden Rekonstruktionsempfangssignal $\hat{h} * s$; Die Laufzeit ergibt sich aus dem ersten Peak der Impulsantwort.

Bemerkenswert an dem Empfangssignal in Abb. 3 ist, dass durch destruktive Interferenz des Direktschalls mit den ersten Reflexionen der Signalverlauf stark vom Sendesignal abweicht. Dies veranschaulicht, warum korrelationsbasierte Verfahren sich häufig als ungeeignet für verrauschte Mehrpfadprobleme erweisen.

Die statistische Auswertung von verschiedenen artifiziellen Empfangssignalen mit unterschiedlicher Raumimpulsantwort und SNR > 0 dB zeigen, dass die Raumimpulsantwort zuverlässig auch bei dicht aufeinanderfolgenden Impulsen und stark verrauschten Signalen rekonstruiert werden kann [6].

Praktische Erprobung

Neben der numerischen Erprobung des GHATT-Systems und der Laufzeitbestimmung ist insbesondere die praktische Erprobung unter kontrollierten Randbedingungen essenziell. Zu diesem Zweck wurde ein Laborprüfstand mit einem Volumen von 3 m³ aufgebaut (Abb. 4). Dieser ist optisch zugänglich und verfügt über eine variable Begasung am Behälterboden, sodass sich verschiedene Gasgehaltsverteilungen einstellen lassen. Für die akustischen Messungen werden jeweils bis zu acht Unterwasserlautsprecher und Hydrophone eingesetzt. Die Empfangssignale werden über ein Audiointerface aufgezeichnet. Die Lautsprecher lassen sich über einen elektronischen Umschalter einzeln für den Sendebetrieb ansteuern.

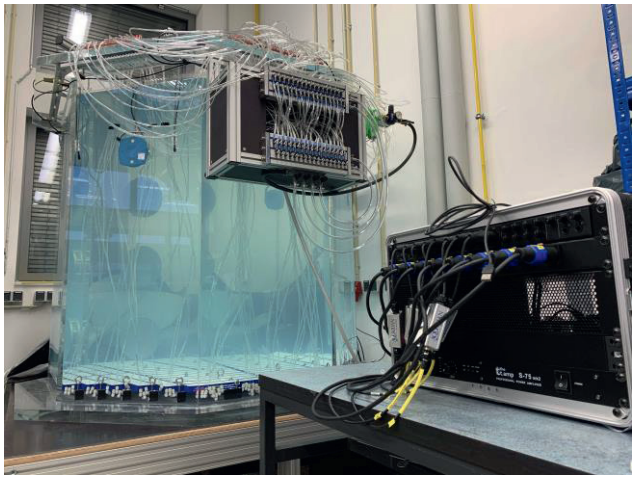


Abb. 4: Laborprüfstand für die Verfahrenserprobung, bestehend aus einem achteckigen Acrylglas-Behälter mit variabler Begasung, acht Unterwasserlautsprechern, acht Hydrophonen, einem Audiointerface und Signalumschalter für den Lautsprecherbetrieb

Zur praktischen Erprobung der Laufzeitbestimmung wurde einer der Lautsprecher wandnah im Prüfstand positioniert. Acht Hydrophone wurden analog zu Abb. 2 in derselben Höhe auf dem Umfang verteilt platziert. Der Lautsprecher wurde mit dem Sendesignal gespeist und die Empfangssignale der Hydrophone parallel aufgezeichnet und anschließend ausgewertet (Abb. 5).

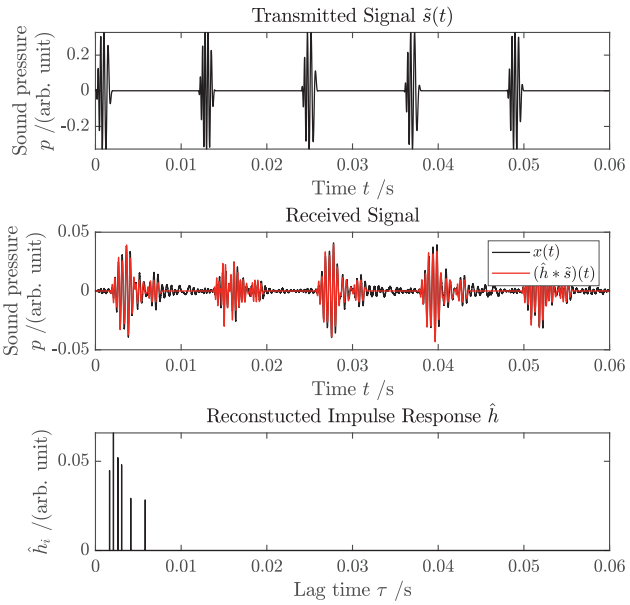


Abb. 5: Beispiel einer Signal-Dekonvolution mit dem gesendeten Signal $\hat{s}$, dem gemessenen Empfangssignal x, der rekonstruierten Raumimpulsantwort $\hat{h}$ und dem daraus resultierenden Rekonstruktionsempfangssignal $\hat{h} * s$; – Die Laufzeit ergibt sich aus dem ersten Peak der Impulsantwort.

Abb. 5 zeigt ein Beispiel der Dekonvolution eines aufgezeichneten Signals. Im gezeigten Beispiel wurde ein Signal bestehend aus fünf frequenzmodellierten Signalanteilen eingesetzt. Die rekonstruierte Raumimpulsantwort wurde mit $\hat{k}$ = 6 ermittelt. Dabei sollte $\hat{k}$ so gewählt werden, dass sich Erstreflexionen und der direkte Schallanteil abbilden lassen. Hierbei erwiesen sich Werte zwischen 4 und 8 als gute Praxis.

Der rekonstruierte Direktschall und die Erstreflexionen in Abb. 5 erscheinen für den betrachteten Behälter plausibel. Eine umfassende Validierung des Verfahrens ist jedoch noch nicht abgeschlossen. Die bisherigen Untersuchungen unterstützen jedoch bereits grundsätzlich die Erkenntnisse der numerischen Erprobung zur Eignung dieses Verfahrens zur Laufzeitbestimmung.

Zusammenfassung und Ausblick

Durch die beschriebene Methode lassen sich Laufzeiten niederfrequenter akustischer Signale in reflexionsreicher und verrauschter Umgebung bestimmen. Die bisher durchgeführten numerischen und labortechnischen Untersuchungen zum Einsatz dünnbesetzter Dekonvolutionsalgorithmen zur Laufzeitbestimmung in GHATT-Systemen zeigen bereits vielversprechende Ergebnisse, welche für deren Einsatz sprechen. Die ermittelten Laufzeiten können als Teil der GHATT-Signalauswertung für die Rekonstruktion von Schallgeschwindigkeitsverteilungen respektive Gasgehaltsverteilungen in Mehrphasensystemen dienen.

Für die sichere Anwendung gilt es jedoch zunächst, die praktischen Untersuchungen fortzusetzen und die Ergebnisse zu validieren. Nach Abschluss der Laboruntersuchung ist die großskalige Erprobung geplant. Mittelfristig soll mit der GHATT ein Verfahren entstehen, welches als Analysewerkzeug zur Optimierung der Anlagentechnik sowie zur Überwachung in den Bereichen der Verfahrenstechnik, Pharma- und Chemieindustrie sowie der Wasseraufbereitung oder der Biogasproduktion eingesetzt werden kann.

Literatur

[1] M. Elfering, D. Borgmann, H. Czajka, H.-A. Jantzen, S. Annas und U. Janoske, „Introduction to an acoustic tomography system for the determination of the gas holdup“ in *MikroSystemTechnik Kongress 2019,* 1 Aufl., Berlin: VDE VERLAG, 2019, S. 219–221.

[2] M. Elfering, H. Czajka, S. Annas und H.-A. Jantzen, “Messanordnung und Verfahren zum Bestimmen einer Gasgehaltsverteilung,” DE 10 2019 128 230 A1. DE 102019128230, Apr 22, 2021.

[3] A. B. Wood, *A textbook of sound: Being an account of the physics of vibrations with special reference to recent theoretical and technical developments,* 1. Aufl. The Macmillan company, 1930.

[4] S. Temkin, *Suspension Acoustics*. Cambridge: Cambridge University Press, 2005.

[5] R. Lee, M.-S. Kang, B.-H. Kim, K.-H. Park, S. Q. Lee und H.-M. Park, „Sound Source Localization Based on GCC-PHAT With Diffuseness Mask in Noisy and Reverberant Environments“, *IEEE Access*, Jg. 8, S. 7373–7382, 2020, doi: 10.1109/ACCESS.2019.2963768.

[6] M. Elfering, S. Annas, H.-A. Jantzen und U. Janoske, „Method for Time-of-Flight Estimation of Low Frequency Acoustic Signals in Reverberant and Noisy Environment with Sparse Impulse Response“, *Meas. Sci. Technol.*, in Review.

Danksagung

Diese Arbeit wurde gefördert vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (FKZ: 16ES0984).

GEFÖRDERT VOM

Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

DOI 10.5162/15dss2021/3.1

3.1
Entwicklung von Nanomaterialien für sensitive und spezifische Biosensoren zum Einsatz in der klinischen Diagnostik, der Lebensmittelsicherheit und dem Umweltmonitoring

A. Baeumner, Universität Regensburg, Regensburg/D

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/3.2

Elektrochemische Aktivitätsbestimmung der humanen Monoaminooxidase B durch selektive Bindung

S. Höfs[1], T. Greiner[1], G. Göbel[1], A. Talke[2], U. Ahnert[2], F. Lisdat[1]

[1] Biosystems Technology,Technical University Wildau, Wildau, Germany
[2] Biotez GmbH, Berlin, Germany

Kontakt: ggoebel@th-wildau.de

Einleitung

Morbus Parkinson gehört zu den weltweit häufigsten neurodegenerativen Erkrankungen [1]. Der Verlust von Neuronen in der Substantia nigra führt zu einem Dopaminmangel im Gehirn [2], der die Signalleitung beeinträchtigt und damit die Parkinson-typischen Bewegungsstörungen verursacht. Kommt als weiteres Merkmal die intrazelluläre Akkumulation von α-Synuclein hinzu, gilt die Diagnose von Parkinson als gesichert [3].

Derzeit gibt es keine Therapie, die Morbus Parkinson verhindern bzw. deren Fortschreiten aufhalten kann. Um die Lebensqualität der betroffenen Patienten zu verbessern, werden die Symptome durch das Einstellen des Dopaminspiegels behandelt. Die Gabe der Dopaminvorstufe L-Dopa in Verbindung mit Inhibitoren Dopamin-abbauender Enzyme führt im frühen Stadium der Erkrankung zu einer deutlichen Besserung [4]. Infolge der fortschreitenden Degeneration der dopaminergen Zellen verstärken sich allerdings im Laufe Zeit die motorischen Störungen wieder. Um die Dosierung der Medikamente zu optimieren, ist eine Messung der Aktivität der betreffenden Enzyme wünschenswert.

Diese Studie konzentriert sich auf die Aktivitätsbestimmung der Monoaminooxidase B (Mao B), die die Desaminierung von primären und sekundären aromatischen Aminen katalysiert [5].

In der Literatur sind verschiedene Methoden zur Aktivitätsbestimmung der Mao B beschrieben. In komplexen Medien wird häufig die Markierung mit C-14 eingesetzt [6], deren Anwendung jedoch besondere Vorsichtsmaßnahmen erfordert. Fluorometrische Assays detektieren das enzymatisch gebildete Wasserstoffperoxid. In komplexen biologischen Proben ist ihre Selektivität jedoch eingeschränkt.

Die elektrochemische Quantifizierung der Mao B-Aktivität ist Gegenstand nur weniger Publikationen. Reyes-Parada bestimmt die Aktivität der Mao B mittels HPLC und anschließender amperometrischer Detektion des aus 4-Dimethylaminophenethylamin gebildeten Reaktionsproduktes 4-Dimethylaminophenylessigsäure [7].

Des Weiteren kann die Aktivitätsbestimmung der Mao B durch die selektive Detektion von Edukt oder Produkt an PEDOT:NAFION modifizierten Kohlefaser-Elektroden erfolgen[8]. Obwohl die Detektion von Catecholaminen in der Literatur intensiv bearbeitet wird, wird der selektiven Detektion dieser Botenstoffe in Gegenwart ihrer Metabolite allerdings wenig Beachtung geschenkt. So erlaubt fluor-dotiertes Zinnoxid die selektive Detektion von Dopamin nach der Umsetzung zu Methoxytyramin durch die Catechol-O-Methyltransferase [8].

Schließlich erlaubt auch das bei der enzymatischen Substratumsetzung entstehende Wasserstoffperoxid eine Quantifizierung der Aktivität. Hierfür eignen sich insbesondere auf Preußisch Blau-basierende Elektroden, die bereits bei geringen Überpotentialen die Reduktion des Wasserstoffperoxids erlauben [9]. Die polykristalline Struktur des Preußisch Blau ermöglicht kleinen Molekülen wie Wasserstoffperoxid das selektive Eindringen in die Gitterstruktur [10]. Diese vorteilhafte Eigenschaft soll hier mit der Fähigkeit von spezifischen Antikörpern zur selektiven Bindung der Mao B kombiniert werden.

Methoden und Materialien

Wasserstoffperoxid-Messungen

Die elektrochemischen Messungen erfolgten an dem Potentiostaten CHI 800.

Vor der Kalibrierung der H_2O_2 Elektroden (Rusens, Russland), erfolgte eine elektrochemische Vorbehandlung mit 100 µM H_2O_2 in 100 mM Phosphatpuffer (pH 7,2) mit 100 mM KCl und 1 mM Benzylamin. Dafür wurden die Elektroden in einer Wall-Jet-Durchflusszelle von Rusens platziert, die in ein Fließsystem integriert war. Eine Peristaltikpumpe sorgte für eine Flussrate von 310 µl/min. Zum Austausch der Lösungen wurde die Pumpe abgeschaltet, um Luftblasen im Fließsystem zu vermeiden.

Zunächst wurde ein Potential von -100 mV vs. Ag/AgCl angelegt, welches die Reduktion des H_2O_2 erlaubt. Anschließend wurde der Puffer (100 mM Phosphat (pH 7,2), 100 mM KCl und 1 mM Benzylamin) durch das Fließsystem gepumpt bis sich der Basisstrom stabilisiert hatte. Danach wurden für 5 min 100 µM H_2O_2 durch die Zelle geleitet und

schließlich wurde das Fließsystem mit Puffer gespült, bis sich ein stabiler Basisstrom einstellte.

Im Anschluss erfolgte die Kalibrierung der Preußisch Blau-Elektroden in einem H_2O_2-Konzentrationsbereich von 0,5 µM bis 20 µM in dem oben angegebenen Puffer. Nach jeder Messung wurde das System gespült, bis wieder ein konstanter Basisstrom vorlag.

Da Sensitivität der Preußisch Blau-Elektroden variierte, wurde die Kalibrierung für neue jede Elektrode durchgeführt.

Vor den Mao B-Aktivitätsmessungen, wurden das Mao B Substrat Benzylamin sowie die Produkte der enzymatischen Reaktion NH_3 und Benzaldehyd hinsichtlich ihres Einflusses auf das Messsignal untersucht. Dafür wurden 500 µl der drei Verbindungen mit Konzentrationen im Bereich von 1 mM bis 15 mM mit 310 µl/min bei -100 mV vs. Ag/AgCl durch die Fließzelle geleitet.

Schließlich erfolgte die Aktivitätsbestimmung durch das Durchleiten von Substrat-Lösungen (500 µl), die unterschiedlich lange in Kontakt mit der Mao B waren.

Mao B-Anreicherung

Um die Mao-B aus einer biologischen Probe zu isolieren wurden spezifische Antikörper eingesetzt. Diese wurden an Cellulose-Beads gekoppelt Zunächst wurden 40 µl der Bead-Suspension mit 2000 µl 100 mM Phosphatpuffer, pH 7,2 (PP) gewaschen und bei 7400 rpm zentrifugiert. Nach der Resuspendierung in PP wurde die Mao B mit einer Proteinkonzentration von 2,5 mg/ml unter Schütteln bei 21 °C für eine Stunde inkubiert. Schließlich wurden die Beads jeweils 4-mal abzentrifugiert und resuspendiert, um ungebundene Mao B zu entfernen.

Bestimmung der Enzymaktivität

Um die Detektion unterschiedlicher Mao-B Aktivitäten in biologischen Proben zu simulieren, wurden in den Experimenten verschiedene Volumina der Mao B-gekoppelten Cellulose-Beads (40 µl bis 160 µl) eingesetzt. Bei allen Ansätzen wurde das Volumen mit PP auf 1000 µl aufgefüllt und in 4 Fraktionen zu 250 µl aufgeteilt und bei 7400 rpm zentrifugiert. Nach Zugabe von 600 µl 1 mM Benzylamin in PP wurden die Ansätze für 0, 10, 20, 30 min bei 37 °C unter Schütteln inkubiert. Nach der Inkubation wurden die Beads abzentrifugiert und 500 µl des Überstandes mit 17,3 µl 3 M KCl (in PP) hinzugegeben, um eine KCl-Konzentration von 100 mM zu erhalten (wichtig für das Potential der Ag/AgCl Referenz). Danach wurde die H_2O_2-Konzentration amperometrisch bestimmt (Abb. 1).

Zur Verifizierung der Ergebnisse aus den amperometrischen Messungen wurde die H_2O_2-Konzentration mittels eines optischen Assays (Monoamine Oxidase Activity Kit, Sigma Aldrich) bestimmt.

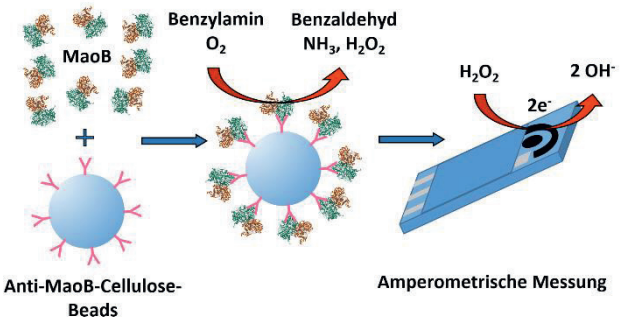


Abb. 1: Prinzip der Aktivitätsbestimmung der Mao B mittels amperometrischer Messung an Preußisch Blau-modifizierten Dickschicht-Elektroden von Rusens.

Ergebnisse

Amperometrische Wasserstoffperoxid-Messungen

Die amperometrische H_2O_2-Bestimmung wurde mit kommerziell erhältlichen Dickschichtelektroden durchgeführt, wobei eine Preußisch Blau-modifizierte Kohlenstoffelektrode mit einer Kohlenstoff-Gegenelektrode und einer Silber-Referenzelektrode kombiniert wird. Ein stabiles Referenzpotential ist dabei erst ab einer KCl-Konzentration von 100 mM gewährleistet und wurde für alle amperometrischen Messungen verwendet. Für eine gute Reproduzierbarkeit war eine elektrochemische Vorbehandlung der Elektroden mit 100 µM H_2O_2 erforderlich.

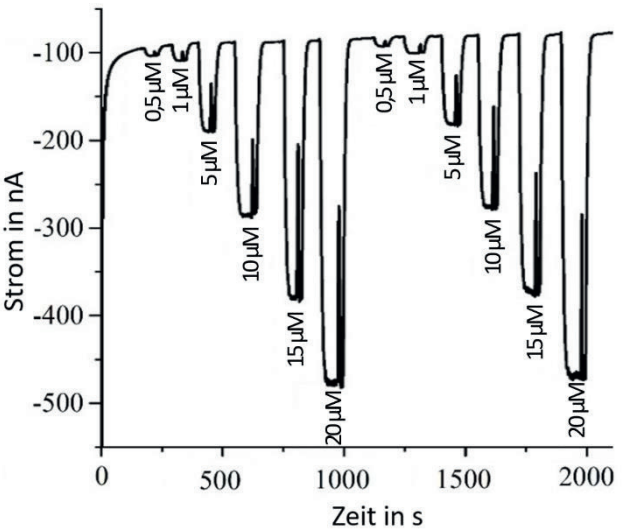


Abb. 2: Amperometrische Messung von H_2O_2 an vorhandelten Preußisch Blau-Dickschicht-Elektroden von Rusens in 100 mM Phosphatpuffer (pH 7,2) mit 100 mM KCl bei einem Potential von -100 mV vs. Ag/AgCl und einer Flussrate von 310 µl min^{-1}.

Nach der Vorbehandlung konnte die Kalibrierung mit H_2O_2 erfolgen. Um die Signalstabilität zu zeigen, wurde die Kalibrierung dreimal in einem amperometrischen Experiment wiederholt (Abb. 2). Dabei ist festzustellen, dass das Signal mindestens 50 min sehr stabil ist und das amperometrische Messsignal linear von der H_2O_2-Konzentration abhängt

(Abb. 3). Die Sensitivität der Preußisch Blau-modifizierten Elektroden sinkt von der ersten bis zur dritten Messung um nur 1 Prozent. Diese leichte Abnahme ist wahrscheinlich auf die Reduktion von Preußisch Blau zu Preußisch Weiß zurückzuführen, letzteres zeigt auf Elektroden eine geringere thermodynamische Stabilität (Karyakin, 2001).

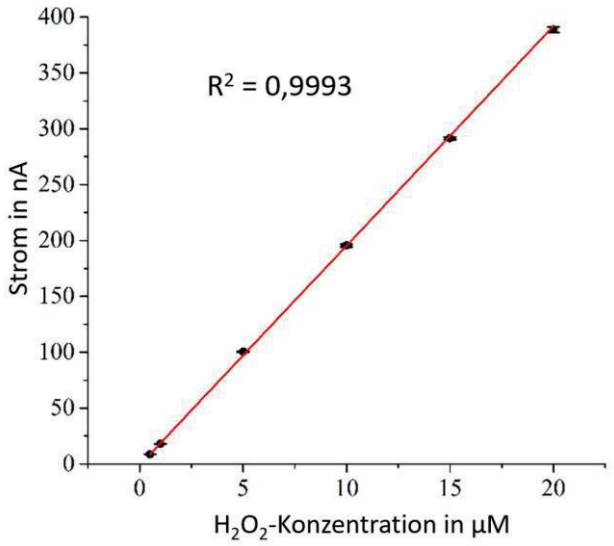


Abb. 3: Kalibrationskurve der Preußisch Blau-Dickschicht-Elektroden für H_2O_2.

Für die Bestimmung der Mao B-Aktivität mittels amperometrischer H_2O_2-Messung muss auch der Einfluss des Substrates Benzylamin und der Reaktionsprodukte Benzaldehyd und NH_3 auf das Messsignal betrachtet werden. Während µ-molare Konzentrationen von Benzaldehyd und NH_3, wie sie beim Umsatz von Benzylamin durch die Mao B in den untersuchten Zeitspannen entstehen, keinen Einfluss auf die Signalstärke hatten, zeigte sich in Gegenwart von 1 mM Benzylamin ein geringfügiger Anstieg um etwa 10 nA. Diese hohe Benzylaminkonzentration ist aber für das Messen der Enzymaktivität erforderlich. Um Fehler bei der H_2O_2-Bestimmung zu vermeiden, wurde den Lösungen zur H_2O_2-Kalibrierung 1 mM Benzylamin hinzugegeben.

Nach dem Anpassen der Messlösungen konnten die Preußisch Blau-modifizierten Dickschicht-Elektroden mit hinreichender Spezifität für die Mao B-Aktivitätsmessungen mittels amperometrischer H_2O_2-Detektion eingesetzt werden.

Amperometrische Mao B-Aktivitätsmessungen

Spezifische Antikörper wurden dafür eingesetzt, das Enzym aus einer Lösung selektiv zu binden. Dabei wurde auch untersucht, ob die Antikörperbindung die enzymatische Aktivität beeinflusst. Für den Test können nur Antikörper eingesetzt werden, die weit genug vom aktiven Zentrum binden. Die Antikörper wurden für die Bindung der Mao-B an Cellulose-Beads gekoppelt. Dann wurde die gebundene Mao B für 10, 20 und 30 min in einer Lösung mit 1 mM Benzylamin inkubiert und anschließend das gebildete Wasserstoffperoxid detektiert. Aus den amperometrischen Signalen wurden mittels der Kalibrierungsgeraden die betreffenden H_2O_2-Konzentrationen ermittelt.

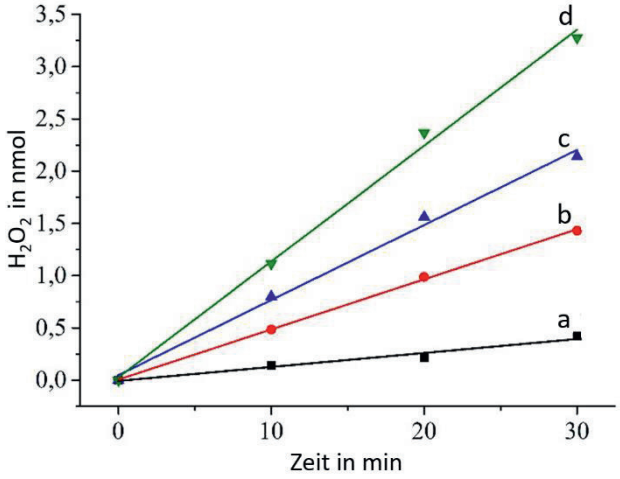


Abb. 4: Bestimmung der Aktivität der an mit Antikörpern modifizierten Cellulose-Beads gebundenen Mao B mittels amperometrischer Messung des beim enzymatischen Umsatz von Benzylamin entstehenden Wasserstoffperoxids. Die verschiedenen Geraden repräsentieren Messungen mit Proben, die (a) 1.6; (b) 2.3; (c) 3.2 or (d) 4.8 % (v/v) Cellulose -Beads mit gebundener Mao B enthalten.

Wie in Abbildung 4 zu sehen, besteht ein linearer Zusammenhang von gemessener H_2O_2-Konzentration und Zeitdauer der enzymatischen Reaktion. Damit kann gezeigt werden, dass das hier vorgestellte System in der Lage ist, die Mao M mittels Antikörper-modifizierten Cellulose-Beads zu binden und deren Aktivität quantitativ zu erfassen.

Für diagnostische Anwendungen ist außerdem erforderlich unterschiedliche Aktivitäten des Enzyms mit dem Sensorsystem bestimmen zu können. Um diese zu untersuchen, wurden unterschiedliche Mengen an Cellulose Beads gebundener Mao B mit Benzylamin inkubiert und das entstehende H_2O_2 amperometrisch detektiert. Dabei zeigt sich, dass für alle Enzymmengen die H_2O_2-Konzentration linear mit der Zeit steigt. Außerdem korreliert die H_2O_2-Produktionsgeschwindigkeit mit der eingesetzten Enzymmenge. Ohne Benzylamin ist nahezu kein amperometrisches Signal zu beobachten und somit keine Enzymaktivität festzustellen. Mit der hier entwickelten Methode lassen sich Enzymaktivitäten von $1*10^{-5}$ bis $1,4*10^{-4}$ U nachweisen.

Die Ergebnisse aus der amperometrischen Aktivitätsbestimmung wurden schließlich mit denen des oben beschriebenen fluoreszenz-basierten kommerziellen Tests verglichen, bei dem das gebildete H_2O_2 mit Hilfe von Peroxidase einen Fluoreszenzfarbstoff oxidiert. Beim Einsatz von 4,8 % (v/v) Cellulose-Beads mit gebundener Mao B werden mit dem optischen Test $7,2*10^{-5}$ und mit dem elektrochemischen Verfahren $8,6*10^{-5}$ Enzymaktivität detektiert. Damit sind die Ergebnisse beider Methoden gut vergleichbar.

Diskussion

Ziel dieser Entwicklung war die elektrochemische Aktivitätsbestimmung der Mao B, einem der Enzyme, die eine Schlüsselrolle bei der Behandlung von Morbus Parkinson haben. Dabei ist die Mao B aus einer Lösung durch anti-Mao B-IgG an Cellulose-Beads selektiv gebunden worden. Dieser Bindungsschritt ist zusätzlich vorteilhaft für die Detektion, da alle anderen Bestandteile einer realen Probe (z.B. Blut) weggewaschen werden können und somit die Enzymmessung unter genau definierten Bedingungen abläuft.

Mit dem gewählten Enzymsubstrat Benzylamin entsteht durch die enzymatische Umsetzung Benzaldehyd, NH_3 und H_2O_2. Letzteres wird durch die Verwendung von Preußisch Blau modifizierten Dickschichtelektroden detektiert und somit die Mao B-Aktivität bestimmt. Ein Einfluss der Reaktionsprodukte Benzaldehyd und NH_3 auf das Messsignal kann bei den akkumulierten µ-molaren Konzentrationen ausgeschlossen werden. Eine Verfälschung der Messung durch 1 mM Benzylamin kann durch die Zugabe einer entsprechenden Menge zu den Kalibrierungslösungen vermieden werden.

Schließlich ist das entwickelte Verfahren zur Aktivitätsbestimmung eingesetzt worden. Zeitabhängige Messungen zeigen den linearen Anstieg der H_2O_2-Konzentration über einen Zeitraum von 30 min sowie eine klare Diskriminierung unterschiedlicher Enzymaktivitäten. Die Sensitivität des elektrochemischen Systems erlaubt dabei bereits nach 10 min eine Quantifizierung. Der Bereich der nachweisbaren Enzymaktivität liegt bei $1*10^{-5}$ bis $1{,}4*10^{-4}$ U. Bei einer Enzymaktivität von 0,01 U bis 0,015 U je 10^{10} Thrombozyten [12] und einer Thrombozytenzahl von 15 bis $45*10^{10}$ je Liter Blut [13], erreicht die hier entwickelte Methode die erforderliche Sensitivität für die Bestimmung der Mao B-Aktivität in Blutproben.

Es lässt sich also sagen, dass das entwickelte Verfahren zur Bestimmung der Enzymaktivität mittels amperometrischer Messung des enzymatisch gebildeten an Wasserstoffperoxid-sensitiven Dickschichtelektroden funktioniert und somit als Grundlage zur Evaluierung der Wirksamkeit der Medikation bei der Parkinson-Erkrankung dienen kann. Dies eröffnet Perspektiven für eine individualisierte Behandlung von Patienten.

Literatur

(1) PRINGSHEIM, T.; JETTE, N.; FROLKIS, A.; STEEVES, T. D. L. The Prevalence of Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Mov. Disord.* (2014), *29* (13), 1583–1590

(2) POEWE, W.; SEPPI, K.; TANNER, C. M.; HALLIDAY, G. M.; BRUNDIN, P.; VOLKMANN, J.; SCHRAG, A.-E.; LANG, A. E. Parkinson Disease. *Nat. Rev. Dis. Primers* (2017), *3*, 17013

(3) DICKSON, D. W.; BRAAK, H.; DUDA, J. E.; DUYCKAERTS, C.; GASSER, T.; HALLIDAY, G. M.; HARDY, J.; LEVERENZ, J. B.; DEL TREDICI, K.; WSZOLEK, Z. K.; LITVAN, I. Neuropathological Assessment of Parkinson's Disease: Refining the Diagnostic Criteria. *Lancet Neurol.* (2009), *8* (12), 1150–1157

(4) OERTEL, W.; SCHULZ, J. B. Current and Experimental Treatments of Parkinson Disease: A Guide for Neuroscientists. *J. Neurochem.* (2016), *139*, 325–337

(5) BINDA, C.; HUBALEK, F.; LI, M.; EDMONDSON, D. E.; MATTEVI, A. Crystal Structure of Human Monoamine Oxidase B, a Drug Target Enzyme Monotopically Inserted into the Mitochondrial Outer Membrane. *FEBS Lett.* (2004), *564* (3), 225–228

(6) ADOLFSSON, R.; GOTTFRIES, C.-G.; ORELAND, L.; WIBERG, Å.; WINBLAD, B. Increased Activity of Brain and Platelet Monoamine Oxidase in Dementia of Alzheimer Type. *Life Sciences* (1980), *27* (12), 1029–1034

(7) REYESPARADA, M.; SCORZA, M.; SILVEIRA, R.; DAJAS, F.; CASSELS, B. 4-Dimethylaminophenethylamine, a Sensitive, Specific, Electrochemically Detectable Monoamine Oxidase-B Substrate. *Life Sci.* (1994), *54* (25), 1955–1963.

(8) GOEBEL, G.; TALKE, A.; AHNERT, U.; LISDAT, F. Electrochemical Activity Determination of Catechol-O-Methyl Transferase by Selective Dopamine Detection. *ChemElectroChem* (2019), *6* (17), 4533–4540

(10) KARYAKIN, A. A. Prussian Blue and Its Analogues: Electrochemistry and Analytical Applications. *Electroanalysis* (2001), *13* (10), 813–819

(11) CHEN, W.; CAI, S.; REN, Q.-Q.; WEN, W.; ZHAO, Y.-D. Recent Advances in Electrochemical Sensing for Hydrogen Peroxide: A Review. *Analyst* (2012), *137* (1), 49–58

(12) ALM, P. O.; KLINTEBERG, B.; HUMBLE, K.; LEPPERT, J.; SORENSEN, S.; THORELL, L. H.; LIDBERG, L.; ORELAND, L. Psychopathy, Platelet MAO Activity and Criminality among Former Juvenile Delinquents. *Acta Psychiatr. Scand.* (1996), *94* (2), 105–111

(13) GILES, C. The Platelet Count and Mean Platelet Volume. *Br. J. Haematol.* (1981), *48* (1), 31–37

Danksagung

Unser Dank gilt dem Bundesministerium für Wirtschaft und Energie, welches dieses Forschungs- und Entwicklungsprojekt (16KN041836) im Rahmen des zentralen Innovationsprogramm Mittelstand gefördert hat.

DOI 10.5162/15dss2021/3.3

Vergleich von Strategien zur Funktionalisierung von Goldnanopartikeln mit Antikörpern für Lateral Flow POCT

Monika Conrad[1], Esteban Builes[2], Andreas Dietzel[2], Sven Wagner[3], Albert Sill[3], Günther Proll[1] und Günter Gauglitz[1]

[1]Institut für Physikalische und Theoretische Chemie, Eberhard Karls Universität Tübingen, Tübingen, Deutschland
[2]Institut für Mikrotechnik, Technische Universität Braunschweig, Braunschweig, Deutschland
[3]Institut für Informatik, Universität Oldenburg, Oldenburg, Deutschland
Kontakt: monika.conrad@uni-tuebingen.de

Einleitung

Schnelle Untersuchungen direkt vor Ort (Point-of-Care Testing, POCT) erlangen immer größere Relevanz [1]. Der große Vorteil von POCT gegenüber herkömmlichen Methoden liegt darin, dass das Versenden der Proben ins Labor entfällt, was eine Zeit- und Kostenersparnis bedeutet. Damit erlangen vor allem Menschen in Entwicklungsländern eine bessere medizinische Versorgung und in Industrieländern wie Deutschland erhalten Ärzte und ihre Patienten u.a. neue Möglichkeiten der Medikamentenüberwachung. POCT eröffnet z.B. bei der Behandlung mit Psychopharmaka eine besser auf den Patienten abgestimmte Therapie, da schnell überprüft werden kann, ob bei Medikamenten mit enger therapeutischer Breite die richtige Dosis gegeben wird. Dies führt zu einer deutlichen Verbesserung der Situation der Patienten.

Damit ein Testverfahren für POCT geeignet ist, muss es kosteneffizient und leicht zu handhaben sein sowie schnell Ergebnisse liefern. Da Lateral Flow Tests (LFT) diese Anforderungen erfüllen, sind sie hervorragend dafür geeignet. Ein LFT setzt sich üblicherweise aus mehreren Komponenten zusammen: Sample Pad, Konjugat Pad, Membran mit Test- und Kontrolllinie und Absorbent Pad [2].

Auf das Sample Pad wird die Probe aufgegeben, seine Aufgabe ist es, die Probe aufzunehmen und die Probe kontrolliert an das Konjugat Pad abzugeben. Häufig wird es imprägniert, um die Viskosität, die Fließgeschwindigkeit und den pH-Wert anzupassen sowie unspezifische Wechselwirkungen zu eliminieren [3]. Auf das Konjugat-Pad werden die Erkennungselemente aufgebracht, welche durch den Probenfluss gelöst werden. Als Erkennungselemente dienen meist mit Goldnanopartikeln markierte Antikörper, aber auch andere Markierungen wie Latex, Selen, Kohlenstoff oder Liposome sind denkbar [4]. Der Vorteil von Goldnanopartikeln liegt darin, dass sie inert und stabil sind und eine intensive Farbe aufweisen, die nicht ausbleicht [5]. Nachdem die Probe das Konjugat Pad passiert hat, gelangt sie auf die Membran, wo sie zunächst auf die Testlinie trifft. Hier entsteht ein Farbsignal abhängig von der Analyt-Konzentration in der Probe. Nach der Testlinie trifft die Probe auf die Kontrolllinie, welche den erfolgreichen Fluss der Probe anzeigt. Am Ende des Teststreifens befindet sich das Absorbent Pad, welches die Probenflüssigkeit aufnimmt und so dazu beiträgt, den Fluss der Probe über die Membran aufrechtzuerhalten, und den Rückfluss der Probe verhindert.

Für die Empfindlichkeit eines LFTs hat das Erkennungselement eine herausragende Bedeutung [6]. Zunächst muss ein Antikörper mit hoher Affinitätskonstante ausgewählt werden, wofür es verschiedene direkte optische Methoden gibt [7]. Der hier verwendete Antikörper weist eine Dissoziationskonstante von 54 nM auf [8]. Dieser Antikörper wird über verschiedenen Strategien mit Goldnanopartikeln markiert. Betrachtet werden die direkte Adsorption von unverändertem und reduziertem Antikörper, die kovalente Anbindung über einen Polyethylenglykol (PEG) Linker und die Anbindung über die Streptavidin-Biotin-Wechselwirkung zwischen Streptavidin-Gold und biotinyliertem Antikörper (s. Abb. 1).

Bei der Funktionalisierung ist es wichtig, dass der Antikörper seine Funktionalität erhält und richtig orientiert ist. Die einfachste Methode Antikörper an Goldnanopartikel anzubinden ist die direkte Adsorption [9]. Bei der Direktbeschichtung bindet der Antikörper über nicht-kovalente

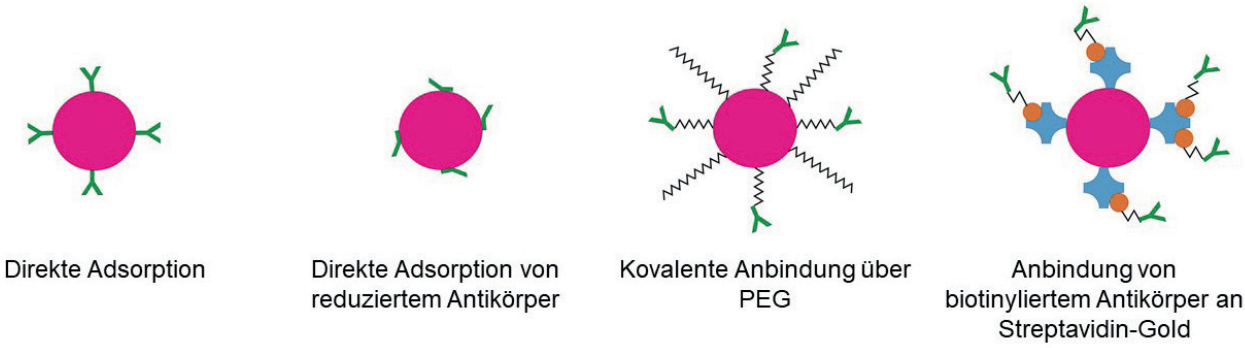


Abb. 1: Strategien zur Markierung von Antikörpern mit Goldnanopartikeln

Wechselwirkungen an die Goldoberfläche. Bei dieser Art der Anbindung ist die Orientierung des Antiköpers zufällig, sodass die Möglichkeit besteht, dass kein Paratop für die Bindung des Analyten zur Verfügung steht. Es wurde festgestellt, dass die Orientierung vom pH der Lösung abhängt und die besten Ergebnisse bei pH 7,5 erzielt werden können [10].

Eine Methode für eine orientierte Anbindung ist, den Antikörper zu reduzieren [11, 12]. Dabei werden Disulfidbrücken aufgebrochen und Thiolgruppen freigesetzt, welche an die Goldoberfläche binden. Durch die Reduktion werden die Antikörper in zwei Hälften geteilt, welche sich so auf der Goldoberfläche orientieren, dass das Paratop zugänglich ist. Besonders gut geeignet als Reduktionsmittel ist Tris-(2-carboxyethyl)-phosphin (TCEP), da es ein mildes Reduktionsmittel ohne Thiolgruppen ist, sodass es nach der Reduktion nicht entfernt werden muss.

Ein weiterer Ansatz zur Anbindung der Antikörper an Goldnanopartikel ist die Ausbildung einer kovalenten Bindung mit einem an die Goldoberfläche gebundenen Linker. Als Linker kann bifunktionelles PEG verwendet werden [13–15], welches über eine Thiolgruppe an die Goldoberfläche anbindet, während auf der anderen Molekülseite eine Carboxylgruppe über Carbodiimid-Chemie an Aminogruppen der Antikörper binden kann.

Die vierte Methode zur Konjugatsynthese, die hier betrachtet werden soll, ist die Nutzung der starken Wechselwirkung zwischen Biotin und Streptavidin [16]. Dabei wird der Antikörper biotinyliert und bindet an die mit Streptavidin beschichteten Goldnanopartikel.

Das Ziel dieser Untersuchungen ist, ein geeignetes Konjugat für den Nachweis kleiner Moleküle zu finden. Der quantitative Nachweis von kleinen Molekülen über LFTs stellt noch eine Herausforderung dar, da bei kleinen Molekülen der klassische Sandwich-Assay nicht angewandt werden kann. Deswegen müssen andere Testformate gewählt werden, bei denen das Signal negativ mit der Analytkonzentration korreliert ist. Als Beispiel für ein kleines Molekül wurde Amitriptylin (AMT) ausgewählt. AMT hat ein Molekulargewicht von 277 Da und zählt zur Klasse der trizyklischen Antidepressiva. Von der Arbeitsgemeinschaft für Neuropsychopharmakologie und Pharmakopsychiatrie (AGNP) liegt eine dringende Empfehlung zu therapeutischem Drug Monitoring (TDM) für AMT vor [17]. Bei TDM geht es darum, die Medikamentenkonzentration im Blut zu quantifizieren, um die Pharmakotherapie zu optimieren. Um eine bessere Reproduzierbarkeit im Vergleich zu herkömmlichen LFTs zu erreichen, wurden die Teststreifen strukturiert, sodass eine Probe in vier parallelen Kanälen gleichzeitig untersucht werden kann (s. Abb. 2).

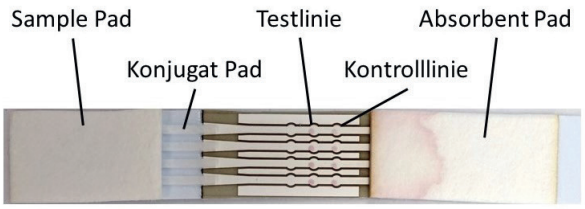


Abb. 2: Teststreifen mit parallelen Kanälen

Methoden und Materialien

Herstellung der Konjugate

Alle Konjugatsynthesen wurden in Eppendorf Protein LoBind Reaktionsgefäßen durchgeführt. Wenn nicht anders angegeben, wurden Chemikalien von Sigma-Aldrich verwendet.

Direktbeschichtung mit unverändertem Antikörper (DP): 5 µl 1,2 mg ml^{-1} anti-Amitriptylin-Antikörper (anti-AMT, Klon 202, monoklonal, Maus, Aviva Systems) wurden mit 1 ml 1 OD Goldnanopartikeln (AuNP) ($7 \cdot 10^{11}$ Partikel ml^{-1}, 20 nm Durchmesser von BBI solutions) 40 min bei RT und 300 rpm inkubiert. 100 µl 10 mg ml^{-1} Rinderserumalbumin (RSA) in 10 mM PBS pH 7,4 wurden zugegeben und weitere 20 min inkubiert. Anschließend wurde die Lösung gewaschen, um überschüssigen Antikörper zu entfernen. Dazu wurde dreimal 30 min bei 8000 g und 4 °C zentrifugiert, der Überstand abgenommen und in 1 mg ml^{-1} RSA-Lösung resuspendiert Beim letzten Mal wurde mit 0,1 mg ml^{-1} RSA auf 1 ml aufgefüllt und es wurden 100 mg Saccharose (Fluka) zugegeben.

Direktbeschichtung mit reduziertem Antikörper (DR): 4,2 µl anti-AMT und 5 µl 5 mM TCEP wurden in 40 µl 0,01 M PBS pH 6,8 bei RT und 300 rpm inkubiert. Nach 1 h wurde 1 ml AuNP zugegeben und 2 h weiter inkubiert. Anschließend wurde die Lösung wie oben gewaschen. Nach Abnahme des Überstandes wurde in 15 mg ml^{-1} RSA in 10 mM PBS pH 6,8 resuspendiert. Beim letzten Mal wurde mit 0,1 mg ml^{-1} RSA in PBS pH 7,4 auf 1 ml aufgefüllt und es wurden 100 mg Saccharose zugegeben.

Kovalente Anbindung über PEG-Linker (PE): 2,4 µl 1 mg ml^{-1} SH-PEG(8)-COOH (459 Da, Iris Biotech) und 1,6 µl 10 mg ml^{-1} SH-PEG-COOH (3000 Da, Rapp Polymere) wurden mit 1 ml AuNP OD 1 über Nacht bei RT und 650 rpm inkubiert. Um überschüssiges PEG zu entfernen, wurde dreimal 20 min bei 13000 g zentrifugiert und nach Abnahme des Überstandes in Wasser resuspendiert. Das letzte Mal wurden zum Sediment 2 µl 10 mg ml^{-1} 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (EDC) und 3,6 µl 10 mg ml^{-1} N-Hydroxysulfosuccinimid (sulfo-NHS) in 10 mM MES pH 5 gegeben und 10 min bei 37 °C und 650 rpm inkubiert. Nach Zugabe von 500 µl MES wurde die Lösung bei 13000 g 10 min zentrifugiert. Nach Abnahme des Überstandes wurden zum Rückstand 16 µl 1,2 mg ml^{-1} anti-AMT und 400 µl MES gegeben und über Nacht bei RT und 300 rpm inkubiert. Anschließend wurde 30 min bei 8000 g und 4 °C zentrifugiert. Nach Abnahme des Überstandes wurde in Hydrogencarbonat-Puffer pH 8,0 resuspendiert und 30 min inkubiert. Nach erneuter Zentrifugation wurde in 20 mg ml^{-1} RSA in 10 mM MES pH 6 resuspendiert und 1 h bei RT und 300 rpm inkubiert. Abschließend wurden zentrifugiert, der Überstand abgenommen und mit PBS pH 7,4 auf 1 ml aufgefüllt und 100 mg Saccharose zugegeben.

Biotinylierter Antikörper an Streptavidin-Gold (SB): 5 µl 1,2 mg ml^{-1} anti-AMT wurden mit 0,47 µl 1 mg ml^{-1} NHS-PEG4-Biotin (Thermo Scientific) in 50 µl PBS 1 h bei RT inkubiert. Um überschüssiges Biotinylierungsreagenz zu entfernen, wurden 400 µl PBS zugegeben und mit Zentrifugenfiltern (Amicon Ultra 30 K) dreimal 20 min bei 8000 g und 4 °C zentrifugiert. Der Rückstand wurde zu 1 ml OD 1 Streptavidin-Gold (SAuNP, microcoat, AuNP-Durchmesser 40 nm) gegeben und 1 h bei RT und 300 rpm inkubiert. Anschließend wurde die Lösung wie oben gewaschen und dabei mit 1 mg ml^{-1} RSA in TRIS pH 7,4 resuspendiert Beim letzten Mal wurde mit 0,1 mg ml^{-1} RSA auf 1 ml aufgefüllt und es wurden 100 mg Saccharose zugegeben.

UV-Vis-Spektroskopie

UV-Vis-Spektren wurden in 1 cm Quartz-Küvetten mit einem Lambda 9 Spektrometer aufgenommen. Die Referenzküvette wurde mit PBS gefüllt und die Spektren von 450 – 700 nm bei einer spektralen Auflösung von 1 nm aufgenommen.

Dynamische Lichtstreuung

DLS-Messungen wurden mit einem Zetasizer Nano ZS von Malvern Panalytical mit 50 µl Probe in Einweg-Mikroküvetten unter einem Winkel von 173 ° bei 25 °C durchgeführt. Die Wellenlänge des HeNe-Lasers war 633 nm. Jede Probe wurde dreifach bestimmt und ein Durchschnittsergebnis gebildet. Der verwendete Brechungsindex für die Partikel war 0,135 und als Probenviskosität wurde die Viskosität von Wasser 0,8872 und der Brechungsindex 1,330 angenommen.

Membranstrukturierung

Nitrocellusemembranen (CN-140 UniSart, Sartorius) wurden mit Kalt-Laserablation strukturiert [18]. Ein Yb:KGW-Festkörperlaser (Light Conversion Pharos, Vilnius, Litauen) mit einer Wellenlänge von 1030 nm wurde zur Strukturierung verwendet. Dieser Laser wurde mit einer Pulsfrequenz von 600 kHz, einer Laserleistung von 6,74 W und einer Schreibgeschwindigkeit von 2400 mm s^{-1} auf die Nitrocellulosemembran fokussiert. Eine hohe Photonendichte wurde mit ultrakurzen Laserpulsen von 212 fs auf einen 19 µm großen Spot fokussiert. Auf diese Weise wurden Kanalbarrieren im Abstand von 1000 µm strukturiert, wodurch vier Kanäle entstanden. Auch Konvexitäten wurden wie beschrieben realisiert.

Aufbau Teststreifen

Für die Sample Pads wurden Cellulosestreifen (Merck Millipore) 4 h in 0,5 % RSA und 0,25 % Tween® 20 in 100 mM TRIS pH 8 unter leichtem Schütteln imprägniert und anschließend bei RT über Nacht getrocknet. Mit dem Laser strukturierte Glasfaserstreifen wurden zur Verwendung als Konjugat Pad in 10 mg ml^{-1} RSA in PBS pH 7,4 1 h imprägniert und über Nacht bei RT getrocknet. Auf den Stegen der Pads wurden zweimal 2,18 µl DR-Konjugat-Lösung (OD 0,92) aufgebracht und 1 h bei 37 °C getrocknet. Die Test- und Kontrolllinie wurden auf die Teststreifen

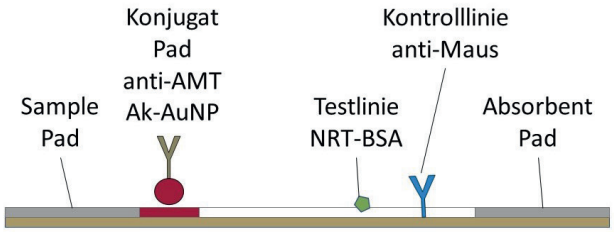


Abb. 3: Schematischer Aufbau der verwendeten Teststreifen

mittels eines Kontaktlos-Spotters von M2-Automation aufgebracht. Dazu wurden zweimal 45 nl einer 1 mg ml^{-1} Lösung mit einer Pulsdauer von 950 µs gespottet. Für die Testlinie wurde Nortriptylin-RSA-Konjugat (CalBioreagents) und für die Kontrolllinie anti-Maus (polyklonal, Ziege, Bio-Rad) verwendet. Als Absorbent Pad wurden die gleichen Cellulosestreifen wie für die Sample Pads ohne Imprägnierung verwendet.

Um den Teststreifen aufzubauen, wurde die Nitrocellulosemembran auf eine Plastikkarte aufgeklebt. Auf der einen Seite wurde das strukturierte Konjugat-Pad und das Sample Pad aufgeklebt, auf der anderen Seite das Absorbent Pad (s. Abb. 3). Dabei überlappten die einzelnen Bestandteile 1 mm. Um den Test zu starten, wurde Probenflüssigkeit auf das Sample Pad aufgetragen. Die Probe floss über das Konjugat Pad, wo sie die mit Goldnanopartikeln markierten Antikörper löste, und durch Kapillarkräfte durch die Nitrocellulosemembran bis zum Absorbent Pad transportiert wurde, welches überschüssige Probenflüssigkeit aufnahm. Auf der Testlinie befand sich das immobilisierte NRT-RSA-Konjugat, an welches freie anti-AMT-Goldnanopartikel banden. Nach der Testlinie passierte die Probe die Kontrolllinie, auf welcher anti-Maus nicht bereits an der Testlinie gebundene anti-AMT-Goldnanopartikel fingen und so den erfolgreichen Fluss anzeigten.

Kalibrierung

Für die Aufnahme einer Kalibrierung wurden auf acht strukturierte Teststreifen 250 µl Probenlösung mit verschiedenen AMT-Konzentrationen (0, 1, 10, 30, 100, 300, 1000, 10000 µg l^{-1}) in PBS pH 7,4 aufgebracht und im trockenen Zustand einzeln fotografiert (Kompaktkamera RX100III, Sony).

Auswertung

Die Farbspots auf den Teststreifen wurden mit einer eigens entwickelten Software, die auf Deep Learning basiert, ausgewertet. Diese verwendet die mit dem Laser aufgebrachten Strukturen, um die Testzonen im Foto zu finden und alle Testzonen zu lokalisieren. Da die Sensitivität gegenüber der Rotfärbung im grünen Farbkanal am größten ist, wird für die Auswertung nur der grüne Kanal verwendet. Anhand mehrerer Referenzpunkte auf dem Sensor können lokale und globale Beleuchtungsvariationen korrigiert werden. Um nur die Pixel auszuwerten, in denen der rote Farbumschlag stattgefunden hat, wird eine Segmentierung durchgeführt, die auf der Otsu Schwellwert-Methode

basiert [19]. Die Intensität wird als Differenz der mittleren Intensität des roten Spots und einer Referenzzone direkt davor berechnet. Anschließend wird der Quotient aus Intensität der Testlinie und der Kontrolllinie gebildet und der Mittelwert und die Standardabweichung der Signale der vier Kanäle eines Teststreifens berechnet. Die Signale wurden auf das Signal der Nullkonzentration normiert. Zur Ermittlung einer Kalibrierfunktion wurde eine logistische Funktion mit Origin 2021 an die Werte angepasst. Die Nachweisgrenze (LOD) wurde als Schnittpunkt der unteren Grenze des 95 % Konfidenzbandes mit der Kalibrierkurve und die Bestimmungsgrenze (LOQ) als Schnittpunkt mit der oberen Grenze des Konfidenzbandes bestimmt.

Ergebnisse

Dynamische Lichtstreuung

DLS-Messungen erlauben die Bestimmung der Größe von Partikeln in kolloidalen Lösungen. Dabei wird der hydrodynamische Durchmesser bestimmt. Die Partikelgröße der hergestellten Konjugate und der Edukte (AuNP und SAuNP) wurde bestimmt (s. Abb. 5). Dabei wird deutlich, dass die verwendeten AuNP mit einem laut Hersteller 20 nm Durchmesser, einen hydrodynamischen Durchmesser (Z-Average) von (22,73 ± 0,16) nm haben s. Abb. 5a. Die Verteilung der daraus hergestellten Konjugate DR, DP und PE zeigt, dass der Durchmesser durch die Beschichtung zunimmt und im Fall von DR und DP zu einer leichten Verbreiterung des Peaks führt. Bei PE sind zwei Peaks bei größeren Durchmessern zu sehen. Beim Vergleich der Größenverteilung von SB-Konjugat zu seinem Edukt SAuNP zeigt sich eine ähnliche Verteilung mit zwei Peaks zu größeren Durchmessern verschoben s. Abb. 5b.

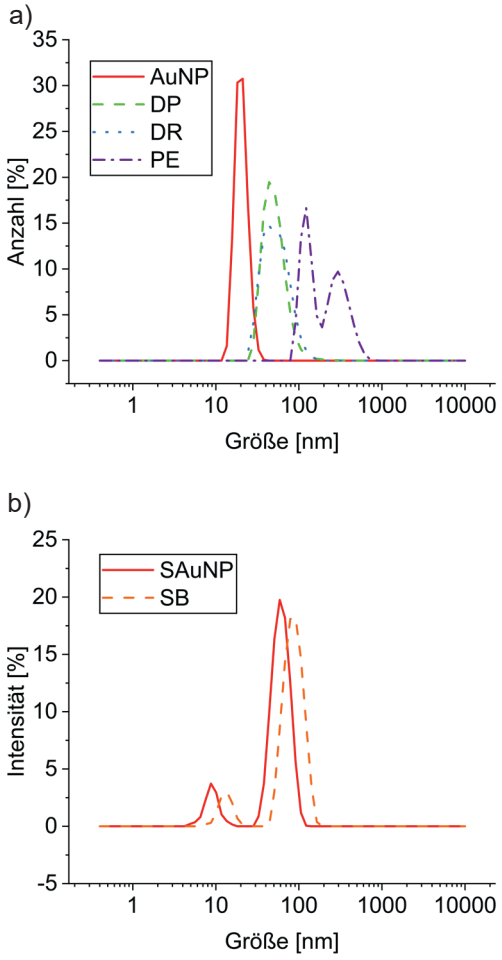


Abb. 5: Größenverteilung der Konjugate mit DLS bestimmt, a) zahlenmäßige Verteilung des hydrodynamischen Durchmessers der Konjugate DP, DR und PE im Vergleich zum Edukt Goldnanopartikeln mit 20 nm Durchmesser, b) Intensitätsverteilung des hydrodynamischen Durchmessers des Konjugats SB im Vergleich zum Edukt Streptavidin-Gold (SAuNP)

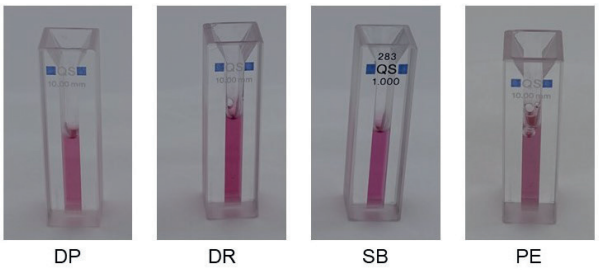


Abb. 4: Konjugate DP, DR, SB und PE fotografiert in Küvetten

UV-Vis-Spektroskopie

Die hergestellten Konjugate wurden nach der Synthese in Küvetten fotografiert s. Abb. 4. Darauf ist direkt zu erkennen, dass alle Konjugate eine intensiv rote Farbe aufweisen, wobei das Konjugat DR die höchste Farbintensität zeigt, während die Intensität von DP und PE geringer ausfällt. Da alle Synthesen mit 1 ml Goldnanopartikel-Lösung gestartet und am Ende auf das gleiche Volumen gebracht wurden, kann aus der Farbintensität auf die Verluste während der Synthesen geschlossen werden. DR weist die geringsten Verluste auf.

Daher wurde für das Konjugat DR und sein Edukt AuNP ein UV-Vis-Spektrum aufgenommen s. Abb. 6. Das Spektrum von AuNP zeigt ein Maximum bei der Wellenlänge λ_{max} 522 nm und eine optische Dichte von 1,0 wie vom Hersteller angegeben. Nach der Beschichtung mit

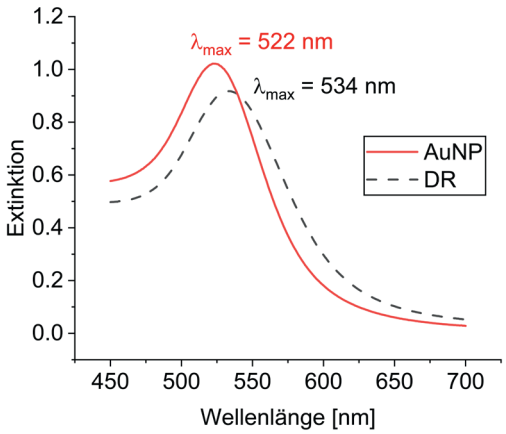


Abb. 6: UV-Vis-Spektren von Konjugat DR und AuNP

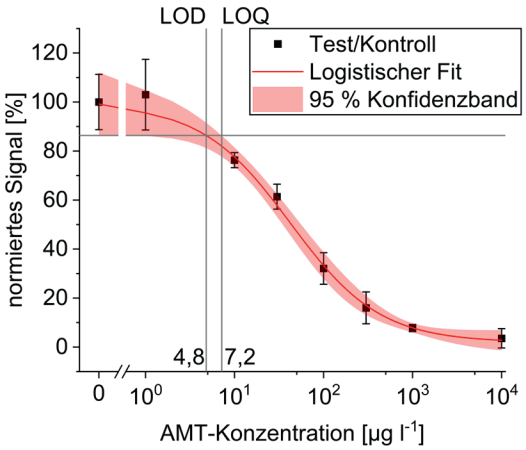


Abb. 7: Kalibrierung für Konjugat DR: Es wurde das normierte Signal (Quotient aus Intensität der Testlinie und Intensität der Kontrolllinie) als Funktion der AMT-Konzentration aufgetragen. Zur Erstellung einer Kalibrierkurve (rot) wurde eine logistische Funktion verwendet. Die Konfidenzbänder (95 %, hellrot), LOD und LOQ (grau) sind eingezeichnet.

reduziertem Antikörper verschiebt sich das Maximum wie erwartet zu höheren Wellenlängen, hier zu 534 nm, und einer optischen Dichte von 0,9.

Kalibrierung

Das Konjugat DR wurde auf seine Funktionsweise auf den Teststreifen untersucht. Dafür wurde eine Kalibrierung mit acht verschiedenen AMT-Konzentrationen aufgenommen s. Abb. 7. Die Kalibrierkurve folgt einer logistischen Funktion, die erfolgreich angepasst wurde s. Tab. 1. Anhand des Konfidenzbandes wurden LOD und LOQ bestimmt. Die LOD liegt bei 4,8 µg l^{-1} und die LOQ bei 7,2 µg l^{-1}.

Tab. 1: Formel für den logistischen Fit und die Werte mit Standardfehlern der angepassten Funktion

Formel	$y = \frac{A_1 - A_2}{1 + \left(\frac{x}{x_0}\right)^p} + A_2$	
Parameter	**Wert**	**Standardfehler**
A_1	99	5
A_2	1,9	1,9
x_0	42	6
p	0,87	0,09

Diskussion

Dynamische Lichtstreuung

Die DLS-Messungen (s. Abb. 5) zeigen, dass die AuNP mit einem Durchmesser von 20 nm eine schmale Größenverteilung aufweisen. Durch die Beschichtung kommt es zu einer Vergrößerung des Durchmessers, was ein Hinweis auf eine erfolgreiche Anbindung des Antikörpers an die Goldoberfläche ist. Gleichzeitig verbreitern sich die Peaks bei DP und DR etwas, was durch unterschiedliche Anlagerung des Antikörpers verursacht oder ein Hinweis auf geringe Agglomeration sein kann. Für PE zeigt die DLS-Messung zwei Peaks bei größeren Durchmessern und damit die Agglomeration der Partikel. Bei dieser Synthese wurden mit Carbodiimid-Chemie Bindungen zwischen der Carboxylgruppe des PEG und Aminogruppen des Antikörpers gebildet. Wenn EDC/sulfo-NHS durch die Zentrifugation nicht vollständig entfernt wurde, ist es möglich, dass Carboxylgruppen der Antikörper aktiviert wurden und anschließend mit Aminogruppen anderer Antikörper reagierten und hier kovalente Bindungen knüpften, die sich als Agglomerate zeigen.

In der Größenverteilung von SAuNP und SB sind zwei Peaks zu sehen. Der kleinere lässt sich vermutlich RSA zuordnen, welches zur Absättigung zugegeben wurde, während der Peak beim größeren Durchmesser für SAuNP den 40 nm großen Goldpartikeln mit Streptavidin-Beschichtung entspricht. Durch die Anbindung des biotinylierten Antikörpers an die Partikel vergrößert sich der Durchmesser, ohne dass es zu einer Peakverbreiterung kommt. Hier ist davon auszugehen, dass die Partikel kaum agglomerieren.

Aus den DLS-Messungen lässt sich schließen, dass vor allem die Anbindung des Antikörpers über einen PEG-Linker zu Agglomeration führen kann. Somit ist die PE-Synthese in dieser Hinsicht am wenigsten geeignet.

UV-Vis-Spektroskopie

Die Fotos der Konjugat-Lösungen (s. Abb. 4) zeigen eine rote Farbe für alle Konjugate. Das deutet daraufhin, dass keine Flokkulation aufgetreten ist und bei allen Konjugaten eine erfolgreiche Beschichtung und Stabilisierung der Goldnanopartikel stattfindet. Die höchste Farbintensität zeigt das Konjugat DR, damit weist dieses Konjugat die höchste Ausbeute auf. Die geringere Ausbeute des PE-Konjugats lässt sich mit der stärkeren Agglomeration erklären. Weitere Verluste lassen sich auf die unterschiedliche Stabilisierung der Konjugate durch die jeweilige Beschichtung und unterschiedliche starke Adsorption an die Wände der Reaktionsgefäße zurückführen. Außerdem kann es bei jedem Schritt des Überstands abnehmen dazu kommen, dass versehentlich auch die Nanopartikel entnommen wurden. Insgesamt wurde bei DR die höchste Ausbeute erreicht. Daher scheint diese Synthese die beste zu sein.

Das UV-Vis-Spektrum des DR-Konjugats zeigt die erwartete Verschiebung zu höheren Wellenlängen. Die starke Absorption von Goldnanopartikeln ist mit der Oberflächenplasmonenresonanz zu erklären, welche sich mit der Partikelgröße ändert. Bei größeren Partikelgrößen verschiebt sich das Maximum der Absorption zu größeren Wellenlängen. Außerdem lässt sich aus der Änderung der Extinktion des Maximums erkennen, dass eine Ausbeute von 90 % erreicht wurde. Da es zu keiner Peakverbreiterung durch die Synthese kommt, spielt Agglomeration eine vernachlässigbare Rolle.

Kalibrierung

Eine Kalibrierung auf den Teststreifen konnte erfolgreich durchgeführt werden. Die erreichte LOD von 4,8 µg l^{-1} liegt eine Größenordnung höher als mit einem markierungsfreien Immunoassay mit Reflektometrischer Interferenzspektroskopie (0,3 µg l^{-1}) [20] erreicht wurde, ist aber ausreichend, um AMT in Patientenproben nach einer zehnfachen Verdünnung der Plasmaproben zu quantifizieren. Die wirksame Plasmakonzentration liegt bei 50 – 139 µg l^{-1} [21].

Fazit

Es wurde gezeigt, dass die Anbindung von anti-AMT an Goldnanopartikel nach Reduktion der Antikörper mit TCEP und anschließender direkter Anbindung der durch Reduktion erhaltenen Antikörperhälften an die Goldoberfläche über die freigesetzten Thiolgruppen besser geeignet ist als andere Methoden. Der Vorteil dieser Synthese liegt darin, dass sie einfach, schnell, mit großer Ausbeute und guter Stabilisierung der Goldnanopartikel erfolgt. Mit diesem Konjugat wurde erfolgreich eine Kalibrierung auf Teststreifen aufgenommen und ein Arbeitsbereich erreicht, indem Amitriptylin in realen Patientenproben quantifiziert werden kann.

Literatur

[1] Goble, J.A.; Rocafort, P.T.: Point-of-Care Testing. In: *J Pharm Pract* 30 (2017) Nr. 2, S. 229–237.

[2] Koczula, K.M.; Gallotta, A.: Lateral flow assays. In: *Essays Biochem* 60 (2016) Nr. 1, S. 111–120.

[3] Merck Millipore: *Rapid Lateral Flow Test Strips. Considerations for Product Development*. Darmstadt, Germany, 2013.

[4] Posthuma-Trumpie, G.A.; Korf, J.; van Amerongen, A.: Lateral flow (immuno)assay: its strengths, weaknesses, opportunities and threats. A literature survey. In: *Anal Bioanal Chem* 393 (2009) Nr. 2, S. 569–582.

[5] Aslan, K. et al.: Angular-ratiometric plasmon-resonance based light scattering for bioaffinity sensing. In: *J Am Chem Soc* 127 (2005) Nr. 34, S. 12115–12121.

[6] Morales, M.A.; Halpern, J.M.: Guide to Selecting a Biorecognition Element for Biosensors. In: *Bioconjugate Chem* 29 (2018) Nr. 10, S. 3231–3239.

[7] Gauglitz, G.: Critical assessment of relevant methods in the field of biosensors with direct optical detection based on fibers and waveguides using plasmonic, resonance, and interference effects. In: *Anal Bioanal Chem* 412 (2020) Nr. 14, S. 3317–3349.

[8] Conrad, M. et al.: Comparison of methods for quantitative biomolecular interaction analysis. In: *Anal Bioanal Chem* (2021).

[9] Geoghegan, W.D.; Ackerman, G.A.: Adsorption of horseradish peroxidase, ovomucoid and anti-immunoglobulin to colloidal gold for the indirect detection of concanavalin A, wheat germ agglutinin and goat anti-human immunoglobulin G on cell surfaces at the electron microscopic level: a new method, theory and application. In: *J Histochem Cytochem* 25 (1977) Nr. 11, S. 1187–1200.

[10] Ruiz, G. et al.: pH Impacts the Orientation of Antibody Adsorbed onto Gold Nanoparticles. In: *Bioconjugate Chem* 30 (2019) Nr. 4, S. 1182–1191.

[11] Makaraviciute, A. et al.: Considerations in producing preferentially reduced half-antibody fragments. In: *J Immunol Methods* 429 (2016), S. 50–56.

[12] Sharma, H.; Mutharasan, R.: Half antibody fragments improve biosensor sensitivity without loss of selectivity. In: *Anal Chem* 85 (2013) Nr. 4, S. 2472–2477.

[13] Eck, W. et al.: PEGylated gold nanoparticles conjugated to monoclonal F19 antibodies as targeted labeling agents for human pancreatic carcinoma tissue. In: *ACS Nano* 2 (2008) Nr. 11, S. 2263–2272.

[14] Liu, T.; Thierry, B.: A solution to the PEG dilemma: efficient bioconjugation of large gold nanoparticles for biodiagnostic applications using mixed layers. In: *Langmuir* 28 (2012) Nr. 44, S. 15634–15642.

[15] Parolo, C. et al.: Design, preparation, and evaluation of a fixed-orientation antibody/gold-nanoparticle conjugate as an immunosensing label. In: *ACS Appl Mater Interfaces* 5 (2013) Nr. 21, S. 10753–10759.

[16] Weber, P.C. et al.: Structural origins of high-affinity biotin binding to streptavidin. In: *Science* 243 (1989) Nr. 4887, S. 85–88.

[17] Hiemke, C. et al.: Consensus Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring in Neuropsychopharmacology: Update 2017. In: *Pharmacopsychiatry* 51 (2018) 1-02, S. 9–62.

[18] Hecht, L.; van Rossum, D.; Dietzel, A.: Femtosecond-laser-structured nitrocellulose membranes for multi-parameter Point-of-Care tests. In: *Microelectron Eng* 158 (2016), S. 52–58.

[19] Otsu, N.: A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms. In: *IEEE Trans Syst Man Cybern Syst* 9 (1979) Nr. 1, S. 62–66.

[20] Krieg, A.K.; Gauglitz, G.: Ultrasensitive label-free immunoassay for optical determination of amitriptyline and related tricyclic antidepressants in human serum. In: *Anal Chem* 87 (2015) Nr. 17, S. 8845–8850.

[21] Asberg, M. et al.: Relationship between plasma level and therapeutic effect of nortriptyline. In: *British medical journal* 3 (1971) Nr. 5770, S. 331–334.

Danksagung

Wir danken microcoat für die Bereitstellung von Streptavidin-Gold und Lilian Labs für die Möglichkeit, den kontaktlosen Spotter zu nutzen.

Diese Arbeit wurde vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie im Rahmen des Projektes „On-Chip kalibrierender Biosensor für kleine Analyten im Bereich POCT und Umweltanalytik“, IGF-Vorhaben-Nr. 20949 N/2 finanziert.

DOI 10.5162/15dss2021/3.4

Porous architectures of boron-doped diamond for electroanalysis

Simona Baluchová[1,2], Andrew Taylor[2], Silvia Sedláková[2], Vincent Mortet[2], Ladislav Klimša[2], Jaromír Kopeček[2] and Karolina Schwarzová-Pecková[1]

[1]Charles University, Faculty of Science, Department of Analytical Chemistry, UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, Prague, Czech Republic
[2] FZU - Institute of Physics of the Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic
E-mail: simona.baluchova@natur.cuni.cz

Introduction

Boron-doped diamond (BDD) is a well-established electrode material possessing unique properties [1], however, its performance can be significantly boosted by enlarging the effective surface area. For this reason, approaches focusing on fabrication of porous BDD (p-BDD) electrode materials have been emerging and such electrodes have attracted lots of research interest due to their enhanced detection ability [2-6], manifested by increased sensitivity, improved selectivity, and lower detection limits, favouring them in sensors development area. Besides sensing, another promising field in which p-BDD materials can be particularly beneficial, owing to their remarkable biocompatibility, is neuroscience. These materials have proved suitable (i) substrates for neuron cultivation [7], (ii) sensors for detection of electroactive neurotransmitters [2-6], and (iii) devices for stimulation or recording of electric signals [8]. Therefore, development of a p-BDD-based device, enabling cultivation of neurons and recording their neurochemical and electrical signals, can be envisioned.

Despite the emerging interest in p-BDD materials, only a few studies dealing with the impact of selected 3D scaffolds and deposition conditions on their final properties can be traced in the literature, which is why this work aimed to elucidate factors having significant impact on the performance of p-BDD. Also, one type of p-BDD developed within this study has already shown suitability for neuron cultivation [7], hence another goal of this work was to identify the best deposition parameters for fabrication of a p-BDD electrode fitting electrochemical sensing applications, and particularly targeting detection of electroactive neurotransmitters.

Methods and Materials

Within this work, twelve different types of p-BDD electrode materials were successfully developed and prepared using a novel multi-step approach, whereby the bulk of the p-BDD electrode was made up of “thin” porous BDD layers; further details on the preparation can be found in [2, 4]. The fabricated p-BDD electrodes varied in (1) utilised deposition templates, (2) boron doping level [2], (3) growth time of the individual layers (*i.e.*, porosity) [2], (4) number of deposited layers, and (5) content of non-diamond (sp^2) carbon [4]. To confirm the effect of porosity, conventional planar BDD films, grown on conductive silicon (cSi) wafers, were also studied for comparison. A summary of all prepared and tested BDD electrodes is provided in Tab. 1.

Subsequently, all developed p-BDD materials were thoroughly characterised, tested and compared using a range of techniques: (i) scanning electron microscopy (SEM) to observe the surface morphology and quality of deposited layers; (ii) Raman spectroscopy to assess the quality and diamond layer composition (estimation of boron and sp^2 carbon content); (iii) cyclic voltammetry (CV) to evaluate electrochemical behaviour, particularly the width of the potential windows, double-layer capacitance values, effective surface area, electron transfer rate kinetics, proclivity to adsorption and fouling, response stability; (iv) square-wave voltammetry (SWV) to develop reliable method for detection of neurotransmitters and to assess analytical performance of p-BDD electrodes in the terms of sensitivity and selectivity.

Tab. 1: An overview of all prepared and studied BDD electrodes.

Morphology	Template	B/C ratio (ppm)	Number of layers	Growth time (h)
planar	cSi wafer	2000	–	5
planar	cSi wafer	500, 1000, 2000, 4000, 8000	–	5
planar	cSi wafer	4000	–	2.5
porous	CNTs CNTs + SiO_2 NFs SiO_2 NFs	2000	4	4 × 2.5 (10)
porous	SiO_2 NFs	500, 1000, 2000, 4000, 8000	3	3 × 2.5 (7.5)
porous	SiO_2 NFs	4000	2 3 5	2 × 5 (10) 3 × 5 (15) 5 × 5 (25)

Results and Discussion

Above-mentioned alterations in deposition conditions of p-BDD electrodes simultaneously represent the investigated parameters affecting their characteristics; each parameter was thoroughly examined and is discussed separately in the next paragraphs.

Different templates used for deposition

In the first step, three different types of p-BDD materials were prepared using following porous scaffolds: (a) carbon

nanotubes (CNTs; p-BDD-A), (b) a mixture of CNTs with silica (SiO_2) nanofibers (NFs) in a ratio of 1:1 (p-BDD-B), and (c) SiO_2 NFs only (p-BDD-C); all other deposition parameters were kept constant (see Tab. 1). The applicability of the p-BDD materials for sensing of neurotransmitters dopamine and serotonin and their precursors, tyrosine, L-DOPA and tryptophan, was examined in a pH 7.4 phosphate buffer, which partially mimics the physiological conditions.

Scanning electron micrographs of all porous samples showed complete coverage of the structured template with a closed BDD layer. Nevertheless, the apparent porosity of the p-BDD-A was reduced compared to other structured templates, which was, naturally, manifested in obtained electrochemical responses of studied analytes, resembling responses obtained on planar BDD electrode. Contrarily, on porous electrodes of B and C type, the characteristics related to the porous structure, thus to the increased electroactive area available for redox reactions could be easily recognized. Structuring the surface resulted in higher peak currents of all five tested compounds, which can lead to increased sensitivity. Also, oxidation of studied biomolecules occurred at lower potentials, which can positively affect selectivity. All in all, p-BDD-C manifested satisfactory porous character and the convenient signal to background ratio, therefore a 3D template based on SiO_2 nanofibers was selected for further investigation and preparation of all other studied p-BDD electrodes.

Boron-doping level

Further, the influence of boron doping level (B/C ratio in the gas phase: 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 4000 ppm, and 8000 ppm) in fabricated p-BDD electrodes (3 layers; growth time 2.5 h/layer) was studied [2]. The results were compared with the set of conventional planar BDD electrodes deposited using the same B/C ratios.

Concerning morphology, SEM images of porous samples confirmed that a 3D template consisting of SiO_2 nanofibers was completely covered with BDD, except for B/C 8000 ppm, which showed regions of poor BDD coverage. As expected, for planar BDD films, a roughly 80% increase in the double layer capacitance, a 100 mV narrower potential window and a 51 mV negative shift of the peak potential of dopamine were observed when the boron doping level increased from 500 ppm to 8000 ppm. Conversely, higher sp^2 carbon content confirmed by Raman spectra affects the electrochemical performance of porous samples more significantly than the doping level. For the set of porous BDD electrodes, the double layer capacitance decreased by ~95% with increasing boron content, peak-to-peak separation values of the inorganic redox markers were lower than 59 mV, suggesting their partial adsorption in the bulk of the material, and lower potentials for dopamine oxidation approaching values obtained for other sp^2 carbon-based materials were recorded, but no dependency of potential values on boron concentration was revealed. Since maximal signal/background current ratio was obtained for the 4000 ppm B/C porous electrode, this doping level was chosen as optimal.

Growth time of the individual layers

After identifying suitable template (SiO_2 NFs) and boron doping level (B/C 4000 ppm), the growth time of individual porous layers was examined [2]. Two p-BDD electrodes were prepared, both with 3 layers, but grown for different times, either 2.5 h/layer (denoted as “thinner”) or 5 h/layer (denoted as “thicker”).

It is immediately evident from SEM images, shown in Fig. 1(A), that porosity of “thicker” p-BDD sample was decreased, but on the other hand, the mechanical stability was considerably improved. Interestingly, using SWV with optimized parameters, enhanced selectivity for dopamine detection in a 100-fold excess of common interfering compounds such as uric acid, ascorbic acid (see Fig. 1(B)) and paracetamol was achieved [2], suggesting that selectivity of the p-BDD materials can be altered by adjusting their porosity. As a result, prolonged growth time of 5 hours of each layer was preferred for further examinations.

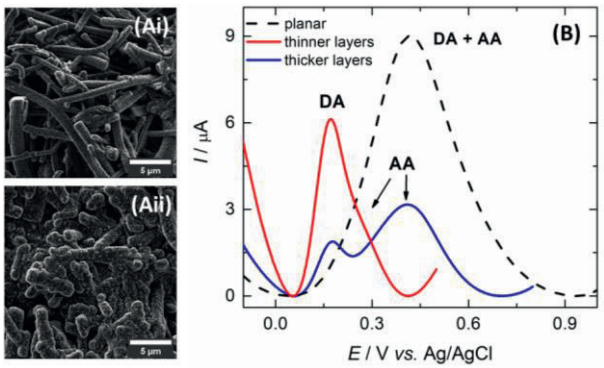


Fig. 1: (A) SEM images of (Ai) “thinner” (2.5 h/layer) and (Aii) “thicker” (5 h/layer) p-BDD electrodes. (B) SW voltammograms of a mixture of 10 µmol L^{-1} dopamine (DA) and 1000 µmol L^{-1} ascorbic acid (AA) in a pH 7.4 phosphate buffer recorded on (— —) planar BDD, (——) “thinner” p-BDD and (——) “thicker” p-BDD electrodes.

Number of deposited porous layers and content of non-diamond (sp^2) carbon

Finally, the last studied factor, whose impact on the characteristics and behaviour of p-BDD materials was clarified, was the number of deposited porous layers (2, 3 and 5) [4].

The boron doping level of ~2×10^{21} atoms cm^{-3} and increased content of non-diamond (sp^2) carbon in electrodes with more layers was evaluated by Raman spectroscopy. Moreover, CV experiments revealed reduced working potential windows (from 2.4 V to 2.2 V), higher double-layer capacitance values (from 405 µF cm^{-2} to 1060 µF cm^{-2}), enhanced rates of electron transfer kinetics and larger effective surface areas (from 5.04 mm^2 to 7.72 mm^2), when the number of porous layers increases.

Then, the behaviour of dopamine on all tested electrodes was studied by CV in a pH 7.4 phosphate buffer. All recorded CVs depict a quasi-reversible redox system corresponding to the reaction of dopamine / dopamine-*o*-quinone redox pair exchanging two electrons and two protons (see the mechanism in Fig. 2(A)). Apart from that, dopamine behaves dramatically different depending on the morphology of the BDD material, as it is immediately obvious from Fig. 2(B): On porous BDD, oxidation potential is less positive, peak-to-peak separation is significantly lower, and dopamine provides enhanced anodic peak currents and well-developed cathodic peaks, in comparison with planar BDD film. The observed electrochemical per-

formance of dopamine on porous electrodes, especially with 3 and 5 layers (3L / 5L-p-BDD), can be associated with more electroactive sites available for redox reactions due to the surface structuring, as confirmed by higher values of effective surface area. However, these electroactive sites may be also related to the increased content of sp^2 carbon, as indicated by Raman spectroscopy, which accelerate electron transfer kinetics and behave as adsorption sites for dopamine, and thus facilitate its redox reaction. Clearly, the dopamine redox reaction is extremely sensitive to the surface chemistry of sp^2 and sp^3 carbon due to the structuring of the BDD surface.

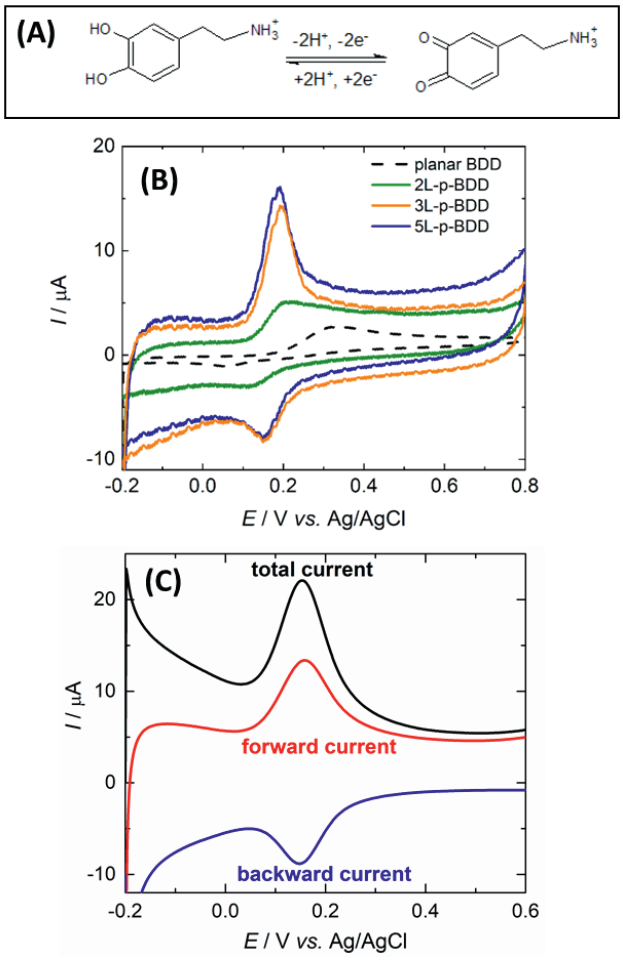


Fig. 2: (A) First reversible step in oxidation mechanism of dopamine. (B) CVs of 1 mmol L^{-1} dopamine in a pH 7.4 phosphate buffer (0.1 mol L^{-1}) recorded on planar and porous BDD electrodes. (D) SW voltammogram of 1 mmol L^{-1} dopamine recorded on the 3L-p-BDD electrode, showing the individual forward and backward components of the total current.

To take advantage of the quasi-reversible behaviour of dopamine on porous electrodes, the SWV technique was selected to develop a reliable method for dopamine determination. Optimization of operational parameters resulted in symmetric recordings of both forward and backward currents, which is also reflected in the obtained total current responses (see Fig. 2(C) for the 3L-p-BDD electrode). Another beneficial feature of SWV is the fast scan inhibiting formation of a passivating layer, therefore satisfactory repeatability was confirmed on all p-BDD electrodes without applying any surface activation procedure between consecutive scans.

Next, concentration dependences of dopamine were recorded up to a concentration level of 30 µmol L^{-1}, covering and even exceeding dopamine levels in neural tissues (typically in µmol L^{-1} units). Importantly, a significant boost in analytical performance was recognized with increasing number of layers using SWV: the highest sensitivity and the lowest detection limit of 0.20 µmol L^{-1} was obtained on a 5L-p-BDD electrode.

Designed p-BDD electrode

For electrochemical sensing applications, particularly targeting neurotransmitter dopamine, a SiO_2 nanofibers-based p-BDD electrode with five deposited porous layers (while each layer grew for 5 hours), boron doping level of 4000 ppm and higher sp^2 content, was identified as the most suitable.

Subsequently, further experiments were performed with the designed p-BDD electrode. Briefly, possibility of dopamine detection in more complex bio-mimicking media was verified [3, 4]. The first studied pseudo-physiological environment was a common tissue culture medium, HEPES buffered saline, where HEPES (see Fig. 3(A) for the structure) is a buffering agent. This compound was confirmed electroactive within the scope of this work [3]. Nevertheless, no negative impact on dopamine signals was noticed. Concentration dependence of dopamine was recorded on the designed 5L-p-BDD electrode in HEPES buffered saline using the developed SWV method and analytical parameters (sensitivity, linear range, LOD) comparable to those reported for a simple phosphate buffer were achieved [3]. Also, HEPES is a main buffering component of an even more complex environment, Neurobasal medium, which is widely utilised in neuron cultivation experiments. Importantly, eight out of its 37 components were identified electroactive, including HEPES. However, no signals, which could be associated with these compounds, were detected in CV or SWV recorded within the investigated potential range from −0.2 V to +0.8 V on the 5L-p-BDD electrode [4]. In the next step, the applicability of the developed 5L-BDD_{porous} electrode and SWV protocol was verified for dopamine determination in the spiked Neurobasal medium using the standard addition method. The found dopamine concentration (10.1 ± 0.2 µmol L^{-1}) corresponded very well to the added one (10.0 µmol L^{-1}). This confirmed that dopamine can be accurately determined on the 5L-p-BDD electrode even in such complex bio-mimicking solution and the proposed SWV method was not severely impacted by any matrix effects [4].

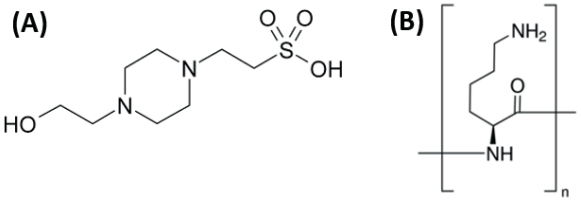


Fig. 3: Chemical structure of (A) HEPES compound and (B) poly-L-lysine.

Moreover, to achieve successful neuron cultivation, besides using Neurobasal-based media, very often a surface treatment is required to promote adhesion and effective

attachment of neural cells to the growth substrate. Such treatment is usually performed by coating material with selected cationic polymer, most widely used is poly-L-lysine (PLL) [7], depicted in Fig. 3(B). Therefore, the modification of designed p-BDD electrode with PLL was performed according to standard procedure used in neuron cultivation experiments (10 µg mL^{-1} PLL dissolved in a pH 8.4 borate buffer (0.15 mol L^{-1}) was applied on the electrode surface and left at room temperature for 1 h) [7] and investigated from electrochemical point of view [4]. The application of PLL coating on porous electrode surface resulted in a decrease in dopamine peak currents by 17 %, whilst the peak potentials remained constant. Further, the PLL layer formed on the p-BDD was not stable enough and removal of PLL was observed through increased dopamine currents even when the surface was simply rinsed with water [4]. These findings should be taken into consideration when preparing electrode-neural interfaces, particularly when intended applications aim to also cover electrochemical sensing of neurotransmitters.

Conclusion

To summarize, changing morphology is a powerful approach of how to significantly enhance the sensing ability of the BDD electrodes. Regarding newly fabricated p-BDD electrode materials, every parameter investigated in this study was manifested to have a significant impact on their morphological features and electrochemical performance. The most convenient deposition conditions were identified and selected to produce a p-BDD electrode targeting sensitive and selective detection of dopamine. However, deeper understanding of factors influencing the final properties can possibly lead to a rational design of new and highly perspective p-BDD electrode materials, whose properties can be tuned for the specific purposes. As a consequence, expansion of *in-vitro* and *in-vivo* applications of p-BDD-based materials in electroanalysis, sensors development and neuroscience can be envisioned.

Literature

[1] BALUCHOVÁ, S. ; DAŇHEL, A. ; DEJMKOVÁ, H. ; OSTATNÁ, V. ; FOJTA, M. ; SCHWARZOVÁ-PECKOVÁ, K.: *Recent progress in the applications of boron doped diamond electrodes in electroanalysis of organic compounds and biomolecules – A review*. In: Anal Chim Acta 1077 (2019), S. 30−66

[2] BALUCHOVÁ, S. ; TAYLOR, A. ; MORTET, V. ; SEDLÁKOVÁ, S. ; KLIMŠA, L. ; KOPEČEK, J. ; HÁK, O. ; SCHWARZOVÁ-PECKOVÁ, K.: *Porous boron doped diamond for dopamine sensing: Effect of boron doping level on morphology and electrochemical performance*. In: Electrochim Acta 327 (2019), 135025

[3] BRYCHT, M. ; BALUCHOVÁ, S. ; TAYLOR, A. ; MORTET, V. ; SEDLÁKOVÁ, S. ; KLIMŠA, L. ; KOPEČEK, J. ; SCHWARZOVÁ-PECKOVÁ, K.: *Comparison of electrochemical performance of various boron-doped diamond electrodes: Dopamine sensing in biomimicking media used for cell cultivation*. In: Bioelectrochemistry 137 (2021), 107646

[4] BALUCHOVÁ, S. ; BRYCHT, M. ; TAYLOR, A. ; MORTET, V. ; KRŮŠEK, J. ; DITTERT, I. ; SEDLÁKOVÁ, S. ; KLIMŠA, L. ; KOPEČEK, J. ; SCHWARZOVÁ-PECKOVÁ, K.: *Enhancing electroanalytical performance of porous boron-doped diamond electrodes by increasing thickness for dopamine detection*. In: Anal Chim Acta 1182 (2021), 338949

[5] LI, Y.R. ; LI, H.J. ; LI, M.J. ; LI, C.P. ; SUN, D.Z. ; YANG, B.H.: *Porous boron-doped diamond electrode for detection of dopamine and pyridoxine in human serum*. In: Electrochim Acta 258 (2017), S. 744−753

[6] MAY, P.W. ; CLEGG, M. ; SILVA, T.A. ; ZANIN, H. ; FATUBELLO-FILHO, O. ; CELORRIO, V. ; FERMIN, D.H. ; WELCH, C.C. ; HAZELL, G. ; FISHER, L. ; NOBBS, A. ; SU, B.: *Diamond-coated 'black silicon' as a promising material for high-surface-area electrochemical electrodes and antibacterial surfaces*. In: J Mat Chem B 4 (2016) S. 5737−5746

[7] KRŮŠEK, J. ; DITTERT, I. ; SMEJKALOVÁ, T. ; KOŘÍNEK, M. ; GOTTFRIEDOVÁ, K. ; FREISLEBENOVÁ, H. ; NEUHOFEROVÁ, E. ; KLIMŠA, L. ; SEDLÁKOVÁ, S. ; TAYLOR, A. ; MORTET, V. ; PETRÁK, V.: *Molecular Functionalization of Planar Nanocrystalline and Porous Nanostructured Diamond to Form an Interface with Newborn and Adult Neurons*. In: Phys Status Solidi B-Basic Solid State Phys 256 (2019), 1800424

[8] MEIJS, S. ; MCDONALD, M. ; SORENSEN, S. ; RECHENDORFF, K. ; FEKETE, L. ; KLIMŠA, L. ; PETRAK, V. ; RIJKHOFF, N. ; TAYLOR, A. ; NESLADEK, M. ; PENNISI, C.P.: *Diamond/porous titanium nitride electrodes with superior electrochemical performance for neural interfacing*. In: Front Bioeng Biotechnol 6 (2018) 171

Acknowledgement

Funding provided by the Specific University Research [SVV 260560], the Grant Agency of Charles University [project 390119] and the Czech Science Foundation [project 20-03187S] is gratefully acknowledged.

DOI 10.5162/15dss2021/3.5

Induzierte pH-Wert-Änderungen innerhalb mikrofluidischer Kanäle mittels licht-adressierbarer Elektroden

Rene Welden[1,2], Michael J. Schöning[1,3], Patrick H. Wagner[2] und Torsten Wagner[1,3]

[1]Institut für Nano- und Biotechnologien (INB), FH Aachen, Jülich, Deutschland
[2]Laboratory for Soft Matter and Biophysics, KU Leuven, Leuven, Belgien
[3]Institut für Biologische Informationsprozesse (IBI-3), Forschungszentrum Jülich GmbH, Jülich, Deutschland
Kontakt: welden@fh-aachen.de

Einleitung

Elektrochemische Elektroden in mikrofluidischen Kanälen können zur Manipulation von biologischen oder chemischen Proben verwendet werden, z.B. zur Anpassung des lokalen pH-Wertes. Ergänzend zu einer integrierten Sensorik zur Messung des pH-Wertes können mittels dieser Elektroden, z.B. durch eine örtlich-induzierte pH-Wert-Änderung, Proteine isoelektrisch fokussiert (IEF) [1] oder die Zell- und Enzymreaktion abhängig vom lokalen pH-Wert untersucht werden [2,3].

Für diese Art von Manipulation werden meist Edelmetallelektroden (Pt, Au) innerhalb eines „Lab-on-a-Chip"-Systems in Mikrokanälen integriert, wobei Elektrolyse [4], feldverstärkte Wasserdissoziation [5] oder Faraday`sche Wechselstromreaktionen [6] zur Anwendung kommen, um eine solche pH-Wert-Änderung zu induzieren. Zur Herstellung werden häufig die Elektrodengeometrie und die Position innerhalb des Kanals zu Beginn des Fertigungsprozesses festgelegt. Diese starre Anordnung kann in Kombination mit biologischen Systemen nachteilig sein, da die Elektrodenposition oft nicht genau mit der Lage der zu untersuchenden Probe, wie beispielsweise adhärenten Zellen, übereinstimmt. Dies hat zur Folge, dass im ungünstigsten Fall für unterschiedliche Versuche zeit- und kostenintensive Neuauslegungen des Systems notwendig sind.

Eine alternative Herangehensweise ist die Verwendung von Halbleitern als Elektrodenmaterial, welche mittels Licht angeregt werden. Seit der Entdeckung der photoelektrokatalytischen Wasserspaltung durch Honda und Fujishima im Jahr 1972 [7] wurde dieser Effekt für eine Vielzahl von Technologien, wie z.B. Farbstoffsolarzellen [8] oder den photokatalytischen Abbau von organischen Schadstoffen [9], verwendet.

Wird nicht die gesamte, sondern nur ein Teil der Elektrodenoberfläche beleuchtet, spricht man von einer licht-adressierbaren Elektrode (LAE). Hierdurch wird die gering-leitfähige Elektrode durch lokal erzeugte Ladungsträger im beleuchteten Bereich örtlich-begrenzt leitfähig. Dies kann u.a. zur strukturierten Materialabscheidung [10], lokalen Stimulation von Zellen [11] oder der bereits beschriebenen pH-Wert-Änderung genutzt werden [12].

Für diese Anwendungen werden häufig Halbleitermaterialien mit einer breiten Bandlücke ($E_{Bandlücke}$ > 2-3 eV) verwendet, wie z.B. Fe_2O_3, WO_3, ZnO oder TiO_2. Als eines der besten in der Literatur beschriebenen Materialien bietet TiO_2 den Vorteil, dass es nicht toxisch und chemisch stabil in wässrigen Lösungen ist und sich zudem vielseitig abscheiden lässt [13].

Als LAE wurde in dieser Arbeit daher eine Heterostruktur bestehend aus Glas/SnO_2:F/TiO_2 verwendet. SnO_2:F (FTO) ist ein transparent-leitfähiges Oxid, welches zur elektrischen Kontaktierung bei gleichzeitig rückseitiger Beleuchtung der TiO_2-Schicht verwendet wird. Der System-Aufbau ist in Abb. 1 schematisch dargestellt.

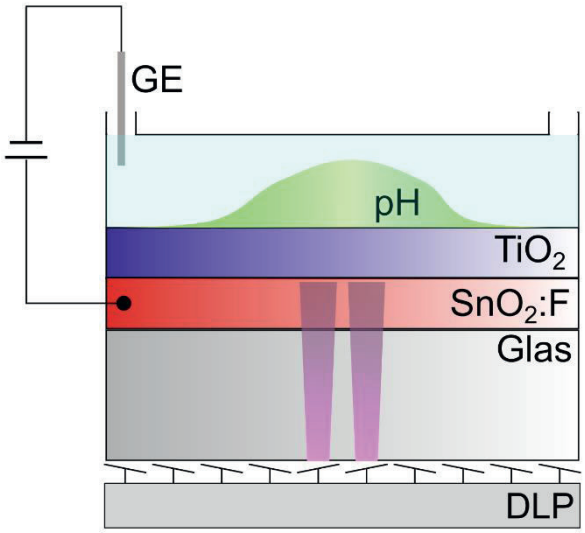


Abb. 1: Schematische Zeichnung der Glas/SnO_2:F/TiO_2-Heterostruktur, wobei TiO_2 das halbleitende Material darstellt und SnO_2:F als transparent-leitfähiges Oxid zur elektrischen Kontaktierung dient. GE bezeichnet die Gegenelektrode in Lösung. Die Rückseite wird mittels eines *digital light processing* (DLP)-Projektor beleuchtet.

Ziel dieser Arbeit ist es, die pH-Wert-Änderung in mikrofluidischen Kanälen für verschieden hergestellte TiO_2-Schichten zu vergleichen. Hierfür wurde die LAE mit einer Mikrofluidik kombiniert. Um den Einfluss der Herstellungsmethode der Titandioxidschich-

ten auf die induzierte pH-Wert-Änderung zu untersuchen, wurden Schichten mittels Sol-Gel-Verfahren und Laserstrahlverdampfen (*pulsed laser deposition*, PLD) hergestellt. Während das Laserstrahlverdampfen als *physical vapour deposition*-Methode eine stöchiometrisch genaue Abscheidung ermöglicht, bietet die Sol-Gel-Technik die Möglichkeit, TiO_2 aus einer einfachen kolloidalen Dispersion herzustellen. Die induzierten pH-Wert-Änderungen wurden über einen pH-sensitiven Fluoreszenzfarbstoff mittels Fluoreszenzmikroskopie detektiert.

Methoden und Materialien

Herstellung der TiO_2-Schicht mittels Sol-Gel-Verfahren:

Zur Herstellung der TiO_2-Schicht wurde ein modifiziertes nicht-wässriges Verfahren verwendet. Titan(IV)isopropoxide (97%, Sigma-Aldrich) wurde in eine Acetylaceton-Isopropanol-Lösung gegeben. Nach 30 Minuten wurden 686 µL Essigsäure hinzugegeben und weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Vor der Herstellung der Dünnschichten wurde zunächst das FTO-Glas (7 Ω/sq, Sigma-Aldirch) mit Aceton, Isopropanol und DI-Wasser im Ultraschallbad gereinigt. Zur Abscheidung der dünnen TiO_2-Schichten wurde die Sol-Gel-Dispersion auf das FTO-Glas pipettiert und mittels Rotationsbeschichtung homogen abgeschieden. Darauf folgend wurde die Struktur zur Kristallausbildung in einem Muffelofen aufgeheizt (550 °C). Diese Beschichtung wurde gegebenenfalls wiederholt, bis die gewünschte Schichtdicke erreicht wurde. Details zu den Prozessparametern finden sich in [14].

Herstellung der TiO_2-Schicht mittels Laserstrahlverdampfung:

Zur Herstellung der TiO_2-Schicht wurde zuerst das FTO-Glas, wie beim Sol-Gel-Verfahren, gereinigt. Für die Abscheidung wurde ein TiO_2-Substrat (MaTeck Material-Technologie & Kristalle GmbH) verwendet. Während der Abscheidung wurde das FTO-Glas auf ca. 400 °C erhitzt. Das TiO_2-Substrat wurde mit einem KrF-Excimerlaser (λ=248 nm) für 700 Sekunden verdampft. Die Herstellungsdetails finden sich in [15].

Fluoreszenzmessungen:

Für die Fluoreszenzmessungen wurde ein Fluoreszenzmikroskop (Axio Image A1m, Carl Zeiss AG) verwendet. Der Objektivtisch wurde durch einen eigenen optischen Aufbau ersetzt. Der zur Beleuchtung der LAE verwendete *digital light processing* (DLP)- Projektor (λ=248 nm, STAR-07, Vialux GmbH) projiziert über einen optischen Spiegel den Lichtstrahl auf die Rückseite der LAE. Als Fluoreszenzfarbstoff wurden 5 µM Fluorescein (Natriumsalz, NaFl, Sigma-Aldrich) verwendet. Für die Kalibrierung wurden die 5 µM NaFl in 0.33 mM phosphatgepufferte Salzlösung (PBS) mittels HCl und NaOH auf pH-Werte zwischen pH 4 und pH 8 eingestellt und die jeweilige Fluoreszenzintensität bestimmt. Als Messkammer wurde ein Mikrofluidikkanal (Länge x Breite x Höhe = 17 mm x 3,8 mm x 4 mm, sticky-Slide VI 0.4, ibidi GmbH) auf der Vorderseite der LAE befestigt. Die Fluidik mit LAE wurde daraufhin im Fokus zwischen DLP-Projektor (Rückseitenfokus) und Mikroskop (Frontfokus) platziert. Eine Platin-Gegenelektrode wurde in den Ablasskanal der Fluidik eingebracht. Zur elektrischen Kontaktierung wurde die LAE und die Platin-Gegenelektrode an eine *source measurement unit* (SMU, 2601B, Keithley Instruments) angeschlossen.

Messprotokoll:

Zu Beginn jeder Messung wurde eine Spannung mittels SMU angelegt. Die angegebene Spannung bezieht sich auf die Gegenelektrode. Vor dem Einschalten der Lichtquelle wurde 20-30 Sekunden gewartet, bis der Leckstrom einen konstanten Wert erreicht und das System somit einen Gleichgewichtszustand erreicht hat. Zunächst wurde vor der eigentlichen Beleuchtung eine Fluoreszenzaufnahme als Referenzbild erstellt. Darauf folgend wurde alle 10 Sekunden eine neue Aufnahme angefertigt. Zwischen den Aufnahmen wurde die LAE durch den DLP-Projektor mit einer definierten Lichtfeld-Geometrie und Intensität von der Rückseite beleuchtet. Während der Aufnahme der Fluoreszenzbilder wurde der DLP-Projektor ausgeschaltet, um die Fluoreszenzintensität detektieren zu können. Zur Bestimmung der Differenz zwischen den einzelnen Bildern wurde von den späteren Aufnahmen jeweils das Referenzbild subtrahiert. Aus dem Mittelwert von 100 Pixeln (1 pixel = 0,46 µm) aus dem Zentrum des beleuchteten Bildbereiches des Differenzbildes wurde das pH-Maximum, basierend auf der vorangegangenen Kalibrierung, bestimmt. Anschließend wurde die transferierte Ladung aus der Integration des gemessenen Photostroms über die Beleuchtungszeit berechnet.

Ergebnisse und Diskussion

Die unterschiedlich hergestellten Elektroden wurden anhand der jeweiligen pH-Wert-Änderungen für verschieden angelegte Spannungen miteinander verglichen. Aus früheren Arbeiten geht hervor, dass die Elektroden, welche mittels Sol-Gel und PLD hergestellt wurden, eine TiO_2-Schichtdicke von 100-150 nm besitzen und eine ähnliche Oberflächenmorphologie aufweisen, sodass beide LAEs in ihrer Oberflächenbeschaffenheit miteinander vergleichbar sind [14,15]. Die pH-Wert-Differenz der Lösung nach der Beleuchtung mittels LAE kann aus der Änderung der Fluoreszenzintensität berechnet werden, wobei eine pH-Wert-Kalibrierung der Intensität vor der Messung durchgeführt wurde. In Abb. 2 ist beispielhaft eine

ortsaufgelöste pH-Wert-Änderung der mittels Sol-Gel-Verfahren hergestellten LAE gezeigt.

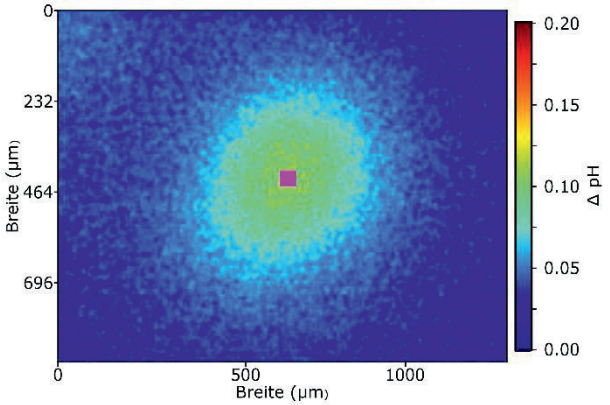


Abb. 2: Beispiel für eine Falschfarbendarstellung der pH-Wert-Änderung nach 30 s Beleuchtung mit 20% Helligkeit, einer Beleuchtungsfläche von 50 x 50 µm^2 und einer angelegten Spannung von 0.3 V. Die pH-Änderungen zeigen einen gaußförmigen Gradienten vom Beleuchtungszentrum mit den höchsten pH-Wert-Änderungen bis zu geringen Änderungen an den Rändern der Abbildung. Das lila Quadrat zeigt den beleuchteten Bereich.

Die LAE wurde hierzu für 30 Sekunden mittels DLP-Projektor im Zentrum der Abbildung beleuchtet (eingezeichneter Bereich). Die Aufnahme zeigt, dass sich dort der pH-Wert von pH 7 zu niedrigeren pH-Werten verschoben hat. Dies kann auf die Photoelektrolyse und die dabei entstehenden H^+-Ionen zurückgeführt werden. Allgemein gilt:

$$2H_2O \rightarrow 4H^+ + O_2 + 4e^- \; (E° = 1{,}229\,V, pH\ 0).$$

Die größten pH-Wert-Änderungen erfolgen in der Mitte des beleuchteten Bereichs, mit einer Differenz von ΔpH = 0.1. Die Gaußverteilung ergibt sich aus der Überlagerung des Profils der Ionendiffusion auf der einen Seite und dem Gaußförmigen Belichtungsprofil des DLP-Projektors auf der anderen Seite [15].

In Abb. 3 sind die pH-Wert-Änderungen in Abhängigkeit der Ladung für verschieden angelegte Spannung gezeigt. Die Messung erfolgte jeweils nach 10, 20 und 30 Sekunden Beleuchtung. Die Ergebnisse der Sol-Gel-Elektrode sind in Abb. 3a) und für die PLD-Elektrode in Abb. 3b) dargestellt. Wird die LAE beleuchtet, fließt ein zusätzlicher Photostrom, der von der angelegten Spannung abhängt. Integriert man diesen Strom über die Beleuchtungszeit auf, ist zu erkennen, dass die Ladung mit der angelegten Spannung zunimmt. Für die Sol-Gel-Elektrode wurde z.B. nach 30 Sekunden bei einer Spannung von 0.3 V eine Ladung von ca. 52 nC transferiert, während bei 0.9 V diese auf 80 nC anstieg. Bei transferierten Ladungen von 16 bis 52 nC kommt es dabei zu einer Änderung des pH-Wertes zwischen ΔpH 0.04 und ΔpH 0.1, wobei für höhere Ladungen bis 80 nC eine Sättigung erreicht wird.

Für die PLD-Elektrode ergibt sich nach 30 Sekunden Beleuchtung eine maximal transferierte Ladung von ca. 100 nC, wobei der pH-Wert um ΔpH 0.27 von pH 7 auf pH 6.73 absinkt. Im direkten Vergleich der beiden Elektroden zeigt sich, dass z.B. für eine transferierte Ladung von 60 nC eine pH-Differenz von 0.08 für die Sol-Gel-Elektrode auftritt, während der Wert für die PLD-Elektrode um ΔpH 0.2 sinkt.

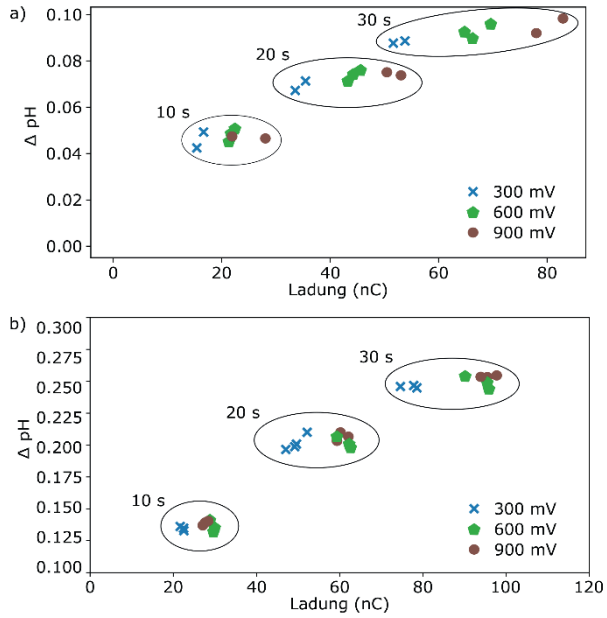


Abb. 3: pH-Wert-Änderung in Abhängigkeit von der Ladung für 20% Beleuchtung, einer beleuchteten Fläche von 50 x 50 m^2 und verschieden angelegten Spannungen für die mittels Sol-Gel- (a) und PLD-Technik (b) hergestellte Elektrode.

Die Ergebnisse dieser Studie demonstrieren, dass beide Herstellungsverfahren eine photoelektrolytische Umsetzung ermöglichen: Die PLD-Elektroden weisen gegenüber den mittels Sol-Gel-Prozess hergestellten Elektroden jedoch eine höhere ortsaufgelöste pH-Wert-Änderung auf. In zukünftigen Arbeiten sollen daher die Oberflächen- und Kristallstrukturen, sowie das photoelektrochemische Impedanzverhalten eingehend studiert werden, um Differenzen in der Reaktionskinetik zu bestimmen.

Literatur

[1] BJELLQVIST, B.; EK, K.; GIRGIO RIGHETTI, P.; GIANAZZA, E.; WESTERMEIER, R.; POSTEL, W.: Isoelectric focusing in immobilized pH gradients: Principle, methodology and some applications. In: *J BIOCHEM BIOPHYS METHODS* 6 (1982), Nr. 4, S. 317–339

[2] MUNTEANU, R.-E.; STANICA, L.; GHEORGHIU, M.; GASPAR, S.: Water electrolysis carried out on cicroelectrodes to obtain new insights into the regulation of

cytosolic pH. In: *ChemElectroChem* 6 (2019), Nr. 6, S. 1800–1807

[3] WELDEN, R.; JABLONSKI, M.; WEGE, C.; KEUSGEN, M.; WAGNER, P.-H.; WAGNER, T.; SCHÖNING, M.-J.: Light-addressable actuator-sensor platform for monitoring and manipulation of pH gradients in microfluidics: A case study with the enzyme penicillinase. In: *Biosensors* 11 (2021), Nr. 6, S. 171

[4] MACOUNOVA, K.; CABRERA, C.-R.; HOLL M.-R.; YAGER, P.: Generation of natural pH gradients in microfluidic channels for use in isoelectric focusing. In: *Anal. Chem.* 72 (2000), Nr. 16, S. 3745–3751

[5] CHENG, L.-J.; CHANG, H.-C.: Switchable pH actuators and 3D integrated salt bridges as new strategies for reconfigurable microfluidic free-flow electrophoretic separation. In: *Lab on a chip* 14 (2014), Nr. 5, S. 979–987

[6] AN, R.; MASSA, K.; WIPF, D. O.; MINERICK, A. R.: Solution pH change in non-uniform alternating current electric fields at frequencies above the electrode charging frequency. In: *Biomicrofluidics* 8 (2014), Nr. 6, S. 064126

[7] FUJISHIMA. A; HONDA, K.: Electrochemical photolysis of water at a semiconductor electrode. In: *Nature* 238 (1972), Nr. 5358, S. 37–38

[8] SUGATHAN, V.; ELSA, J.; SUDHAKAR, K.: Recent improvements in dye sensitized solar cells: A review. In: *Renew. Sust. Energ. Rev.* 52 (2015), S. 54–64

[9] SUQING, W.; HU, Y.-H.: A comprehensive review on catalysts for electrocatalytic and photoelectrocatalytic degradaton of antibiotics. In: *Chem. Eng. J.* 409 (2021), S. 127739

[10] VOGEL, Y. B.; GONCALES, V. R.; AL-OBAIDI, L.; GOODING, J.; DARWISH, N.; CIAMPI, S.: Nanocrystal inks: Photoelectrochemical printing of Cu_2O nanocrystals on silicon with 2D control on polyhedral shapes. In: *Adv. Funct. Mater.* 28 (2021), Nr. 51, S. 1804791

[11] SUZURIKAWA, J.; NAKAO, M.; JIMBO, N.; KANZAKI, R.; TAKAHASHI, H.: A light addressable electrode with TiO_2 nanocrystalline film for localized electrical stimulation of cultured neurons. In: *Sens. Actuators B Chem.* 192 (2014), S. 393–398

[12] SUZURIKAWA, J.; NAKAO, M.; KANZAKI, R.; TAKAHASHI, H.: Microscale pH gradient generation by electrolysis on a light-addressable planar electrode. In: *Sens. Actuators B Chem.* 149 (2014), Nr.1, S. 205–211

[13] JOY, J.; MATHEW, J; GEORGE, S. C.: Nanomaterials for photoelectrochemical water splitting – review. In: *Int. J. Hydrog* 43 (2018), Nr. 10, S. 4804–4817

[14] WELDEN, R.; SCHEJA, S.; SCHÖNING, M. J.; WAGNER, P.; WAGNER, T.: Electrochemical evaluation of light-addressable electrodes baser on TiO_2 for the integration in lab-on-chip systems. In: *PHYS STATUS SOLIDI A* 215 (2018), Nr. 15, S. 1800150

[15] WELDEN, R.; GOTTSCHALK, C.; MADAREVIC, I.; VAN BAEL, M. J.; IKEN, H.; SCHUBERT J.; SCHÖNING, M. J.; WAGNER, P. H.; WAGNER, T.: Formation of controllable pH gradients inside microchannels by using light-addressable electrodes. In: *Sens. Actuators B Chem.* 346 (2021), S. 130422

Danksagung

Die Arbeit wurde vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) im Rahmen von „NanoMatFutur“ (13N12585) unterstützt.

DOI 10.5162/15dss2021/3.6

Detektion von Antikörpern gegen SARS-CoV-2 und ihrem Neutralisationspotential mittels Microarray-Immunoassays

Julia Klüpfel[1], Martin Ungerer[2], Ulrike Protzer[3,4], Oliver Hayden[5], Martin Elsner[1] und Michael Seidel[1]

[1]Institut für Wasserchemie, Lehrstuhl für Analytische Chemie, Technische Universität München, München, Deutschland
[2]ISAR Bioscience GmbH, Planegg, Deutschland
[3]Institut für Virologie, Technische Universität München/ Helmholtz Zentrum München, München, Deutschland
[4]Deutsches Zentrum für Infektionsforschung, München, Deutschland
[5]Heinz-Nixdorf-Lehrstuhl für Biomedizinische Elektronik, Technische Universität München, München, Deutschland
Kontakt: julia.kluepfel@tum.de

Einleitung

Die SARS-CoV-2-Pandemie hält die Welt seit mittlerweile fast zwei Jahren in Atem. Inzwischen sind etwa 250 Mio. Infektionen zu verzeichnen, mit über 5 Mio. Todesopfern,[1] aber erfreulicherweise sind seit etwa einem Jahr Impfstoffe zugelassen, die den Weg zurück in eine Normalität ebnen sollten.[2] Mittlerweile zeigt sich jedoch, dass Impfdurchbrüche möglich sind und die Impfung und insbesondere die dabei gebildeten Antikörper nicht notwendigerweise einen Schutz vor einer Infektion bieten. Hierbei sind die genauen Zusammenhänge jedoch noch nicht völlig klar.[3,4] Dementsprechend sind Antikörpertests von entscheidender Bedeutung. Wünschenswert sind Tests, die Aufschluss über den Verlauf der Immunantwort geben können und es ermöglichen, symptomlos verlaufende Impfdurchbrüche nachträglich zu detektieren, um eine breite Datenbasis aufzubauen und ein Monitoring in der Bevölkerung zu ermöglichen. Derzeit gibt es zahlreiche Antikörpertests auf dem Markt, die im Wesentlichen zwischen ihrem Anwendungsbereich unterscheiden werden können in Labortests wie beispielsweise ELISAs,[5] die hochsensitiv und spezifisch sind, aber spezialisiertes Personal und Equipment benötigen und oftmals lange Wartezeiten bis zum Analyseergebnis beinhalten, und „Schnelltests“, meist sogenannte Lateral Flow Assays,[6] die vor Ort mit geringem apparativem Aufwand durchgeführt werden können und üblicherweise innerhalb von 15 min ein Ergebnis liefern, jedoch limitierte Spezifität und Sensitivität aufweisen. Was den meisten der erhältlichen Assays jedoch fehlt, ist die Möglichkeit der parallelen Detektion von Antikörpern gegen verschiedene SARS-CoV-2-Antigene, beispielsweise Oberflächenproteine, wie das Spike-Protein (S-Protein) und sonstige Strukturproteine, wie das Nucleokapsidprotein (N-Protein) parallel. Nach einer Impfung werden nur Antikörper gegen das S-Protein gebildet, während nach einer Infektion auch Antikörper gegen das N-Protein vorhanden sind. Verwendet man Antikörpertests, welche lediglich eines dieser Antigene berücksichtigen, erhält man kein vollständiges Bild der Immunantwort, ggf. ergeben sich sogar falsch negative Resultate.

Microarray-basierte Antikörpertests, wie der hier vorgestellte, enthalten zahlreiche verschiedene rekombinante Antigene, ggf. auch von Virusmutationen, was es möglich macht, den Immunstatus genauer zu erfassen.

Das Assayprinzip unseres schnellen, flussbasierten Chemilumineszenz-Microarray-Immunoassay ist in Abb. 1 dargestellt. Die Machbarkeit haben wir 2021 bereits vorgestellt,[7] mittlerweile konnten wir die Anwendbarkeit dieses Testprinzips für diverse relevante Fragestellungen in der SARS-CoV-2-Pandemie zeigen:[8] unser Test kann parallel Antikörper gegen drei verschiedene SARS-CoV-2 Antigene detektieren, wodurch die Unterscheidung von geimpften und rekonvaleszenten Personen möglich wird.

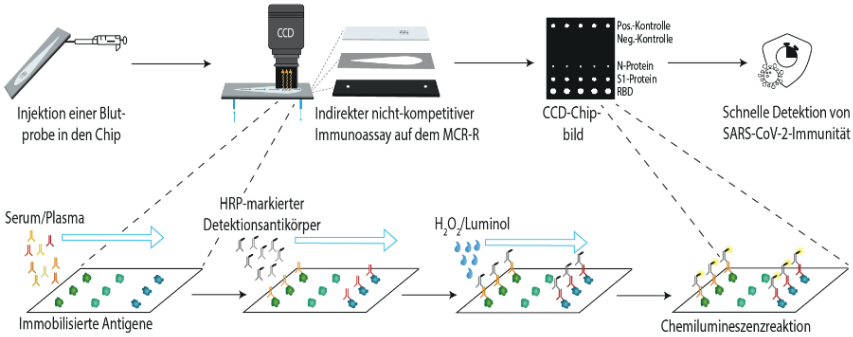


Abb. 1: Assayprinzip des Chemilumineszenz-Microarray-Immunoassay

Mit flussbasierten Chemilumineszenz-Microarray-Immunoassays können sehr schnelle Multiplex-Antikörpertests durchgeführt werden. Das Assayprinzip ist in Abb. 1 dargestellt. Die Machbarkeit haben wir 2021 bereits vorgestellt,[7] mittlerweile konnten wir die Anwendbarkeit dieses Testprinzips für diverse relevante Fragestellungen in der SARS-CoV-2-Pandemie zeigen:[8] unser Test kann parallel Antikörper gegen drei verschiedene SARS-CoV-2 Antigene detektieren, wodurch die Unterscheidung von geimpften und rekonvaleszenten Personen möglich wird.

Durch die potentiell quantitative Auswertbarkeit der Messergebnisse ist weiterhin ein Monitoring des Antikörpertiters nach einer Impfung möglich, um einerseits einem zu starken Absinken des Titers durch Auffrischungsimpfungen entgegenzuwirken und andererseits Impfdurchbruchinfektionen durch Veränderungen im Antikörperpattern erkennen zu können. Ergebnisse sind hierbei nach unter 4 min verfügbar und somit schneller als bei typischen Schnelltests. Der Testablauf ist auf einer Microarray-Analyseplattform vollautomatisiert. Die Probe muss nur in den Microarray-Chip injiziert werden. Messungen können aus wenigen Mikrolitern einer Blutprobe vorgenommen werden, neben Serum und Plasma ist auch die Verwendung von Vollblut ohne Einbußen im Signal-Rausch-Verhältnis möglich, sodass Messungen aus Kapillarblut aus der Fingerbeere durchgeführt werden können.

Darüber hinaus kann das Testprinzip mit gewissen Modifikationen auch angewandt werden, um neutralisierende Antikörper nachzuweisen, die die Bindung von SARS-CoV-2 an den menschlichen ACE2-Rezeptor verhindern und somit Infektionen verhindern können. Auch diese Anwendung wird im Folgenden vorgestellt.

Methoden und Materialien

Chemikalien, Materialien und Antigene: Chemikalien und Materialien wurden von Sigma Aldrich und Carl Roth bezogen, Chemilumineszenzreagenzien wurden bei Cyanagen zugekauft. Puffer wurden gemäß Literaturangaben hergestellt.[7] Rekombinantes SARS-CoV-2 S1-Antigen wurde von Sino Biological bezogen, alle weiteren SARS-CoV-2-Antigene wurden von ISAR Bioscience hergestellt.

Blutproben: Blutproben wurden bei Sigma Aldrich gekauft oder vom Institut für Virologie der TUM oder von ISAR Bioscience erhalten. Alle Proben wurden gemäß der Deklaration von Helsinki von 1975 (überarbeitet 2000) gewonnen.

Chipoberflächenchemie: Die Herstellung der Polycarbonatmicroarraychips wurde durchgeführt, wie in der Literatur beschrieben.[9] Polycarbonatplatten wurden mit einem Polyetheramin mit terminaler Carboxy-Gruppe (modifiziertes Jeffamine) über Siebdruck beschichtet, für 2 h bei 90 °C inkubiert und anschließend mit Wasser im Ultraschallbad gereinigt und getrocknet.

Microarraychipherstellung: Kovalente Immobilisierung der Antigene wurde durch EDC/s-NHS-Kopplungschemie erreicht. Es wurde eine 1:1-Mischung (v/v) aus Antigen in der gewünschten Konzentration und Spottingpuffer mit je 1 mg/mL EDC und s-NHS hergestellt und zum Spotten der Chips in einem Kontaktprinter genutzt. Als Positivkontrollen wurden anti-Human-IgG- und anti-Peroxidase-Antikörper eingesetzt. Von jeder Spottinglösung wurden fünf Replikate in einer Reihe gespottet, das Spotting fand hierbei bei 20 °C und 55 % Luftfeuchtigkeit statt. Direkt im Anschluss wurden die Chips mittels doppelseitiger Klebefolie mit Flusszellenausschnitt und einer PMMA-Unterschale mit Ein- und Auslasslöchern zusammengebaut. Anschließend wurden die Chips bei 4 °C bis zur Messung gelagert.

Microarray-Messungen: Die Messungen wurden auf der Microarray-Analyseplattform MCR-R (dargestellt in Abb. 2) durchgeführt. Diese verfügt über ein mikrofluidisches System, um Reagenzien aus Vorratsbehältern mit definierter Flussgeschwindigkeit über den Microarraychip zu transportieren sowie eine CCD-Kamera zur Bildaufnahme. Zu Beginn einer Messung wird die zu messende Probe manuell in den Chip injiziert, anschließend der Chip in das Gerät eingelegt und anschließend automatisch nach einem Spülschritt Detektionsantikörper langsam über den Chip transportiert, gefolgt von einem weiteren Spülschritt und anschließend den Chemilumineszenzreagenzien (Wasserstoffperoxid und Luminol). In der Folge wird ein Messbild mit 60 s Belichtungszeit aufgenommen und der Chip abschließend gespült.



Abb. 2: Analyseplattform MCR-R

Für Messungen neutralisierender Antikörper wurde eine Mischung aus Blutprobe und biotinylierter SARS-CoV-2-Rezeptorbindedomäne (RBD) in den Chip injiziert, der weitere Messverlauf erfolgt analog (mit Streptavidin-HRP als Detektionsreagenz).

Datenauswertung: Zur Auswertung wurde die Software „MCR Spot Reader“ sowie Python genutzt. Spots wurden mittels eines Gitters markiert und die hellsten zehn Pixel innerhalb eines Spots zur Mittelwertberechnung für weitere Auswertungen genutzt.

Ergebnisse & Diskussion

Wir hatten bereits im Frühjahr diesen Jahres einen ersten prototypischen Chemilumineszenz-Microarray-Immunoassay präsentiert,[7] der eine Möglichkeit zur SARS-CoV-2-Antikörperbestimmung bot. Dieser hatte allerdings noch deutlichen Optimierungsbedarf hinsichtlich Produktionszeit und Kosten. Eine derartige Optimierung wurde in den letzten Monaten erreicht, die im Folgenden gezeigten Ergebnisse wurden zur Publikation eingereicht.

Optimierung der Chipherstellung

Im Zuge der Optimierung wurde von den zuvor genutzten Glas-Microarraychips auf Polycarbonatchips umgestellt. Der Herstellungsprozess dieser Chips ist in Abb. 3 gezeigt, hierbei wird die Chipform in eine Polycarbonatplatte mit 1 mm Dicke eingeritzt, die Oberfläche anschließend mittels Siebdruck eines carboxyfunktionalisierten Polyetheramins und anschließender Inkubation bei 100 °C chemisch modifiziert. Anschließend erfolgt die Immobilisierung der Proteine mittels Kontaktdruck.

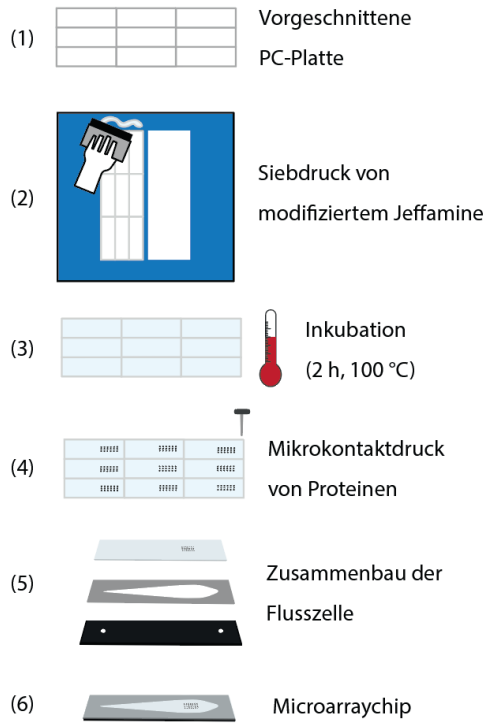


Abb. 3: PC-Chipherstellung[8]

Für die Herstellung der zuvor genutzten Glaschips waren weitaus mehr manuelle Schritte nötig, die oftmals zusätzlich lange Inkubationszeiten erforderten, sodass durch die Umstellung die Produktionsdauer für eine Chipcharge bestehend aus 18 Microarraychips von 66 h auf 6,6 h reduziert werden konnte. Neben der Herstellungsdauer wurden hierbei auch die Kosten deutlich reduziert: während für einen Glaschip mit Kosten von etwa 30 € gerechnet werden musste, sind die Polycarbonatmicroarraychips bereits für ca. 2 € herstellbar.

Die Probeninjektion ist in der Serodiagnostik immer von großer Bedeutung. Das Injektionsvolumen sollte möglichst gering sein und es soll keine Verschleppung im Gerät entstehen. Aus diesem Grund wurde die Art der Probeninjektion umgestellt: statt mittels einer Spritzenpumpe wird die Probe im optimierten Assay mittels einer handelsüblichen Kolbenhubpipette direkt in den Chip hineininjiziert, wie es in Abb. 4 gezeigt ist. Die Flusszellengeometrie wurde zuvor volumenoptimiert, um das Injektionsvolumen so gering wie möglich zu halten. Somit verkürzt sich die Assaydauer um über 50% (von 8 min auf 3 min 45 s), außerdem kann das Probenvolumen von 100 µL Serum/Plasma in 1:10-Verdünnung auf 8 µL Serum/Plasma in 1:5-Verdünnung reduziert werden. Das Gesamtprobenvolumen nach Verdünnung konnte somit von 1 mL auf 40 µL verringert werden.



Abb. 4: Probeninjektion in den Microarraychip

Dieser optimierte Assay ist damit vorteilhaft gegenüber kommerziellen Antikörpertests, da er deutlich schneller Ergebnisse liefert. Seine diagnostische Performance wurde im Vergleich zu kommerziellen Testsystemen für Diagnostiklabore sowie zum ersten Prototypen unseres Tests überprüft, wobei sich durch ROC-Kurvenanalyse 100% diagnostische Sensitivität und Spezifität feststellen ließen. Damit konnten die sehr guten Ergebnisse des prototypischen Tests auch für den optimierten Assay auf Polycarbonatchips bestätigt werden, während relevante Kernparameter wie Herstellungszeit, -kosten sowie Messzeit deutlich verbessert wurden. Im Folgenden werden nun einige

mögliche Anwendungsgebiete für den neuartigen Assay vorgestellt.

Messung von Vollblut-Proben

Üblicherweise werden für Antikörpertests Plasma oder Serumproben genutzt, die den Vorteil von geringerer unspezifischer Bindung an Oberflächen bieten, sodass sie eine deutlich weniger anspruchsvolle Matrix darstellen als Vollblut, das zusätzlich zu den Plasma-löslichen Komponenten des Blutes auch die Zellbestandteile enthält. Die Nutzung von Vollblut wäre jedoch wünschenswert, da so Probenvorbereitungsschritte und invasive Maßnahmen am Patienten vermieden werden könnten. Deshalb haben wir die Anwendung unseres Tests mit antikoagulierten Vollblutproben getestet. Hierbei wurde ein direkter Vergleich von Vollblut und Plasmaproben von 21 Spendern vorgenommen, wobei 16 µL Vollblut bzw. 8 µL Plasma vermessen wurden. Der Volumenunterschied ist im Hämatokriteffekt begründet, durch das Vorhandensein von ca. 50 Volumenprozent zellulärem Material im Vollblut ist die Antikörperkonzentration entsprechend verringert, was die Nutzung größerer Probenvolumina notwendig macht. Dennoch sind 16 µL Vollblut als Kapillarblut in der Fingerbeere ohne invasivere venöse Blutabnahme entnehmbar.

Die Ergebnisse der Vergleichsmessungen sind in Abb. 5 dargestellt. Es zeigt sich eine gute Korrelation, insbesondere für niedrige Antikörpermengen. Somit wurden alle Proben für beide Probenarten gleich eingestuft, sodass davon auszugehen ist, dass der Test mit Vollblut eine ebenso gute diagnostische Sensitivität und Spezifität hat wie mit Serum oder Plasma.

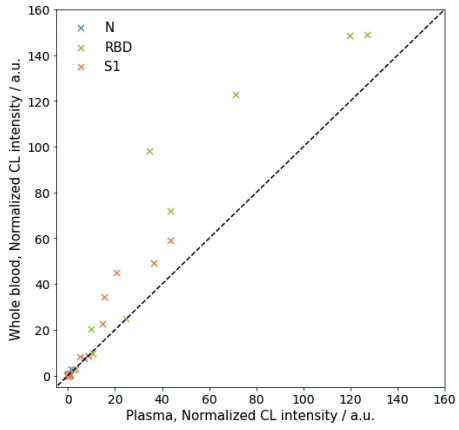


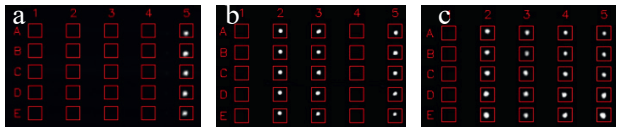
Abb. 5: Vergleich von Plasma- und Vollblutmessungen für ein Set von 21 Proben (CL-Intensitäten sind hintergrundkorrigiert und auf die jeweiligen Schwellenwerte für jedes SARS-CoV-2-Protein normiert)[8]

Für sehr hohe Antikörpermengen zeigen sich für einige Proben deutlich höhere Messwerte aus Vollblut im Vergleich zu Plasma, dies könnte einerseits an Antikörperverlusten während der Probenvorbereitung der Plasmaproben liegen, oder andererseits daran, dass der Anteil zellulärer Bestandteile von Person zu Person variiert, sodass unter Umständen mit der gewählten Verdünnung dem tatsächlichen Zellanteil nicht angemessen Rechnung getragen wurde. Da derartige Abweichungen allerdings erst bei sehr hohen Titern erkennbar sind, ist davon auszugehen, dass der Test für die Anwendung mit Vollblut geeignet ist und somit die minimalinvasive Gewinnung von Blutproben aus der Fingerbeere möglich ist.

Unterscheidung von geimpften und rekonvaleszenten Individuen

Im Unterschied zu vielen der kommerziell erhältlichen SARS-CoV-2-Antikörpertests erlaubt der hier vorgestellte Test die Unterscheidung von ausschließlich geimpften Personen und Personen, die bereits eine Infektion durchlaufen haben. Möglich ist dies durch das Microarrayformat, das es erlaubt, verschiedene SARS-CoV-2-Antigene, konkret RBD, S-Protein und N-Protein, auf dem Chip zu immobilisieren. Abb. 6 zeigt die Unterschiede im Signalmuster für Geimpfte, Genesene und negative Proben.

Abb. 6: Chipbilder von Messungen a) einer negativen Probe, b) einer Probe nach Impfung, c) einer Probe nach Infektion (Spalte 1: Negativkontrolle, Spalte 2: RBD, Spalte 3: S1-Protein, Spalte 4: N-Protein, Spalte 5: Positivkontrolle, die Zeilen A bis E repräsentieren Replikate des jeweils gleichen Spots)[8]



Somit ist es möglich, Impfdurchbruchsinfektionen zu erkennen, sofern vor der Impfung eine Vergleichsprobe ein negatives Ergebnis lieferte. Dies eröffnet neue Anwendungsmöglichkeiten im Vergleich zu den üblichsten kommerziellen Tests, die entweder nur das S-Protein berücksichtigen und somit Geimpfte und Genesene nicht unterscheiden können oder aber nur Antikörper gegen das N-Protein bestimmen und somit Geimpfte nicht erkennen können.

Serologisches Monitoring

Ein weiterer großer Vorteil des hier vorgestellten Tests ist die Möglichkeit der quantitativen Analyse. Die erhaltenen Chemilumineszenzintensitäten können für Monitoringanwendungen genutzt werden, die gerade aktuell von großer Bedeutung sind.

Derzeit ist noch nicht völlig klar, wie lange die Antikörperantwort nach einer Impfung anhält und ab wann eine Auffrischungsimpfung notwendig ist, weiterhin ist vor dem Hintergrund der Impfdurchbruchsinfektionen unklar, ob höhere Antikörpertiter tatsächlich mit einem besseren Schutz vor Infektionen korrelieren oder ob andere Faktoren hierbei relevanter sind. Dementsprechend ist ein Monitoring mit dem hier vorgestellten Test sinnvoll und hilfreich zum Erkenntnisgewinn für diese offenen Fragen. Mit regelmäßigen Messungen ab der Impfung kann nicht nur festgestellt werden, wie sich der Titer der durch die Impfung gebildeten Antikörper verhält, sondern auch, ob und wann eine Impfdurchbruchsinfektion aufgetreten ist, die oftmals andernfalls asymptomatisch und unbemerkt verläuft. Somit ermöglicht ein breit angelegtes Monitoring in der Bevölkerung zukünftig Aussagen über den Nutzen von Antikörpern und Indikationen im Antikörpertiter für das Aufkommen von Impfdurchbrüchen.

Um die Monitoringanwendung zu testen, wurden von der gleichen Person 12 Blutproben abgenommen, die erste 268 Tage vor Erstimpfung mit dem Pfizer/Biontech-Impfstoff, die letzte 117 Tage nach der Erstimpfung (96 Tage nach der Zweitimpfung). Die resultierenden Chemilumineszenzintensitäten für RBD und N-Protein sind in Abb. 7 gezeigt.

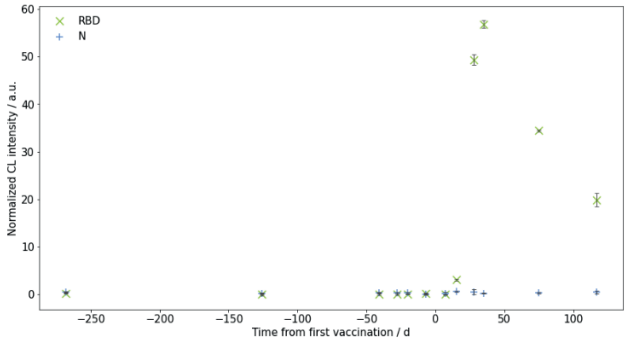


Abb. 7: Antikörpermonitoring vor und nach Impfung mit der Pfizer/Biontech-mRNA-Impfung (Impfungen an Tag 0 und 21, Fehlerbalken zeigen die Standardabweichungen von Triplikatmessungen)[8]

Hierbei ist klar ersichtlich, dass über den gesamten Zeitraum keine Infektion auftrat, da das N-Signal konstant unterhalb des Schwellenwertes liegt (Werte zwischen 0,06 und 0,54, wobei eine Probe ab einem Wert über 1,0 positiv gewertet wird). Bezüglich des RBD-Signals lässt sich erkennen, dass das Signal ab 15 Tage nach der Zweitimpfung oberhalb des Schwellenwertes liegt (Wert 3,10, nachdem alle vorherigen Zeitpunkte Werte von 0,03 bis 0,18 geliefert hatten. Maximales Signal wurde 15 Tage nach der Zweitimpfung erreicht (35 Tage nach der Erstimpfung), hier betrug das Signal 56,82, ein Wert, der über die folgenden Wochen bis auf 19,88 115 Tage nach der Erstimpfung abfiel. Diese Ergebnisse sind in guter Übereinstimmung mit denjenigen, die in der klinischen Studie des Pfizer/Biontech-Impfstoffes erzielt wurden.[10]

Bestimmung der ACE2-RBD-Interaktion und Messung neutralisierender Antikörper

Jüngste Forschungsergebnisse legen nahe, dass anstelle des Gesamtantikörpertiters die explizite Bestimmung der neutralisierenden Antikörper empfehlenswert ist. Diese können an die SARS-CoV-2-RBD binden und somit die Interaktion des Virus mit dem ACE2-Rezeptor auf menschlichen Zellen verhindern, wodurch die Zellen nicht infiziert werden und somit ein wirksamer Schutz vor Infektion besteht.

Der Goldstandard zur Bestimmung neutralisierender Antikörper sind derzeit noch Virusneutralisationstests, diese bergen aber Nachteile wie beispielweise die lange Dauer von mehreren Tagen und die Nutzung von aktivem SARS-CoV-2-Virus, wodurch S3-Laboratorien nötig sind. Wir arbeiten deshalb an der Entwicklung eines Surrogat-Neutralisationsassays, der lediglich Virusproteine anstelle des gesamten Virus nutzt. Hierfür wird das menschliche ACE2-Protein auf einem Chip immobilisiert und anschließend seine Interaktion mit SARS-CoV-2-RBD und die Inhibition derselben durch Blutproben mit neutralisierenden Antikörpern gemessen. Das Prinzip ist in Abb. 8 gezeigt.

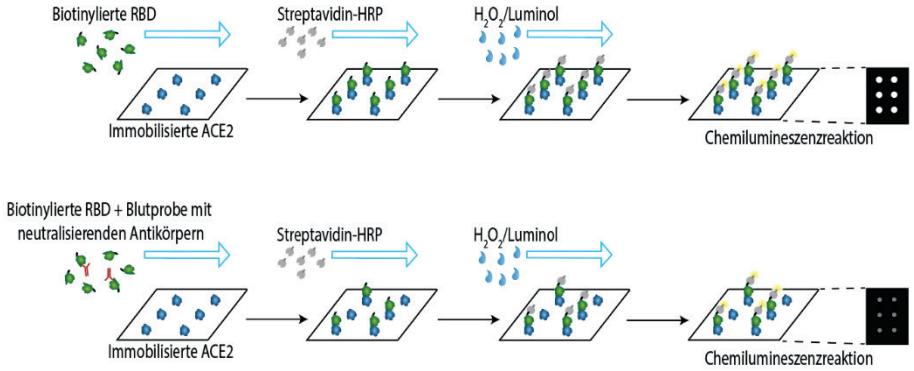


Abb. 8: Assayprinzip des Neutralisationsassays

Dieser Assay ist aktuell noch unter Entwicklung, wir konnten aber bereits zeigen, dass die Signalintensität proportional zum Anteil an freier RBD ist, sodass eine quantitative Interpretation der Inhibitionsergebnisse möglich ist. Bei direkter Messung der ACE2-RBD-Interaktion konnten wir einen EC50 von 5 µg/mL RBD bestimmen, sodass die prinzipielle Anwendbarkeit des Microarray-Immunoassay auf dem MCR-R für die Entwicklung eines Neutralisationsassays gezeigt ist.

Weiterhin konnte bereits gezeigt werden, dass Proben mit neutralisierenden Antikörpern gegen SARS-CoV-2 die ACE2-RBD-Bindung inhibieren, wodurch sich sehr niedriges Chemilumineszenzsignal ergibt, während negative Proben das Signal nicht beeinflussen, wie Abb. 9 zeigt.

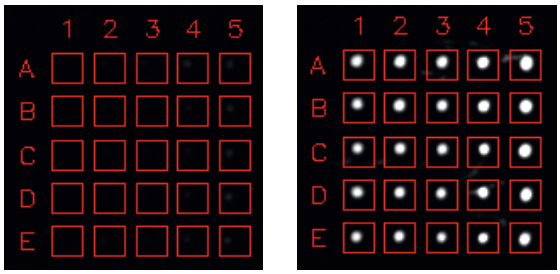


Abb. 9: Vergleich der Messungen einer Probe mit neutralisierenden Antikörpern (links) und ohne neutralisierende Antikörper (rechts)

Zusammenfassend kann also gesagt werden, dass bereits der Gesamt-Antikörperassay vielfältige wichtige Anwendungen für die Bewältigung der COVID-19-Pandemie ermöglicht. Insbesondere die Erweiterung durch den Neutralisationsassay bietet bisher ungeahnte Möglichkeiten, um die Effizienz von Impfungen und den serologischen Status der Bevölkerung überprüfen zu können, ohne teure, zeitaufwändige Messverfahren nutzen zu müssen.

Literatur

[1] World Health Organization: WHO Coronavirus disease (COVID-19) dashboard. https://covid19.who.int/ (zuletzt besucht am 08.11.2021)

[2] Ritchie H. ; Mathieu, E. ; Rodés-Guirao, L. ; Appel, C. ; Giattino, C. ; Ortiz-Ospina, E. et al.: Coronavirus Pandemic (COVID-19). In: Our World in Data (2021)

[3] Føns, S. ; Krogfelt, KA.: How can we interpret SARS-CoV-2 antibody test results?. In: Pathogens and Disease 79 (2021) Nr. 1

[4] Abbasi, J.: The Flawed Science of Antibody Testing for SARS-CoV-2 Immunity. In: JAMA (2021)

[5] Liu, W. ; Liu, L. ; Kou G. et al.: Evaluation of Nucleocapsid and Spike Protein-based ELISAs for detecting antibodies against SARS-CoV-2. In: Journal of clinical microbiology (2020)

[6] Trombetta, B. ; Kandigian, S. ; Kitchen, R. et al.: Evaluation of serological lateral flow assays for severe acute respiratory syndrome coronavirus-2. In: BMC Infect Dis. 21 (2021), Nr. 1, S. 580

[7] Klüpfel, J ; Koros, R. ; Dehne, K, et al.: Automated, flow-based chemiluminescence microarray immunoassay for the rapid multiplex detection of IgG antibodies to SARS-CoV-2 in human serum and plasma (CoVRapid CL-MIA). In: Analytical and bioanalytical chemistry 413 (2021), S. 5619-5632

[8] Klüpfel, J. et al.: Fully automated chemiluminescence microarray analysis platform for rapid and multiplexed SARS-CoV-2 serodiagnostics. Zur Publikation eingereicht. (2021)

[9] Bemetz, J ; Kober, C. ; Meyer, V. ; Niessner, R. ; Seidel, M.: Succinylated Jeffamine ED-2003 coated polycarbonate chips for low-cost analytical microarrays. In: Analytical and bioanalytical chemistry 411 (2019), Nr. 10, S. 1943–1955

[10] Mulligan, M. ; Lyke, K. ; Kitchin, N. et al.: Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. In: Nature 586 (2020), Nr. 7830, S. 589–593

Anmerkung

Teile des Inhalts dieser Langfassung wurden bereits zur Publikation in einem internationalen wissenschaftlichen Journal eingereicht.

DOI 10.5162/15dss2021/4.1

Tragbare und selektive Gassensoren

Andreas T. Güntner[1]

[1]*Klinik für Endokrinologie, Diabetologie und Klinische Ernährung, UniversitätsSpital Zürich und Universität Zürich, Zürich, Schweiz*
Kontakt: andreasthomas.guentner@usz.ch

Einleitung

Tragbare und kostengünstige Gassensoren bieten vielversprechende Möglichkeiten zur Realisierung kompakter Geräte für die flächendeckenden Überwachung der Luftqualität[1], der Produktion von Lebensmitteln[2], für die schmerzfreie, medizinische Atemluftdiagnostik[3] (Abb. 1) und für die Suche und Rettung von Menschen[4], um nur einige der unmittelbaren Anwendungen zu nennen.

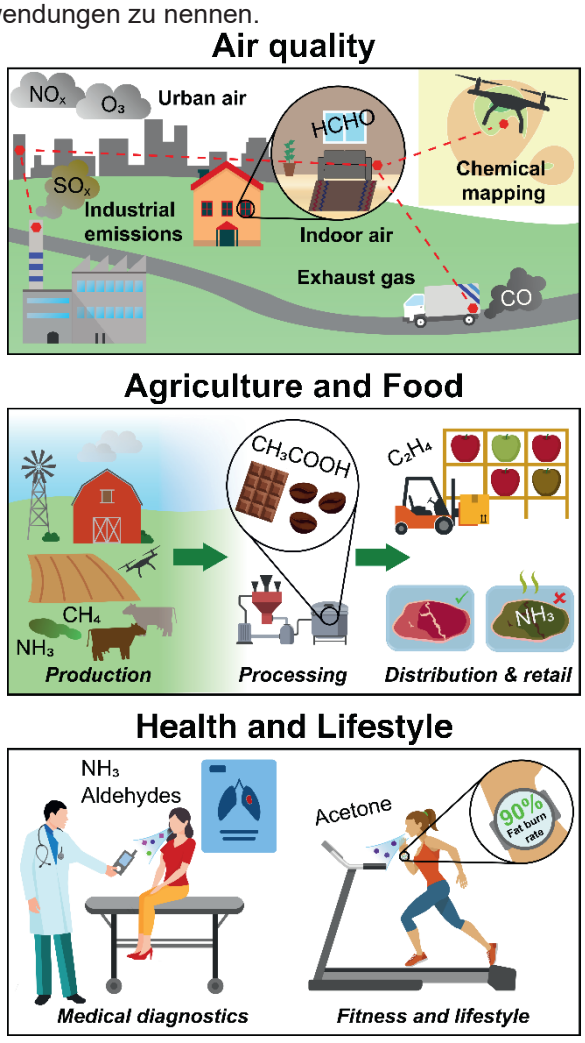


Abb. 1: Verwendung von kompakten Gassensoren zur Überwachung der Luftqualität, der Produktion von Lebensmitteln und in medizinischen Anwendungen. Reproduziert von [5].

Besonders attraktiv für solche Anwendungen sind chemoresistive Gassensoren, basierend auf Nanopartikeln aus Halbleitern[6]. Diese sind preiswert und können auf extrem kompakten Mikrosensorsubstraten abgelagert werden, um kleinste Gaskonzentrationen (z.B. 10^{-9} pro Volumen an krebserregendem Formaldehyd mit Si-dotiertem SnO_2[7]) zu messen[8]. Der breiten Anwendung solcher Sensoren stehen jedoch oftmals deren unzureichende Sensitivität, Selektivität und Stabilität im Weg[9].

In diesem Übersichtsvortrag werde ich jüngste Fortschritte bei der Entwicklung hochselektiver Gassensoren präsentieren. Zuerst werde ich auf neuste Fabrikationsmethoden eingehen, welche eine verbesserte Kontrolle der Materialzusammensetzung und -morphologie ermöglichen. Dadurch können die Sensoreigenschaften maßgeschneidert für die Anwendung optimiert werden. Danach werden Filter[5] diskutiert, welche eine systematische Optimierung der Selektivität ermöglichen. Zum Schluss wird die Integration solcher Sensoren in tragbare Messgeräte anhand ausgewählter Beispiele aufgezeigt, bevor deren Erprobung unter realen Bedingungen besprochen wird.

Diskussion

Heutzutage stehen Sensorentwicklern eine Vielzahl an Synthesemethoden zur Verfügung, welche die Zusammensetzung, Größe und Kristallphase von chemoresistiven Nanopartikeln präzise kontrollieren können. Solche Methoden werden mit speziellem Fokus auf der Flammensprühpyrolyse[10] diskutiert, welche die Herstellung von vielversprechenden Nanopartikeln für verschiede Analyten (z.B. Si-dotiertes MoO_3 für Ammoniak[11], WO_3 für NO_2[12], Ti-dotiertes ZnO für Isopren[13] oder Y-dotiertes ZnO für Essigsäure[14]) und deren Ablagerung als hochporöser Film (Abb. 2) ermöglicht. Manche dieser Sensoren können sogar bei Raumtemperatur betrieben werden (z.B. CuBr[15]), was attraktiv für deren Integration in tragbare, batteriebetriebene Geräte ist[16].

Danach werden Methoden der Selektivitätsverbesserung diskutiert. Zuerst werden Sensorarrays, sogenannte „elektronischen Nasen“[17], besprochen. Dabei werden mehrere solcher Sensoren (idealerweise mit orthogonalen Eigenschaften[18]) kombiniert[19]. Danach werden verschiedene Filterkonzepte vorgestellt, die Analyten in Gasgemischen anhand ihrer molekularen Größe (z.B. durch mikroporöse Membrane[20]), Adsorptionseigenschaften[21-22] oder Reaktivität mit ausgewählten Katalysatoren[23-24] vorseparieren.

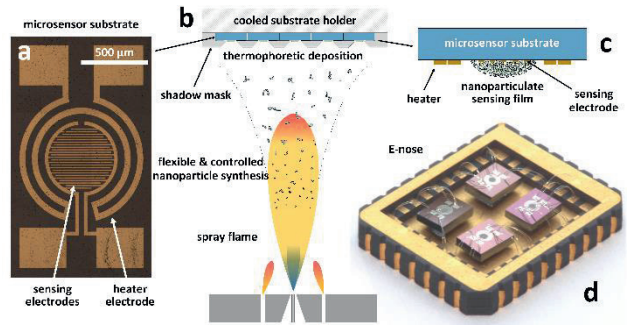


Abb. 2: (a) Bild eines Mikrosensorsubstrats. (b) Schematische Darstellung der Herstellung und Ablagerung von Nanopartikeln mit der Flammensprühpyrolyse. (c) Diese Nanopartikel werden als hochporöse Filme abgelagert, die ideal für Sensoranwendungen sind. (d) Bild mehrerer solcher Sensoren auf einem Chip. Reproduziert von [25].

Im Folgenden werden drei konkrete Beispiele solcher chemoresistiven Sensoren und Filter präsentiert, um deren Verwendung in herausfordernden Anwendungen und den sofortigen gesellschaftlichen Nutzen aufzuzeigen. Beginnen werde ich mich einem tragbaren Methanoldetektor zur Analyse von alkoholischen Getränken, welcher die Resultate kabellos und in Echtzeit auf einem Smartphone anzeigt (Abb. 3)[26]. Der Detektor kombiniert eine Separationskolonne aus Tenax TA mit einem Gassensor aus Pd-dotiertem SnO_2[27], welcher dadurch Methanol selektiv zu Ethanol quantifizieren kann[28]. Dieses Messgerät kann von Schnapsbrennern[29], der Polizei oder vom Zoll zur Produktqualitätskontrolle verwendet werden, um häufig auftretende Methanolvergiftungen zu verhindern. Diese verursachten im Jahr 2019 etwa 790 Tote. Dieser Detektor funktioniert auch für Desinfektionsmittel[30], wo Methanolverunreinigung ebenfalls ein Problem ist[31], oder für die Atemanalyse[32] zur Erkennung von Vergiftungen.

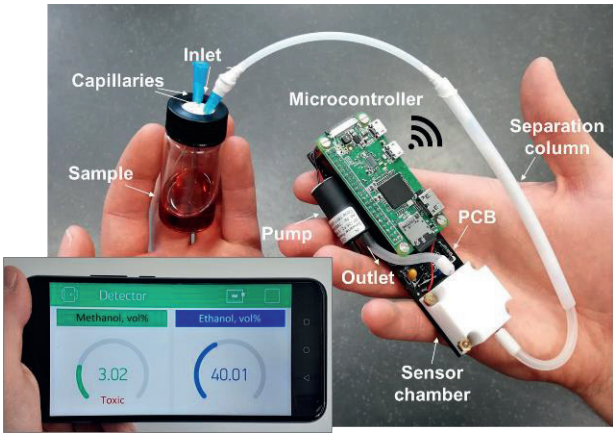


Abb. 3: Tragbarer Methanoldetektor mit kabelloser Anzeige des Messergebnisses auf einem Smartphone. Reproduziert von [26].

Als zweites Anwendungsbeispiel werden Atemluftsensoren zur Messung von Azeton beschrieben, einem Atemmarker, der den menschlichen Fettstoffwechsel schmerzfrei anzeigt[33]. Dabei werden Sensoren aus Si-dotiertem WO_3 besprochen, welche durch vorgelagerte Filter mit Pt-dotiertem Al_2O_3 das Azeton sehr selektiv in Gasgemischen (z.B. mit Ethanol, Isopren, Wasserstoff, CO) messen können. Als tragbare Atemmessgeräte ermöglichen diese die Überwachung des Fettstoffwechsels während Sport[23,34-35] oder ketogener Diät[36], um die Behandlung von Adipositas zu unterstützen. Solche Sensoren werden derzeit am Universitätsspital Zürich in klinischen Studien untersucht.

Zum Schluss wird die Verwendung solcher Sensoren zur Luftqualitätsüberwachung besprochen. Eine besondere Herausforderung ist auch hier die Messung von Luftverunreinigungen, welche selektiv bei tiefsten Konzentrationen gemessen werden müssen. Beispielsweise gilt für krebserregendes Benzol in der Europäischen Union ein Grenzwert von $80 \cdot 10^{-9}$ (pro Volumen). Dies wird durch Pd-dotierte SnO_2 Sensoren mit einem vorgelagerten WO_3-Filter erfüllt, welche dadurch Benzol sogar selektiv zu chemisch ähnlichem Xylol und Toluol messen können[37].

Literatur

[1] MAYER, M.; BAEUMNER, A. J.: A Megatrend Challenging Analytical Chemistry: Biosensor and Chemosensor Concepts Ready for the Internet of Things. In: *Chem. Rev.* 119 (2019), S. 7996-8027.

[2] BERNA, A.: Metal oxide sensors for electronic noses and their application to food analysis. In: *Sensors* 10 (2010), S. 3882-3910.

[3] GÜNTNER, A. T.; ABEGG, S.; KONIGSTEIN, K.; GERBER, P. A.; SCHMIDT-TRUCKSASS, A.; PRATSINIS, S. E.: Breath Sensors for Health Monitoring. In: *ACS Sens* 4 (2019), S. 268-280.

[4] GÜNTNER, A. T.; PINEAU, N. J.; MOCHALSKI, P.; WIESENHOFER, H.; AGAPIOU, A.; MAYHEW, C. A.; PRATSINIS, S. E.: Sniffing Entrapped Humans with Sensor Arrays. In: *Anal. Chem.* 90 (2018), S. 4940-4945.

[5] VAN DEN BROEK, J.; WEBER, I. C.; GÜNTNER, A.; PRATSINIS, S.: Highly selective gas sensing enabled by filters. In: *Mater Horiz* 8 (2021), S. 661-684.

[6] BARSAN, N.; WEIMAR, U.: Conduction Model of Metal Oxide Gas Sensors. In: *J. Electroceram.* 7 (2001), S. 143-167.

[7] GÜNTNER, A. T.; KOREN, V.; CHIKKADI, K.; RIGHETTONI, M.; PRATSINIS, S. E.: E-Nose Sensing of Low-ppb Formaldehyde in Gas Mixtures at High Relative Humidity for Breath Screening of Lung Cancer? In: *ACS Sens* 1 (2016), S. 528-535.

[8] SUEMATSU, K.; HARANO, W.; OYAMA, T.; SHIN, Y.; WATANABE, K.; SHIMANOE, K.: Pulse-Driven Semiconductor Gas Sensors Toward ppt Level Toluene Detection. In: *Anal. Chem.* 90 (2018), S. 11219-11223.

[9] LEWIS, A.; EDWARDS, P.: Validate personal air-pollution sensors. In: *Nature* 535 (2016), S. 29-31.

[10] MÄDLER, L.; KAMMLER, H. K.; MUELLER, R.; PRATSINIS, S. E.: Controlled synthesis of nanostructured

particles by flame spray pyrolysis. In: *J. Aerosol Sci* 33 (2002), S. 369-389.
[11] GÜNTNER, A. T.; RIGHETTONI, M.; PRATSINIS, S. E.: Selective sensing of NH_3 by Si-doped α-MoO_3 for breath analysis. In: *Sens. Actuators B* 223 (2016), S. 266-273.
[12] ABEGG, S.; KLEIN CERREJON, D.; GÜNTNER, A. T.; PRATSINIS, S. E.: Thickness Optimization of Highly Porous Flame-Aerosol Deposited WO_3 Films for NO_2 Sensing at ppb. In: *Nanomaterials* 10 (2020), S. 1170.
[13] GÜNTNER, A. T.; PINEAU, N. J.; CHIE, D.; KRUMEICH, F.; PRATSINIS, S. E.: Selective sensing of isoprene by Ti-doped ZnO for breath diagnostics. In: *J Mater Chem B* 4 (2016), S. 5358-5366.
[14] PINEAU, N. J.; KRUMEICH, F.; GÜNTNER, A. T.; PRATSINIS, S. E.: Y-doped ZnO films for acetic acid sensing down to ppb at high humidity. In: *Sens. Actuators B* 327 (2021), S. 128843.
[15] GÜNTNER, A. T.; WIED, M.; PINEAU, N. J.; PRATSINIS, S. E.: Rapid and Selective NH_3 Sensing by Porous CuBr. In: *Adv. Sci.* 7 (2020), S. 1903390.
[16] ZHANG, J.; LIU, X.; NERI, G.; PINNA, N.: Nanostructured Materials for Room-Temperature Gas Sensors. In: *Adv Mater* 28 (2016), S. 795-831.
[17] PERSAUD, K.; DODD, G.: Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose. In: *Nature* 299 (1982), S. 352-355.
[18] PINEAU, N. J.; KOMPALLA, J. F.; GÜNTNER, A. T.; PRATSINIS, S. E.: Orthogonal gas sensor arrays by chemoresistive material design. In: *Microchim Acta* 185 (2018), S. 563.
[19] BROZA, Y. Y.; VISHINKIN, R.; BARASH, O.; NAKHLEH, M. K.; HAICK, H.: Synergy between nanomaterials and volatile organic compounds for non-invasive medical evaluation. In: *Chem Soc Rev* 47 (2018), S. 4781-4859.
[20] GÜNTNER, A. T.; ABEGG, S.; WEGNER, K.; PRATSINIS, S. E.: Zeolite membranes for highly selective formaldehyde sensors. In: *Sens. Actuators B* 257 (2018), S. 916-923.
[21] VAN DEN BROEK, J.; CERREJON, D. K.; PRATSINIS, S. E.; GÜNTNER, A. T.: Selective formaldehyde detection at ppb in indoor air with a portable sensor. In: *J. Hazard. Mater.* (2020), S. 123052.
[22] VAN DEN BROEK, J.; GÜNTNER, A. T.; PRATSINIS, S. E.: Highly Selective and Rapid Breath Isoprene Sensing Enabled by Activated Alumina Filter. In: *ACS Sens* 3 (2018), S. 677-683.
[23] WEBER, I. C.; DERRON, N.; KÖNIGSTEIN, K.; GERBER, P. A.; GÜNTNER, A. T.; PRATSINIS, S. E.: Monitoring Lipolysis by Sensing Breath Acetone down to Parts-per-Billion. In: *Small Science* 1 (2021), S. 2100004.
[24] GÜNTNER, A. T.; WEBER, I. C.; PRATSINIS, S. E.: Catalytic Filter for Continuous and Selective Ethanol Removal Prior to Gas Sensing. In: *ACS Sens* 5 (2020), S. 1058-1067.
[25] GÜNTNER, A. T. Selective gas sensors from flames for breath analysis. Dissertation Nr. 23990, ETH Zürich, 2017. 10.3929/ethz-b-000181653.
[26] ABEGG, S.; MAGRO, L.; VAN DEN BROEK, J.; PRATSINIS, S. E.; GÜNTNER, A. T.: A pocket-sized device enables detection of methanol adulteration in alcoholic beverages. In: *Nature Food* 1 (2020), S. 351-354.
[27] PINEAU, N. J.; KELLER, S. D.; GÜNTNER, A. T.; PRATSINIS, S. E.: Palladium embedded in SnO_2 enhances the sensitivity of flame-made chemoresistive gas sensors. In: *Microchim Acta* 187 (2020), S. 96.
[28] VAN DEN BROEK, J.; ABEGG, S.; PRATSINIS, S. E.; GÜNTNER, A. T.: Highly selective detection of methanol over ethanol by a handheld gas sensor. In: *Nature Commun.* 10 (2019), S. 4220.
[29] PINEAU, N. J.; MAGRO, L.; VAN DEN BROEK, J.; ANDERHUB, P.; GÜNTNER, A. T.; PRATSINIS, S. E.: Spirit Distillation: Monitoring Methanol Formation with a Hand-Held Device. In: *ACS Food Science & Technology* 1 (2021), S. 839-844.
[30] GÜNTNER, A. T.; MAGRO, L.; VAN DEN BROEK, J.; PRATSINIS, S. E.: Detecting methanol in hand sanitizers. In: *iScience* 24 (2021), S. 102050.
[31] U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION: Temporary policy for preparation of certain alcohol-based hand sanitizer products during the public health emergency (COVID-19): Guidance for industry.
[32] VAN DEN BROEK, J.; BISCHOF, D.; DERRON, N.; ABEGG, S.; GERBER, P. A.; GÜNTNER, A. T.; PRATSINIS, S. E.: Screening Methanol Poisoning with a Portable Breath Detector. In: *Anal. Chem.* 93 (2021), S. 1170-1178.
[33] ANDERSON, J. C.: Measuring breath acetone for monitoring fat loss: Review. In: *Obesity (Silver Spring)* 23 (2015), S. 2327-34.
[34] GÜNTNER, A. T.; SIEVI, N. A.; THEODORE, S. J.; GULICH, T.; KOHLER, M.; PRATSINIS, S. E.: Noninvasive Body Fat Burn Monitoring from Exhaled Acetone with Si-doped WO_3-sensing Nanoparticles. In: *Anal. Chem.* 89 (2017), S. 10578-10584.
[35] KÖNIGSTEIN, K.; ABEGG, S.; SCHORN, A. N.; WEBER, I. C.; DERRON, N.; KREBS, A.; GERBER, P. A.; SCHMIDT-TRUCKSÄSS, A.; GÜNTNER, A. T.: Breath acetone change during aerobic exercise is moderated by cardiorespiratory fitness. In: *J. Breath Res.* 15 (2021), S. 016006.
[36] GÜNTNER, A. T.; KOMPALLA, J. F.; LANDIS, H.; THEODORE, S. J.; GEIDL, B.; SIEVI, N. A.; KOHLER, M.; PRATSINIS, S. E.; GERBER, P. A.: Guiding Ketogenic Diet with Breath Acetone Sensors. In: *Sensors* 18 (2018), S. 3655.
[37] WEBER, I. C.; RÜEDI, P.; SOT, P.; GÜNTNER, A. T.; PRATSINIS, S. E.: Handheld Device for Selective Benzene Sensing over Toluene and Xylene. In: *Advanced Science* accepted, DOI: 10.1002/advs.202103853.

DOI 10.5162/15dss2021/4.2

Compact Electrospray Ionization Ion Mobility Spectrometer

Christian Thoben, Christian-Robert Raddatz, André Ahrens, Janna Birte Schulte, Arend Staschel and Stefan Zimmermann

Institute of Electrical Engineering and Measurement Technology, Leibniz University Hannover, Appelstr. 9A, 30167 Hannover, Germany
Contact: thoben@geml.uni-hannover.de

Introduction

Ion mobility spectrometers (IMS) are typically used for fast and sensitive detection of substances in the gas phase. IMS offer detection limits in the low ppt_v range with measurement times of less than one second. The measurement principle is based on the separation of different ion species according to their ion-specific mobility in a neutral drift gas under the influence of an electric field. [1]

Nowadays, IMS are well established in different analytical applications, e.g., in safety and security such as the detection of chemical warfare agents [2,3], explosives [4,5] or drugs of abuse [6]. Especially in food quality monitoring and food analysis ion mobility spectrometry is becoming increasingly important [7–10]. Furthermore, a variety of other applications exist, e.g. breath analysis [11], further medical applications [12,13] and environmental analysis [14].

For some of these applications, low-cost and mobile instruments are required. Especially in the field of water pollution control, there is a lack of compact devices that can rapidly detect pollutants after accidental or deliberate release and assess the current situation. The aim of this work is to close this gap with preliminary steps towards the development of a portable instrument for on-site process control and detection of contaminants in water. For this purpose, three different compact and low-cost IMS are compared with our standard PEEK-IMS system in terms of their suitability for the analysis of liquid samples.

Here, electrospray ionization (ESI) is used to ionize and transfer liquid samples into the gas phase. An electrospray is induced from a liquid sample in a capillary under the influence of a strong electric field, so that a dispersed nebula of charged droplets is formed. Finally, ions are generated in the gas phase by a complex process involving evaporation of the solvent and droplet jets fissions due to coulombic stresses [15].

Experimental

The IMS investigated in this work mainly consist of a drift region and a desolvation region. In the drift region, the ions are separated and detected according to their mobility. In the desolvation region, ions are formed from charged droplets previously generated by an electrospray. The two regions are separated by a tristate ion shutter, which injects the ions into the drift region [16].

The global parameters applied to all experiments are listed in Tab. 1. The individual systems in this work differ mainly in the dimensions and the electric field strength used in the desolvation and drift region. The corresponding parameters are listed in Tab. 2-5 for the respective systems. A detailed description of our standard PEEK-IMS can be found elsewhere [16]. Furthermore, the setup of the miniaturized, low-cost PEEK-IMS system is described in [17].

Another possibility for compact IMS at low cost is the use of printed circuit boards [18–20]. With this manufacturing technique it is also possible to simply rescale an IMS design. A detailed description of the miniaturized, low-cost PCB-ESI-IMS presented in this work can be found in [21]. A size comparison of all systems used in this work can be seen in Fig. 1.

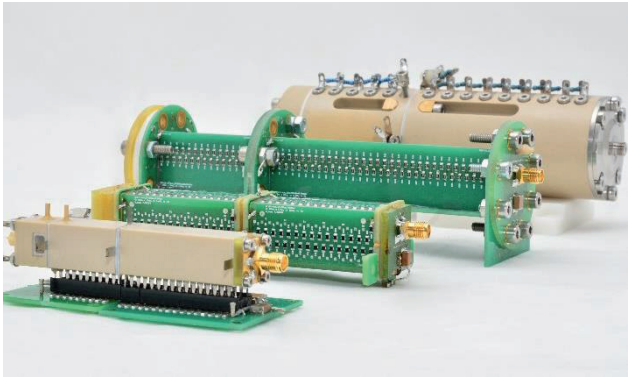


Fig. 1: Photo of the different ESI-IMS. From front to back: miniaturized PEEK-IMS, miniaturized, low-cost PCB-IMS, low-cost PCB-IMS and standard PEEK-IMS.

To supply sample fluids to the electrospray ionization source, we use an Advanced Microfluidics LSPone programmable syringe pump with a 50-µl syringe and New Objective Metal Taper Tip emitters with an inner diameter of 50 µm. The flow rate is set to 1 µl/min. The ESI voltage is applied between the emitter and the grounded first ring of the desolvation region. In addition, the IMS is supplied with a drift gas flow of 250 ml/min resp. 120 ml/min of purified dry air flowing in the opposite direction to the spray direction.

Tab. 1: Global operating parameters

Global parameters	Value
Emitter voltage	2-3 kV
Emitter diameter	50 µm
Drift gas	Purified dry air
Drift gas dew point	-85 °C
Pressure	1013 mbar
Temperature	23 °C

Tab. 2: Operating parameters standard PEEK-IMS

Parameter	Value
Length of drift region	75 mm
Length of desolvation region	50 mm
Field strength	60 V/mm
Drift gas flow rate	250 ml/min
Outer diameter	48 mm

Tab. 3: Operating parameters low-cost PCB-IMS

Parameter	Value
Length of drift region	100 mm
Length of desolvation region	50 mm
Field strength	73 V/mm
Drift gas flow rate	250 ml/min
Outer cross section	28 mm x 28 mm

Tab. 4: Operating parameters miniaturized PEEK-IMS

Parameter	Value
Length of drift region	40 mm
Length of desolvation region	25 mm
Field strength	61 V/mm
Drift gas flow rate	120 ml/min
Outer cross section	15 mm x 15 mm

Tab. 5: Operating parameters miniaturized, low-cost PCB-IMS

Parameter	Value
Length of drift region	50 mm
Length of desolvation region	50 mm
Field strength	50 V/mm - 100 V/mm
Drift gas flow rate	120 ml/min
Outer cross section	25 mm x 25 mm

Ion Mobility Spectrometry

The ion mobility K can be measured experimentally, namely by the drift time t_D required for an ion to traverse the drift tube of length L in the presence of the electric drift field E.

$$K = \frac{L}{t_D \cdot E} \tag{1}$$

Often, the ion mobility K from in Eq. (1) is converted to a reduced mobility value K_0 by normalizing the expression to temperature and pressure.

$$K_0 = K \cdot \frac{p}{1013\ \text{mbar}} \cdot \frac{273\ \text{K}}{T} \tag{2}$$

where p is the operating pressure in mbar and T is the operating temperature in Kelvin. Hereby, a better comparison between the different systems is possible. However, this normalization does not account for variations in ion chemistry due to different conditions in the ionization region.

As described in [22], the signal-to-noise ratio improves with drift voltages higher than the optimum drift voltage for maximum resolving power, while the resolving power just slightly degrades. This effect is stronger in shorter drift tubes, since lower optimum drift voltages are required.

Electrospray Ionization

First, the flow rate of the analytic solution affects the ionization efficiency of undissociated substances in ESI-IMS [23,24]. Secondly, in addition to the analytes themselves, the properties of the solvent are the main determinants of the ionization efficiency in ESI.

The Hendricks equation (3) provides an approximation to describe the electrospray ion current i_{ES}, which is related to the solvent flow rate v_f and the solution conductivity σ, as well as the electric field strength at the emitter E.

$$i_{ES} = A_H \cdot v_f^{0.57} \cdot E^{0.43} \cdot \sigma^{0.43} \tag{3}$$

where A_H is an evaluable constant that depends on the dielectric constant and surface tension of the solvent. Increasing the solvent flow rate or the solution conductivity results in a higher electrospray ion current [25].

Results and Discussion

In a first experimental setup, we compare our standard PEEK-IMS with a low-cost PCB-IMS, a miniaturized PEEK-IMS, and a miniaturized, low-cost PCB-IMS. As shown in Fig. 2, similar results are obtained for a pure 80:20 methanol:water solvent mixture. Accordingly, all systems are suitable for electrospray ionization. However, with a length of 150 mm, the PCB-IMS is relatively long, so high absolute voltages must be provided. Furthermore, with a relatively high given voltage supply of 12.5 kV, a further increase in drift voltage is not possible to improve the signal-to-noise ratio. Therefore, the IMS drift tube should be miniaturized first and foremost.

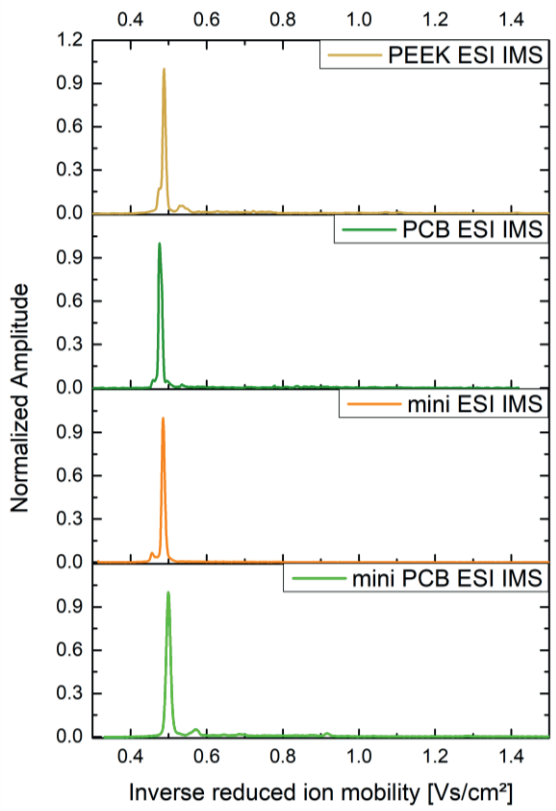


Fig. 2: Spectra of a pure 80:20 methanol:water mixture measured with the standard PEEK-IMS (ocher), the low-cost PCB-IMS (dark green), the miniaturized PEEK-IMS (orange) and the miniaturized, low-cost PCB-IMS (light green).

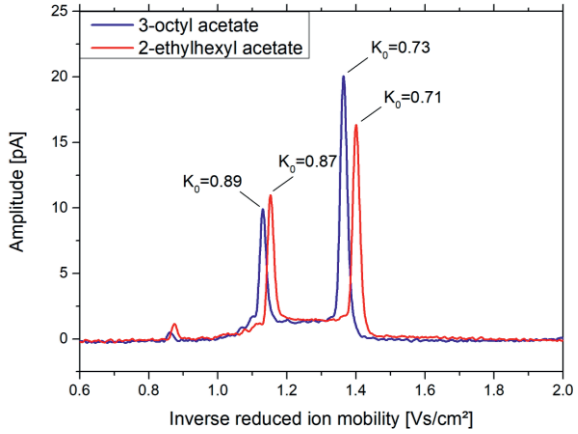


Fig. 3: Spectra of the isomers 0.1 mol/l 3-octyl acetate and 0.1 mol/l 2-ethylhexyl acetate in 70:30 ethanol:water with 5 mmol/l sodium acetate measured with the miniaturized PEEK-ESI-IMS.

A notable advantage of IMS is the separation of isomers. As an example, the spectra of two aroma compounds, the flavoring 3-octyl acetate and 2-ethylhexyl acetate used as solvent and additive in detergents, with the same mass are shown in Fig. 3.

As it can be seen in Fig. 3, each analyte forms three peaks, whereby the individual dimers and trimers have different K_0 values for the two isomers, enabling both substances to be differentiated. Hereby, the miniaturized PEEK-ESI-IMS was used and to demonstrate the potential for analyzing liquid samples even with very compact and low-cost IMS. However, there is no baseline separation of the two analytes.

Another approach for manufacturing small and low-cost IMS is the use of PCBs. One advantage of short drift tubes is that the drift voltage can easily be increased above the optimum for best resolving power, giving a better signal-to-noise ratio. For demonstration, the herbicide isoproturon was measured with the miniaturized, low-cost PCB-IMS at increased drift voltages. As shown in Fig. 4, the amplitude of the isoproturon peak increases significantly as the drift voltage is increased.

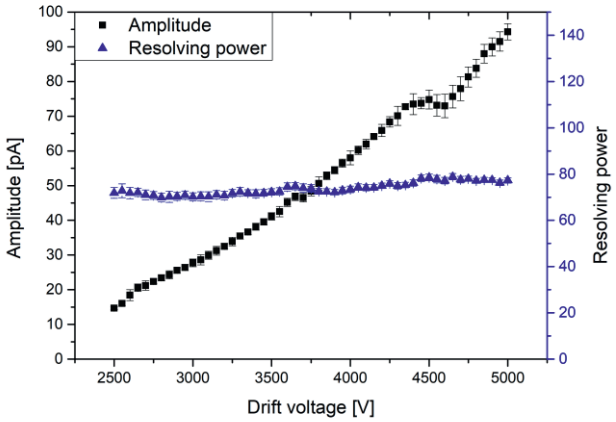


Fig. 4: Peak Amplitude of 10 mg/l isoproturon in 80:20 methanol:water measured with the miniaturized, low-cost PCB-IMS plotted versus the drift voltage.

In contrast to the theory, the resolving power remains relatively constant. With the drift voltage, we simultaneously increase the desolvation voltage. As shown in [16], by increasing the electric field strength in the desolvation region, we also influence the voltage at the ESI emitter. This in turn influences the formation of ions from the electrospray, so that apparently other clusters are formed here.

Conclusion

As presented in this work, different IMS designs are suitable for use with electrospray ionization. Consequently, several factors are applicable as evaluation criteria depending on the application, such as the size, the temperature resistance of the material, and the cost. Compact IMS drift tubes have the advantage of requiring lower drift voltage supplies also shrinking the periphery. Furthermore, drift voltages above the optimum drift voltage regarding the maxi-

mum resolving power are easily possible to increase the signal-to-noise ratio.

References

[1] G.A. Eiceman, Z. Karpas, H.H. Hill, Ion mobility spectrometry, 3rd ed., CRC Press, Boca Raton, 2013.

[2] M.A. Mäkinen, O.A. Anttalainen, Sillanpää, Mika E T, Ion mobility spectrometry and its applications in detection of chemical warfare agents, Anal. Chem. 82 (2010) 9594–9600.

[3] J. Puton, J. Namieśnik, Ion mobility spectrometry: Current status and application for chemical warfare agents detection, TrAC, Trends Anal. Chem. 85 (2016) 10–20.

[4] M. Tabrizchi, V. Ilbeigi, Detection of explosives by positive corona discharge ion mobility spectrometry, Journal of hazardous materials 176 (2010) 692–696.

[5] H. Shahraki, M. Tabrizchi, H. Farrokhpor, Detection of explosives using negative ion mobility spectrometry in air based on dopant-assisted thermal ionization, Journal of hazardous materials 357 (2018) 1–9.

[6] A.B. Kanu, H.H. Hill, Identity confirmation of drugs and explosives in ion mobility spectrometry using a secondary drift gas, Talanta 73 (2007) 692–699.

[7] M. Hernández-Mesa, A. Escourrou, F. Monteau, B. Le Bizec, G. Dervilly-Pinel, Current applications and perspectives of ion mobility spectrometry to answer chemical food safety issues, TrAC Trends in Analytical Chemistry 94 (2017) 39–53.

[8] M.-Y. Piñero, M. Amo-González, R.D. Ballesteros, L.R. Pérez, G.F. de La Mora, L. Arce, Chemical Fingerprinting of Olive Oils by Electrospray Ionization-Differential Mobility Analysis-Mass Spectrometry: A New Alternative to Food Authenticity Testing, J. Am. Soc. Mass Spectrom. 31 (2020) 527–537.

[9] M.J. Aliaño-González, M. Ferreiro-González, E. Espada-Bellido, M. Palma, G.F. Barbero, A Screening Method Based on Headspace-Ion Mobility Spectrometry to Identify Adulterated Honey, Sensors 19 (2019).

[10] N. Gerhardt, M. Birkenmeier, D. Sanders, S. Rohn, P. Weller, Resolution-optimized headspace gas chromatography-ion mobility spectrometry (HS-GC-IMS) for non-targeted olive oil profiling, Anal Bioanal Chem 409 (2017) 3933–3942.

[11] M. Malásková, D. Olivenza-León, P.D. Chellayah, J. Martini, W. Lederer, V. Ruzsanyi, K. Unterkofler, P. Mochalski, T.D. Märk, P. Watts, C.A. Mayhew, Studies pertaining to the monitoring of volatile halogenated anaesthetics in breath by proton transfer reaction mass spectrometry, Journal of breath research 14 (2020) 26004.

[12] I.D. Campuzano, J.L. Lippens, Ion mobility in the pharmaceutical industry: An established biophysical technique or still niche?, Current Opinion in Chemical Biology 42 (2018) 147–159.

[13] C. Thoben, N. Dennhardt, T. Krauß, R. Sümpelmann, S. Zimmermann, H. Rüffert, S. Heiderich, Preparation of anaesthesia workstation for trigger-free anaesthesia: An observational laboratory study, European journal of anaesthesiology 36 (2019) 851–856.

[14] I. Márquez-Sillero, E. Aguilera-Herrador, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Ion-mobility spectrometry for environmental analysis, TrAC, Trends Anal. Chem. 30 (2011) 677–690.

[15] P. Kebarle, U.H. Verkerk, Electrospray: from ions in solution to ions in the gas phase, what we know now, Mass Spectrom Rev 28 (2009) 898–917.

[16] C. Thoben, C.-R. Raddatz, M. Lippmann, Z. Salehimoghaddam, S. Zimmermann, Electrospray ionization ion mobility spectrometer with new tri-state ion gating for improved sensitivity for compounds with lower ion mobility, Talanta 233 (2021) 122579.

[17] A. Ahrens, M. Hitzemann, S. Zimmermann, Miniaturized high-performance drift tube ion mobility spectrometer, Int. J. Ion Mobil. Spec. 22 (2019) 77–83.

[18] T. Reinecke, B.H. Clowers, Implementation of a flexible, open-source platform for ion mobility spectrometry, HardwareX 4 (2018) e00030.

[19] N. Chantipmanee, P.C. Hauser, Development of simple drift tube design for ion mobility spectrometry based on flexible printed circuit board material, Analytica Chimica Acta 1170 (2021) 338626.

[20] A. Bohnhorst, A.T. Kirk, S. Zimmermann, Simulation aided design of a low cost ion mobility spectrometer based on printed circuit boards, Int. J. Ion Mobil. Spec. 19 (2016) 167–174.

[21] A. Bohnhorst, A.T. Kirk, S. Zimmermann, Toward Compact High-Performance Ion Mobility Spectrometers: Ion Gating in Ion Mobility Spectrometry, Anal. Chem. 93 (2021) 6062–6070.

[22] A.T. Kirk, S. Zimmermann, An analytical model for the optimum drift voltage of drift tube ion mobility spectrometers with respect to resolving power and detection limits, Int. J. Ion Mobil. Spec. 18 (2015) 129–135.

[23] M.T. Jafari, Improved design for high resolution electrospray ionization ion mobility spectrometry, Talanta 77 (2009) 1632–1639.

[24] X. Tang, J.E. Bruce, H.H. Hill, Characterizing electrospray ionization using atmospheric pressure ion mobility spectrometry, Anal. Chem. 78 (2006) 7751–7760.

[25] P. Kebarle, L. Tang, From ions in solution to ions in the gas phase - the mechanism of electrospray mass spectrometry, Anal. Chem. 65 (1993) 972A-986A.

Acknowledgements

Supported by the German Federal Ministry for Economic Affairs and Energy (BMWi) on the basis of a decision by the German Bundestag, Grant 20666 N, and funded by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG, German Research Foundation) – 396430937.

DOI 10.5162/15dss2021/4.3

Echtzeitfähige aktive Gas-Kamera

Max Bergau[1], Benjamin Scherer[1], Jürgen Wöllenstein[2]
[1]Endress+ Hauser Process Solutions (DE) GmbH, Freiburg, Deutschland
[2]Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg, Deutschland
Kontakt: max.bergau@endress.com

Einleitung

Gasnetze unterliegen hohen Anforderungen an Dichtigkeit. Dies ist im Wesentlichen auf Sicherheitsaspekte, Aspekte der Umweltbelastung sowie wirtschaftliche Schäden durch unbeabsichtigte Emissionen zurückzuführen. Um diese Anforderungen zu gewährleisten, ist es unabdingbar Gasleckagen Lokalisieren und idealerweise Quantifizieren zu können.

Dafür werden aktuell eine Vielzahl unterschiedlicher Technologien eingesetzt. Der Wunsch, Leckagen als Bild oder Video zu visualisieren, hat dem sogenannte „Optical Gas Imaging" (OGI) zunehmende Popularität zugespielt.

Hierbei werden thermische Kameras verwendet. Auf Basis der Infrarotabsorption der Zielgase werden diese für Menschen im Kamerabild als dunkle oder helle Wolke sichtbar. Durch diese Visualisierung eignet sich OGI besonders für die Ortung von Leckagen sowie für die grobe Quantifizierung der austretenden Stoffmengen.

State-of-the-art OGI-Kameras nutzen einen passiven Detektionsansatz, indem sie die thermische Hintergrundstrahlung durch passende optische Filter spektral auswerten. In dieser Ausführung wird eine aktive OGI-Kamera vorgestellt. In diesem wird die Infrarotstrahlung, anhand welcher das Zielgas detektiert wird, über eine passende Beleuchtung selbst eingestrahlt.

Prinzipbedingt ist der aktive Ansatz unabhängig von thermischer Hintergrundstrahlung, bietet eine weitaus bessere spektrale Auflösung, niedrigere Detektionsgrenzen und nahezu keine Querempfindlichkeiten. Nachteilig sind kurze Reichweiten im Bereich von Metern, im Vergleich zu Kilometern bei passiven Kameras, sowie die Notwendigkeit eines Hintergrundes.

Nach unserem Kenntnisstand beschäftigen sich nur wenige Forschungsgruppen weltweit mit der Entwicklung von aktiven OGI-Kameras [1,2]. Kommerziell ist seit diesem Jahr (2021) die erste scannende aktive OGI Kamera der Firma QLM Technology Ltd. erhältlich [3]. Nachfolgend werden unsere Arbeiten an einer aktiven OGI-Kamera vorgestellt.

Aufbau und Durchführung

Abb. 1 Links: Aufbau der echtzeitfähigen aktiven Gas-Kamera. Rechts: Top-Ansicht des skizzierten Laser-Strahlengangs. Weniger als 1% des Laserlichts wird zum Locken der gewählten Methanlinie ausgekoppelt. zeigt den Aufbau der vorgestellten aktiven OGI Kamera. Für die Beleuchtung wurde ein DFB-Interband-Kaskadenlaser (ICL) mit einer Wellenlänge um 3260 nm gewählt. Die



Abb. 1 Links: Aufbau der echtzeitfähigen aktiven Gas-Kamera. Rechts: Top-Ansicht des skizzierten Laser-Strahlengangs. Weniger als 1% des Laserlichts wird zum Locken der gewählten Methanlinie ausgekoppelt.

Laserleistung der Diode beträgt 25 mW, so dass das gesamte Sichtfeld auf einmal beleuchtet werden kann. Innerhalb des Abstimmbereichs der Diode befindet sich eine der stärksten Absorptionslinien von Methan (CH_4), dargestellt in Abb. 3 Oben: Dargestellt sind die starken Rotations-Vibrations-Absorptionslinien von Methan im verwendeten Wellenlängenbereich des ICLs., oben. Dies ermöglicht eine hohe Empfindlichkeit für die Methan-Erkennung.

Zur Bildgebung kommt eine schnelle Infrarotkamera (ImageIR 8300 hp von Infratec) zum Einsatz, welche zur Lichtquelle synchronisiert ist. Im folgenden Absatz wird dies im Detail beschrieben.

Der Aufbau ist so realisiert, dass Methan Visualisierungs- und Quantifizierungsbilder in Echtzeit, synchronisiert mit RGB und Tiefenbildern, gestreamt werden. Aktuell liegt die Bildaktualisierungsrate für Methanbilder bei 10 Hz.

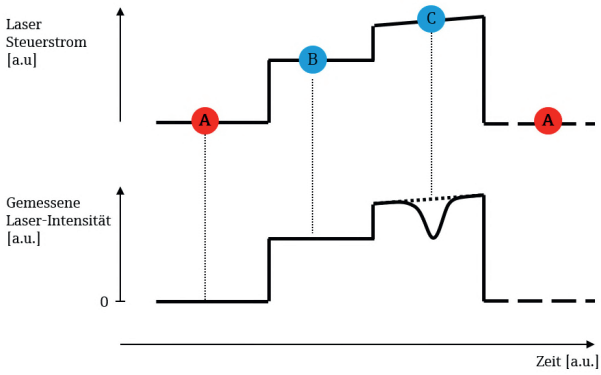


Abb. 2 Schematische Darstellung der Laser- Bildsynchronisation. Pro Methanbild werden drei Infrarotbilder aufgenommen, hier durch A,B und C dargestellt.

Gas Visualisierung und Konzentrations-berechnung

Zur Visualisierung und Quantifizierung von Methan wird eine Adaption der bekannten „Tuneable diode laser absorption spectroscopy“ (TDLAS) bzgl. Bildgebung verwendet. Bildaufnahme sowie der gemessenen Intensitäten. Die Bilder A,B und C messen hierbei die in Gleichung (1) verwendeten Größen I_{BG} , $I_0(\lambda)$ und $I(\lambda)$ respektiv.
Dabei wird der Laserstrom mit der Kamera so abgestimmt, dass Bild C genau dann aufgenommen wird, wenn die Wellenlänge des Lasers das Absorptionsmaximum der Gasli-

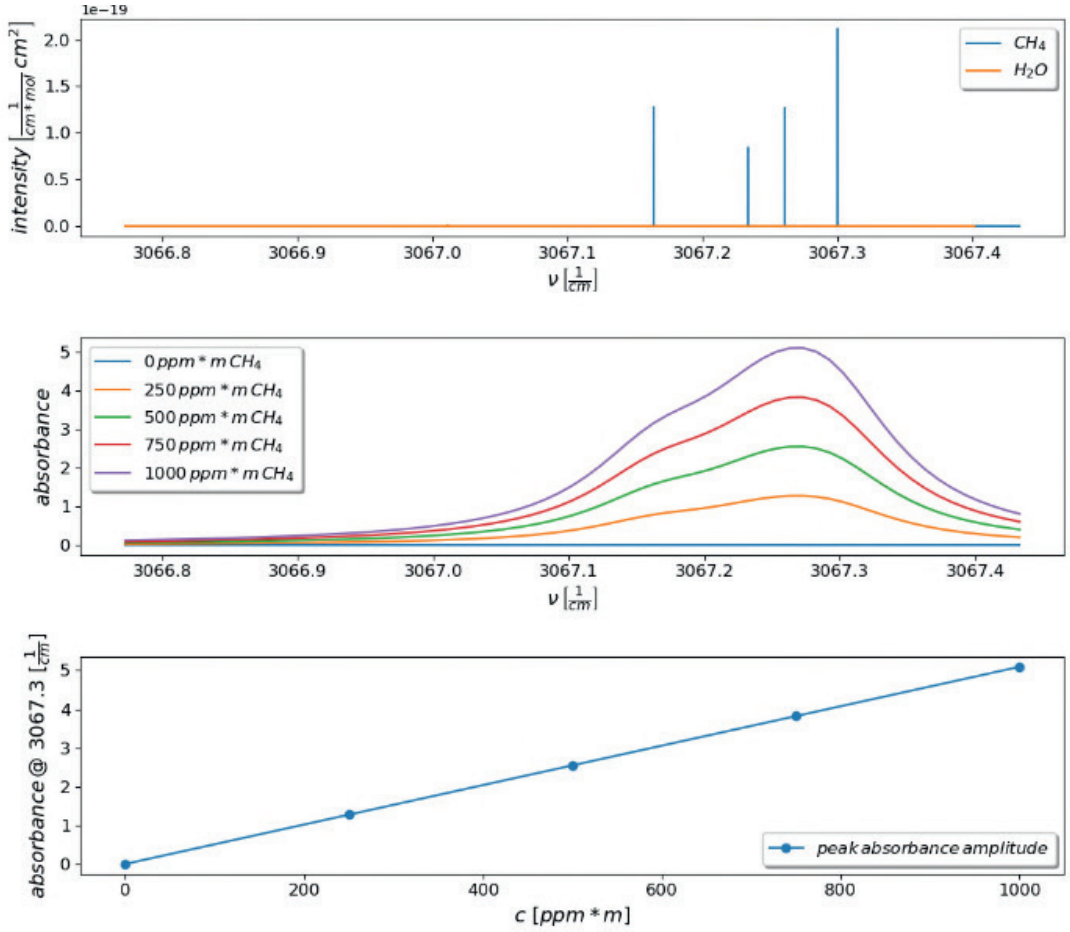


Abb. 3 Oben: Dargestellt sind die starken Rotations-Vibrations-Absorptionslinien von Methan im verwendeten Wellenlängenbereich des ICLs.
Mitte: Anhand von HITRAN-Daten ist die Absorbanz für verschieden Spalten-Konzentrationen simuliert.
Unten: Das Absorbanz-Maximum ist über verschiedene Spalten-Konzentrationsbereiche geplottet. Für die betrachtete Konzentrationsbereiche zeigt sich ein lineares Verhältnis.

Bei Bildgebenden Verfahren fallen beim Abscannen einer Gaslinie große Datenmengen an, was eine Echtzeitauswertung sehr rechenintensiv werden lässt. Deshalb wird hier, wie von [2] vorgeschlagen, die Gaskonzentration nur anhand von zwei Wellenzahl-Punkten anhand der Absorbanz berechnet wird:

$$A(\lambda) = -ln\left(\frac{I(\lambda) - I_{BG}}{I_0(\lambda) - I_{BG}}\right) \qquad \textbf{(1)}$$

Der vorgeschlagene Algorithmus wird um ein weiteres Bild erweitert, um die thermische Hintergrundstrahlung aufzunehmen. Dies ermöglicht eine Methanquantifizierung auch auf heterogenen Infrarot-Reflektoren. Abb. 2 zeigt schematisch die Synchronisation von Laserstrom, der nien trifft. Anhand der maximalen Absorbanz wird die Konzentration Anhand einer HITRAN [4] Kalibrierung berechnet. Der lineare Zusammenhand zw. Konzentration und maximaler Absorbanz ermöglicht die sehr simple Konzentrationsquantifizierung (c = Spalten-Konzentration [ppm * m]):

$$c = \eta \cdot A(\lambda_{peak}) \qquad \textbf{(2)}$$

In Abb. 3 - Mitte ist die simulierte Absorbanz von Methan in Abhängigkeit der Säulenkonzentration geplottet. Der näherungsweise lineare Zusammenhang, wie in (2) verwendet, ist im unteren Teil der Grafik für bis zu 1000 ppm*m gezeigt.

DOI 10.5162/15dss2021/4.3

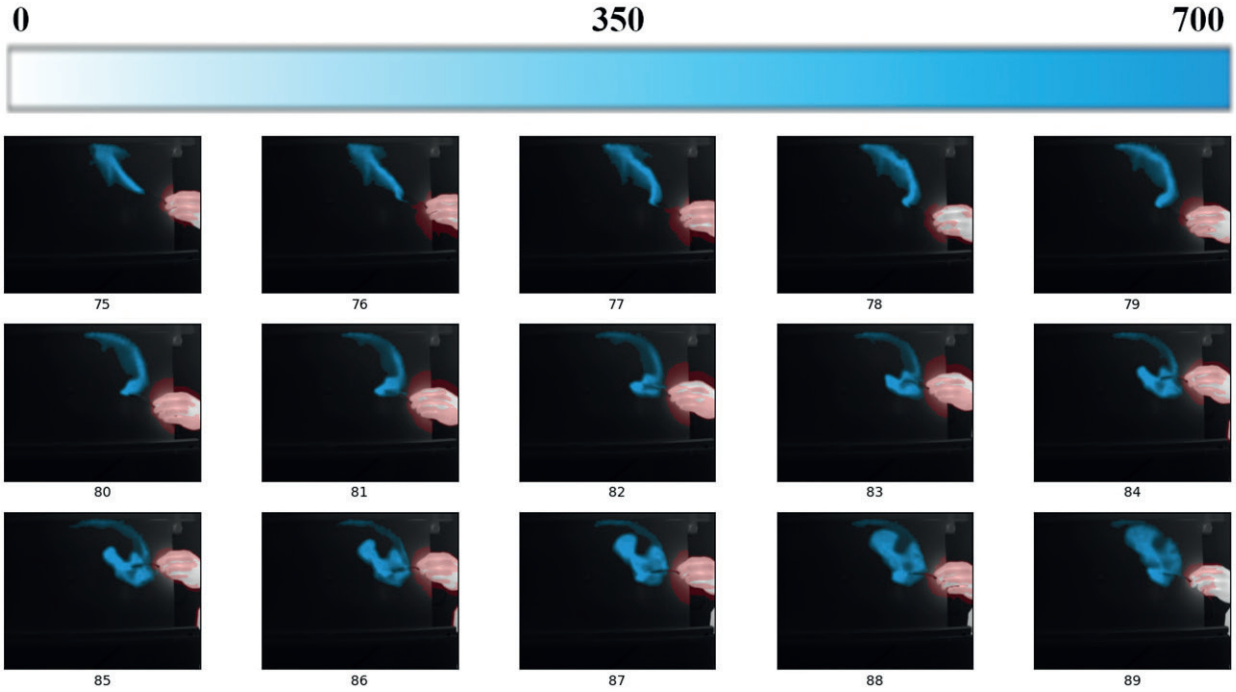


Abb. 4 Es sind beispielhaft fünfzehn Frames aus einem Video, mit einem aus einem Schlauch austretendem Methanleck dargestellt. Die Infrarotinformation ist in schwarz-weiß visualisiert. Methan ist in Blau überlagert, wobei die Transparenz bzw. Opazität die Säulenkonzentration in ppm*m wiederspiegelt. Rot überlagert ist der maskierte Bereich, in dem Falschinformationen im Quotientenbild identifiziert wurden.

Die Rampe des Laserstroms um das Bild C, dargestellt in Abb. 2, dient einem Feedbackloop. Anhand einer zusätzlichen Fotodiode und einer Gas-Zelle wird die gewünschte Absorptionslinie aufgenommen, und der Laserstrom so adaptiert, dass die Bilder stets auf den gewünschten Positionen entlang der Gas-Linie aufgenommen werden.

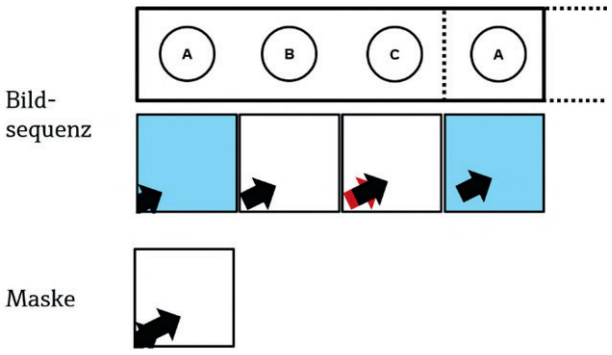


Abb. 5 Das echtzeitfähige Verfahren zur Ausmaskierung bewegter Objekte ist schematisch dargestellt.
Oben: In einer Bildsequenz führt das bewegte Objekt im Quotienten Bild zu falschen Gas-Informationen. Diese sind schematisch rot in Bild C dargestellt.
Unten: Durch die Verrechnung zweier sequentieller Hintergrundbilder (blau hinterlegt) wird eine Maske erzeugt, anhand welcher die Falschinformationen durch bewegte Objekte ausmaskiert werden.

Bewegte Objekte

Die beschriebene Auswertemethode der bildgebenden Infrarotspektroskopie funktioniert gut für starre Kamera und Bildszenen. Sobald sich jedoch Objekte im Bild bewegen, werden diese im Quotienten-Bild (vgl. Gl. 1) als falsche Gassignale interpretiert. Hier kann die in jeder Bild-Sequenz zusätzlich aufgenommene Hintergrundinformation nebst der Adaption an heterogene Infrarotreflektoren einen weiteren Zweck erfüllen.

Anhand von jeweils zwei sequentiellen Hintergrundbildern kann der Bereich der Objekt-Trajektorie in Echtzeit ausmaskiert werden. Das Vorgehen ist in Abb. 4 dargestellt. Die beiden Hintergrundbilder werden mittels Absolutdifferenz und Binarisierungs-Threshold zu einer Maske verrechnet. Diese wird mit auf die erkannten Gasinformation angewendet und Falschinformationen durch bewegte Objekte werden vermieden.

Ergebnisse

Abb. 5 Es sind beispielhaft fünfzehn Frames aus einem Video, mit einem aus einem Schlauch austretendem Methanleck dargestellt. Die Infrarotinformation ist in schwarz-weiß visualisiert. Methan ist in Blau überlagert, wobei die Transparenz bzw. Opazität die Säulenkonzentration in ppm*m wiederspiegelt. Rot überlagert ist der maskierte Bereich, in dem Falschinformationen im Quotientenbild identifiziert wurden. zeigt eine aufgenommene Bildsequenz eines künstlichen Methan-Lecks. Der Gasfluss

betrug 40 ml/min bei 100% CH_4. Das Methan strömte aus einem Gasschlauch. Ein bewegtes Objekt wurde durch die Hand, welche den Gasschlauch hielt. In rot ist der als „bewegtes Objekt“ erkannte Bereich überlagert. In den Frames 76 bis 84 ist zu sehen, dass die Infrarotstrahlung der Hand, welche vom Hintergrund reflektiert wird, ebenfalls zu Signalen im Quotienten- bzw. Differenzbild führt und hier ausmaskiert wird. Blau überlagert ist Methan. Dabei stellt die Opazität die Säulenkonzentration dar.

Zusammenfassung und zukünftige Arbeiten

Ein Aufbau und zur Echtzeit Methan-Visualisierung und Quantifizierung mittels aktiver Infrarot-Bild-Spektroskopie ist realisiert. Dabei kommt eine auf [2] beruhende, hier jedoch erweiterte Quantifizierungsmethodik zum Einsatz. Bei einem Gasfluss von 40 ml/min werden Methanlecks klar visualisiert und quantifiziert. Bewegt Objekte im Bild führen nicht zu Falschinformationen.

Basierend auf diesen Daten sind weitere Verarbeitungsschritte geplant, um zusätzliche Informationen zu erhalten. Beispielhaft sei hier die Sensor-Fusion mit RGB und Tiefendaten genannt, um für Menschen intuitivere Bilder darzustellen. Weiterhin kann hiermit die Genauigkeit der Methan Quantifizierung durch Herausrechnen von Umgebungsmethan verbessert werden.
Auch bleibt die Anwendbarkeit der aktiven Gasvisualisierung auf weniger guten Infrarotreflektoren zu zeigen, sowie die Messdistanz zu erhöhen. Ein Ansatz, der dies potenziell erfüllen könnte, wäre ein „Methan- Scanner“ der mit einem fokussierten Laserstrahl das Sichtfeld in einem Raster abfährt.

Literatur

[1] K. J. Nutt, N. Hempler, G. T. Maker, G. P. A. Malcolm, M. J. Padgett, and G. M. Gibson, “Developing a portable gas imaging camera using highly tunable active-illumination and computer vision,” *Opt. Express*, vol. 28, no. 13, p. 18566, Jun. 2020, doi: 10.1364/OE.389634.

[2] T. Strahl, J. Herbst, A. Lambrecht, E. Maier, J. Steinebrunner, and J. Woellenstein, “Methane leak detection by tunable laserspectroscopy and mid-infrared imaging,” *Appl. Opt.*, Mar. 2021, doi: 10.1364/AO.419942.

[3] J. Titchener, D. Millington-Smith, C. Goldsack, G. Harrison, X. Ai, and M. Reed, “Single Photon Lidar Gas Imagers for Practical and Widespread Continuous Methane Monitoring,” p. 23.

[4] “The HITRAN2020 molecular spectroscopic database - ScienceDirect.” https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022407321004416?via%3Dihub (accessed Oct. 29, 2021).

DOI 10.5162/15dss2021/4.4

Impedimetrischer Biofilm-Inlinesensor

Annekatrin Delan[1], Michael Becker[2], Michael Boer[2], Klaus Liefeith[3], Marion Frant[3], Jürgen Rost[3], Uwe Schirmer[3], Christian Pietsch[4],Daniel Glöß[5], Margarita Günther[1] und Gerald Gerlach[1]

[1]Institut für Festkörperelektronik, Technische Universität Dresden, 01062 Dresden/Deutschland
[2]4H-JENA engineering GmbH, 07745 Jena/Deutschland
[3]Institut für Bioprozess- und Analysenmesstechnik e.V., 37308 Heilbad Heiligenstadt/Deutschland
[4]3Faktur GmbH, 07745 Jena/Deutschland
[5]Fraunhofer-Institut für Organische Elektronik, Elektronenstrahl- und Plasmatechnik, 01277 Dresden/Deutschland
Kontakt: margarita.guenther@tu-dresden.de

Einleitung

Bakterielle Kontaminationen in wasserführenden Systemen stellen ein großes Problem insbesondere für die menschliche Gesundheit dar. Selbst in Trinkwasseranlagen mit einem nur reduzierten Angebot an Nährstoffquellen werden regelmäßig Bakterien nachgewiesen. Prophylaktische Maßnahmen, z.B. durch Desinfektion der Trinkwasseranlagen oder periodisches Molchen von Kühlwassersystemen, sind mit Kosten und Betriebsunterbrechungen verbunden [1]. Die Detektion von Bakterien kann mit traditionellen analytischen Methoden präzise und sensitiv durchgeführt werden [2]. Allerdings erfordern diese Methoden speziell ausgestattete Labore, geschultes Personal und einen Transport der Proben ins Labor, wodurch diese Analysen zeitaufwendig und teuer werden.

Für die Inline-Überwachung der Qualität des Wassers in Leitungssystemen bezüglich der Kontamination mit Bakterien einschließlich Krankheitserregern sowie der damit verbundenen Bildung von Biofilmen sind daher Biosensoren, welche den schnellen sowie kostengünstigen Nachweis geringster Biofilmmengen ermöglichen, von großem Interesse. Hier stellen wir einen neuartigen impedimetrischen Biosensor vor, der mittels Impedanzmessung das Aufwachsen eines Biofilmes am bzw. im porösen Substratmaterial detektiert.

Methoden und Materialien

Aufbau der Durchflusseinheit

Abb. 1 zeigt den Aufbau des impedimetrischen Sensors und seine Integration in die zu überwachende Rohrleitung. Der Sensor befindet sich dabei in einem Bypass, um so den Hauptstrom des wasserführenden Rohrleitungssystems möglichst gering zu beeinflussen (Abb. 1a). Zur Detektion des Bewuchses ist der Sensor als Zweikanalsystem (4H-JENA engineering GmbH, Jena, Deutschland) ausgeführt. Im Messkanal befindet sich eine Substratfalle aus 3D-Strukturen (3Faktur GmbH, Jena, Deutschland) (Abb. 1b). Der Referenzkanal ist ohne bzw. mit Substratfalle. Die zwei Elektrodenplatten (jeweils mit zwei Ringelektroden, Durchmesser 19 mm, Breite 2 mm; Abb. 1c) und eine 10 mm dicke Trennplatte dazwischen

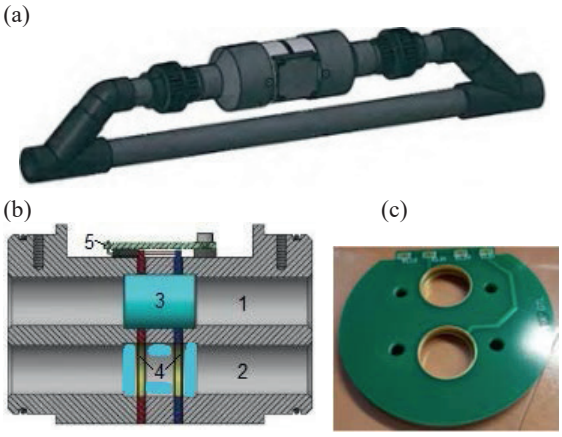


Abb. 1: Bypasslösung (a) mit Zweikanalsystem (b) und zwei Elektrodenplatten (c): 1-Messkanal, 2-Referenzkanal, 3-Substratfalle, 4-Elektrodenplatten (Abstand zwischen zwei Elektrodenplatten 10 mm), 5-elektronische Auswerteeinheit (4HJE-Platine)

sind in der Durchflusseinheit platziert.

Die Platine mit der Auswerteelektronik (Schaltung der Firma 4H-JENA engineering GmbH, Jena, Deutschland) liegt am Außenmantel des Sensorträgers und kommt nicht mit dem zu überwachenden Wassermilieu in Kontakt.

Die Impedanzmessung selbst basiert auf einem Vergleich der Messsignale in beiden Kanälen. Die Messlösungen wurden durch die beiden Kanäle mit einer Geschwindigkeit von 0,9 ml/min mithilfe einer 4-kanäligen Peristaltikpumpe REGLO Digital MS-4/12 (ISMATEC, Cole-Parmer GmbH, Deutschland) gepumpt.

4HJE-Schaltung

Die 4HJE-Schaltung dient der Impedanzmessung bei einer Frequenz von 110 kHz, wobei die Frequenz über einen LC-Schwingkreis erzeugt wird. Der Ausgang des Schwingkreises geht auf eine spannungsgesteuerte Stromquelle.

Ein Mikrocontroller misst die Effektivspannung, welche benötigt wird, um den Konstantstrom von 1 mA durch den Sensor zu treiben. Je leitfähiger das Medium wird (z.B. bei Bewuchs), umso kleiner werden

die Werte der Effektivspannung. Die Schaltung befindet sich in doppelter Ausführung auf einer Leiterplatte, um jeweils beide Kanäle zu messen.

Die beiden Kanäle werden nacheinander und getrennt mit einer Abtastzeit von 2 s gemessen. Der Mikrocontroller misst die Signale beider Kanäle, bildet ein Differenzsignal und gibt dieses über eine serielle Schnittstelle aus.

Poröse Substratfallen

Zielstellung für das Design der Substratfalle ist ein poröses 3D-Substratmaterial mit einer fluidmechanisch optimierten Struktur für die permanente Rückhaltung von zirkulierenden Bakterien durch Akkumulation in einem Biofilm. Es sind Substratgeometrien anzustreben, deren Porendurchmesser minimal 300 µm beträgt bei gleichzeitiger Aufrechterhaltung einer notwendigen Durchflussrate. Dabei gilt es, einen optimalen Kompromiss zwischen fluidisch optimierter 3D-Struktur und der technologischen Realisierbarkeit mittels 3D-Druck zu evaluieren.

Das Design der Substratfalle beruht auf numerischen Fluidik-Simulationen verschiedener Mikrostrukturen [3]. Als designspezifische Parameter gingen die Permeabilität, die Oberflächenvergrößerung, das Porengrößenverhältnis und der Wandscherstress ein.

Die Bestimmung der topografischen und physikochemischen Oberflächenparameter erfolgte am unbeschichteten Ausgangsmaterial (Polyamid 12 bzw. PA12). Auf der Basis von Kontaktwinkelmessungen wurde die erwartete Hydrophobizität (Wasserkontaktwinkel 88,8°) und eine nahezu unpolare Oberflächenspannung (gesamt 55,96 mN/m, Polarität 0,01%) bestimmt. Zetapotenzialmessungen, basierend auf der Bestimmung des Strömungspotenzials, zeigten eine schwach negativ geladene Oberfläche. Die Oberflächentopografie wurde mittels Weißlichtinterferometrie untersucht und zeigte vergleichsweise raue Oberflächen (Rautiefe R_a = 7,7 µm).

In vitro-Bioadhäsionstests mit 2D-Oberflächen und 3D-Strukturen wiesen nach, dass das Substrat PA12 sehr gut zur Adhäsion von Bakterien geeignet ist. Es bildet sich bei andauernder Inkubation ein massiver Biofilm. Die Bakterien wurden mit Syto9 (Thermo Fisher Scientific) gefärbt. Die Biofilmbildung wurde mithilfe eines Fluoreszenz-Konfokalmikroskops (LSM 710, Zeiss) analysiert. Zur initialen Adhäsion vor der Biofilmbildung wurde die *E. coli*-Bakteriensuspension in PBS in einer Fließzelle unter dynamischen Kultivierungsbedingungen für 6 h in Kontakt mit den Proben gebracht. Nach der Initialadhäsion wurde die Bakteriensuspension durch Kultivierungsmedium ersetzt und die Proben unter gleichen Bedingungen für die angegebenen Zeiten inkubiert.



Abb. 2: Poröse Substratfalle mit Gyroid-Struktur

Die Substratfallen mit porösen (Porosität 82%) Gyroid-Strukturen (Zylinder, Durchmesser 18,5 mm, Länge 27 mm, Wandstärke 0,4 mm, s. Abb. 2) wurden mittels eines pulverbasierten additiven 3D-Druckverfahrens „Multi Jet Fusion“ aus Polyamid 12 (Material „HP 3D Reusability PA12“) hergestellt.

Die frequenzabhängige Dielektrizitätskonstante des porösen PA12 wurde anhand der Messungen von Impedanzspektren mittels eines Impedanzspektrometers Sciospec ISX-3v2 (Sciospec, Bennewitz, Deutschland) bestimmt und betrug 2,1 bei 50 Hz.

Die Dielektrizitätskonstante des Vollmaterials PA12 wurde an PA12-Folien (Durchmesser 150 mm, Dicke 0,3 mm) gemäß den Normen IEC 6025 und 62631 im Frequenzbereich von 10 Hz bis 1 MHz mittels eines Impedanzanalysators Solartron SOSL 1260 bestimmt. Sie lag im Bereich von 1,5 bis 1,7.

Messlösungen

Die Funktionalität des Sensors wurde in synthetischem Trinkwasser (sTW), in R2A-Wachstumsmedium und in Leitungswasser (LW) getestet.

Synthetisches Trinkwasser wurde mit 358,5 mg/l Calciumsulfat Dihydrat, 95,5 mg/l Magnesiumchlorid Hexahydrat, 34,6 mg/l Calciumchlorid Dihydrat, 42,0 mg/l Natriumbicarbonat (Sigma-Aldrich), 2,15 mg/l D(+)-Glukose (Roth, Deutschland) und 2,0 mg/l Pepton (Millipore, Deutschland) vorbereitet.

Das R2A-Medium enthält 0,5 g/l Hefe-Extrakt, 0,5 g/l Proteose Pepton, 0,5 g/l Caseinhydrolysat (Millipore, Deutschland), 0,5 g/l Glukose, 0,5 g/l lösliche Stärke, 0,3 g/l Natriumpyruvat, 0,3 g/l Dikaliumhydrogenphosphat und 0,05 g/l Magnesiumsulfat (Sigma-Aldrich).

Die Leitfähigkeit der vorbereiteten Messlösungen wurde mithilfe des Leitfähigkeitsmessers Seven Compact S230 (Mettler Toledo, Deutschland) ermittelt und betrug bei einer Temperatur von 22 °C für synthetisches Trinkwasser und für R2A-Medium 662 µS/cm bzw. 1375 µS/cm. Der Leitfähigkeitswert des Leitungswassers betrug 150 µS/cm.

Impedanzmessung

Die Impedanzmessung erfolgte mittels eines Impedanzspektrometers ISX-3v2 (Sciospec, Bennewitz, Deutschland), das mit den Elektroden verbunden ist.

Durch den Multiplexer ist es möglich, die beide Kanäle (Mess- und Referenzkanal) parallel zu betreiben. Dabei wurde eine 4-Punkt-Messung angewendet, da es den Einfluss der Zuleitungen und Kontakte auf die Impedanz der Probe minimiert. Die Impedanzspektren wurden über einen Frequenzbereich von 0,1 Hz bis 10 MHz mit einer Amplitude von 250 mV aufgenommen. Die Temperatur wurde mit einem Temperatursensor LM61CIZ (Texas Instruments Inc., Dallas, Texas, USA) kontrolliert.

Fluoreszenzmikroskopie

Die Substratfallen wurden einzeln in ein Gläschen für den Ultraschall überführt, welches 12 ml PBS enthält. Die Fluoreszenzmarkierung erfolgte mit Baclight® (Thermo Fisher Scientific). Die Einzelbilder wurden im Anschluss mit einem Fluoreszenz-Konfokalmikroskop (LSM 710, Zeiss) bei einer 5- bzw. 20-fachen Vergrößerung aufgenommen. Dabei erfolgten Einzelaufnahmen sowie mittels der „Tile Scan"-Funktion die Aufnahme von 3D-Ansichten eines Ausschnittes der Substratfalle. Im Tile Scan wurden mehrere (6x3) Bilder bei einer 5-fachen Vergrößerung zusammengefügt.

Quantifizierung

Zur Bestimmung der Lebend- bzw. Tot-Zellen erfolgte eine Ultraschallvorbehandlung, um alle anhaftenden Mikroorganismen zu lösen. Dazu wurden die Substratfallen einzeln in ein Gläschen überführt, welches 12 ml PBS enthält. Mit der Einstellung von 100% am Ultraschall-Gerät (Bandelin Sonorex RK510H, Berlin, Deutschland) wurden die Proben für 10 min mit Ultraschall belastet. Anschließend erfolgte die Fluoreszenzmarkierung mit Baclight®. Die Konzentrationen der abgelösten Bakterien wurden mit einer Neubauer-Zählkammer ermittelt. Dazu erfolgte eine Vierfachmessung und die Lebend/Tot-Bestimmung.

Ergebnisse und Diskussion

Die Erfassung der Effektivspannung *U* der beiden Kanäle mittels der 4HJE-Schaltung und die Aufnahme der Impedanzspektren wurden innerhalb von 116 h parallel durchgeführt. Zum Vergleich sind die Messergebnisse für die PA12-Substratfalle 1 im R2A-Medium (Kanal 1) und für die PA12-Substratfalle 2 in synthetischem Trinkwasser (Referenzkanal 2) in Abb. 3 dargestellt. Gezeigt sind die Werte des Impedanzbetrages |Z| bei einer Frequenz von 100 kHz, ermittelt vom zeitlichen Verlauf der Impedanzspektren.

Nach dieser 116-stündigen Langzeitmessungen wurden beide Substratfallen der Durchflusseinheit entnommen, mit Baclight® markiert und mithilfe der Fluoreszenzaufnahmen analysiert, um eine Biofilmbildung nachzuweisen (Abb. 4 und 5).

Die fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen weisen die Mikroorganismen auf beiden Substratfallen

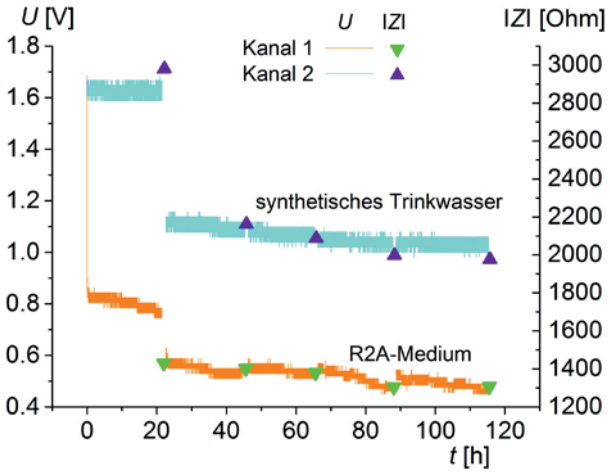


Abb. 3: Änderung des Signals *U* der 4HJE-Platine mit der Zeit für zwei Kanäle: Kanal 1 mit PA12-Substratfalle 1 im R2A-Medium und Kanal 2 mit PA12-Substratfalle 2 in synthetischem Trinkwasser sowie entsprechende Werte des Impedanzbetrages IZI bei einer Frequenz von 100 kHz für eine parallele Messung mit 4HJE-Platine und Impedanzspektrometer

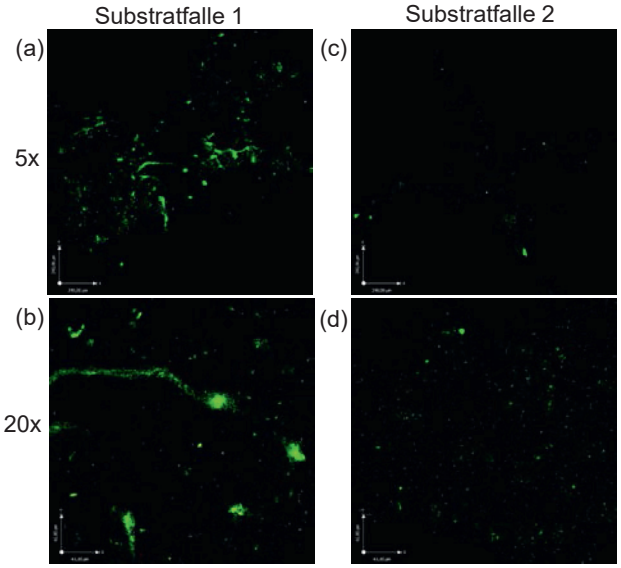


Abb. 4: Bildung eines Biofilms auf der Substratoberfläche nach 116-stündiger Langzeitmessungen im R2A-Medium (a), (b) (Substratfalle 1) und in synthetischem Trinkwasser (c), (d) (Substratfalle 2). Die Bakterien wurden mit Baclight® fluoreszenzmarkiert. In Einzelaufnahmen (a) und (c) ist der Biofilm in 5-facher, in (b) und (d) in 20-facher Vergrößerung dargestellt. Die Maßstäbe entsprechen 240 µm bzw. 61 µm.

nach. Die Substratfalle 1 zeigt dabei eine stärkere Besiedlung im Biofilm im R2A-Wachstumsmedium, wobei diese gleichmäßig über die Oberfläche verteilt ist. Die anschließende Quantifizierung der abgelösten Organismen bestätigt diesen Befund (Abb. 6). Die Präsenz von Mikroorganismen auf der Substratfalle 2

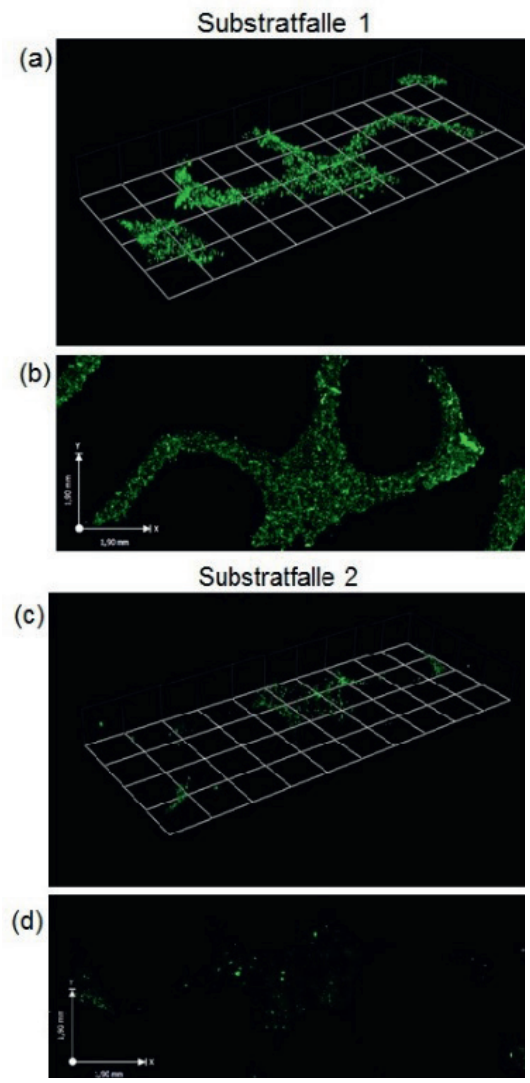


Abb. 5: 3D-Fluoreszenzaufnahmen nach 116-stündiger Langzeitmessungen im R2A-Medium für Substratfalle 1 (a), (b) und in synthetischem Trinkwasser für Substratfalle 2 (c), (d) mit 5-facher Vergrößerung. Der Maßstab entspricht 1,9 mm.

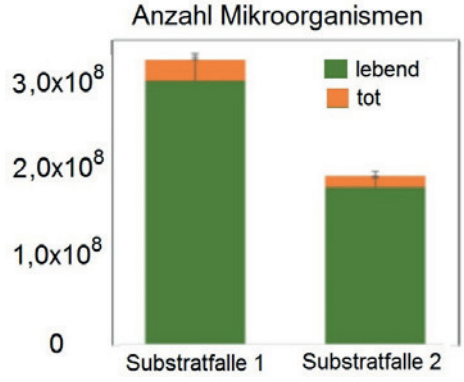


Abb. 6: Anzahl der von Substratfallen 1 und 2 abgelösten lebenden bzw. toten Bakterien, ermittelt mithilfe einer Neubauer-Zählkammer. Die Mikroorganismen wurden mit Baclight® fluoreszenzmarkiert.

kann durch eine unsterile Behandlung mit Leitungswasser erklärt werden.

Zusammenfassung

Die impedimetrische und fluoreszenzmikroskopische Charakterisierung des vorgestellten Messaufbaus hat gezeigt, dass eine permanente Überwachung wasserführender Rohrleitungssysteme mit einem neuartigen Schwellwert-Sensor zum Nachweis des Bewuchses mit Biofilmen auf Basis der Auswertung von frequenzabhängigen elektrischen Signalen möglich ist. Für die Funktionalität des entwickelten Sensorkonzeptes gelten daher zunächst zwei grundlegende Anforderungen: (i) Der Inline-Sensor erlaubt auf Basis der Impedanzmessung einen geeigneten Informationsoutput als Ampelkriterium. (ii) Das Differenzsignal der Impedanzmessung erlaubt die Detektion des Wachstums von Biofilmen.

In den bisher realisierten Arbeiten wurde ein entsprechendes Sensorkonzept konstruktiv umgesetzt, welches ein Zweikanalsystem nutzt. Mittels der integrierten Elektronik wurden Testmessungen unter *in vitro*-Bedingungen durchgeführt. Referenzierte Messungen an Substratfallen und biologisch simulierten Bedingungen sowohl mit als auch ohne bakterielle Besiedlung verdeutlichten, dass mittels der impedimetrischen Messung eine Schwellenwertaussage bezüglich der bakteriellen Besiedlung möglich ist.

Literatur

[1] DVGW, *Desinfektion von Trinkwasser-Installationen.* twin, 2009, Nr. 05, S. 1-2

[2] FRANT, M. ; SCHADE, R. ; LIEFEITH, K.: Entwicklung klinisch validierter in vitro-Testsysteme auf der Basis mikrobiologischer Infektionsmodelle für die Prüfung von Implantatwerkstoffen. In: *BIOmaterialien* 11 (2010), S. 59

[3] ALI, D. ; OZALP, M. ; BLANQUER, S. ; ONEL, S.: Permeability and fluid flow-induced wall shear stress in bone scaffolds with TPMS and lattice architectures: A CFD analysis. In: *European Journal of Mechanics / B Fluids* 79 (2020), S. 376-385

Danksagung

Die Autoren danken dem Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (BMWi) für die Förderung des ZIM-Verbundprojektes „Entwicklung eines Inline-Sensors zur permanenten Kontrolle und Beurteilung der Ausbildung und Entwicklung von Biofilmen in wasserführenden Rohrleitungssystemen (Inline-Biofilm-Sensor)“ (FKZ ZF4190805MD9, ZF4674402MD9, ZF4115804MD9 und ZF4019608MD9).

DOI 10.5162/15dss2021/4.5

Die Pulveraerosoldepositionsmethode - ein neues Verfahren zur Herstellung dichter Sensorschichten bei Raumtemperatur

Ralf Moos
Lehrstuhl für Funktionsmaterialien, Universität Bayreuth, Bayreuth, Deutschland
Kontakt: Funktionsmaterialien@uni-bayreuth.de

Problemstellung

Für Sensoren werden oft funktionskeramische Schichten benötigt. Da diese üblicherweise bei Sintertemperaturen über 1000 °C hergestellt werden, lassen sich kaum Keramiken mit niedrigschmelzenden Metallen, Gläsern oder Polymeren verbinden. Komplexere Funktionskeramiken lassen sich oft gar nicht erst herstellen, da sie sich zersetzen bevor sie verdichten.

Das PAD-Verfahren

Mit der Pulveraerosoldepositionsmethode (PAD) lassen sich dichte keramische Schichten ohne Hochtemperaturprozess direkt aus dem Ausgangspulver auf fast beliebige Substratmaterialien aufbringen. Dazu wird ein Pulveraerosol erzeugt und in ein Prozessgas geleitet. Das Aerosol wird durch eine Druckdifferenz vom Aerosolerzeuger in eine Vakuumkammer befördert, wo es durch eine Düse auf etwa Schallgeschwindigkeit beschleunigt und auf ein zu beschichtendes Substrat gelenkt wird (Abb. 1). Dabei können fest anhaftende Schichten von etwa 1 µm bis ca. 100 µm Dicke erzeugt werden. Die Funktionseigenschaften der erzeugten Schicht entsprechen in etwa denen des Ausgangsmaterials. Der Schichtbildungsmechanismus ist allerdings noch nicht völlig verstanden. Es wird angenommen, dass durch die große kinetische Energie die submikrometergroßen Partikel beim Aufprall auf das Substrat in nanometergroße Bruchstücke zerbrechen. Zunächst bildet sich eine Ankerschicht auf dem Substrat aus, danach kommt es zu einem kontinuierlichen Schichtaufbau bei gleichzeitiger Verdichtung („Hammering“) [1-3].

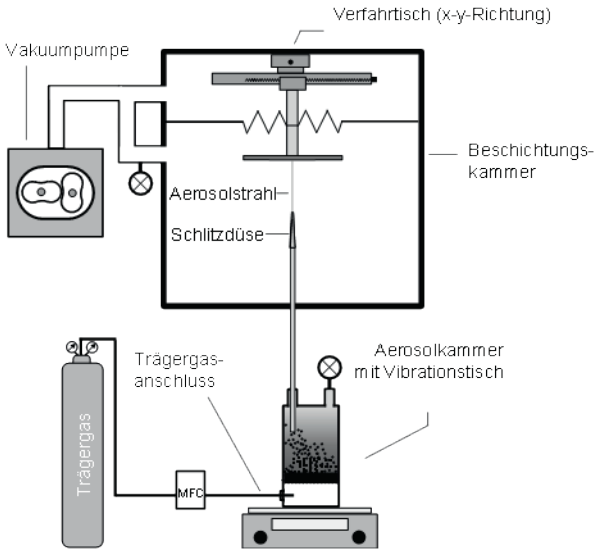


Abb. 1: Typischer Aufbau einer PAD-Anlage. Die aerosolerzeugende Einheit kann aus einer Rüttelflasche bestehen (einfacher Laboraufbau). Es können aber auch Pulveraerosolerzeuger verwendet werden, wie sie in der Partikeltechnik üblich sind.

Anwendungen

Im Folgenden sollen zwei Anwendungsbeispiele aus dem Gebiet der Sensorik vorgestellt werden. Einerseits handelt es sich um NTC-Widerstände und anderseits um temperaturunabhängig resistive Sauerstoffsensoren.

Mit dem PAD-Verfahren hergestellte NTC-Widerstände

Auf Manganspinellen mit Zusätzen von Nickel und Kobalt basierende NTC-Widerstände sind bereits seit vielen Jahrzehnten auf dem Markt. Bis ca. 250 °C besitzen NTC-Thermistoren einige Vorteile. Zum Beispiel existiert ein breites Spektrum an verfügbaren Widerstandswerten (1kΩ bis 1 MΩ). Der betragsmäßig große Temperaturkoeffizient (-20.000 $ppmK^{-1}$ bis -60.000 $ppmK^{-1}$; z. Vgl. Pt: +3.850 $ppmK^{-1}$) erlaubt Messungen von Temperaturdifferenzen <0,1 mK ohne großen schaltungstechnischen Aufwand.

In der Großserie stellt man NTC-Widerstände über klassische keramische Verfahren her. Dieser Gesamtprozess ist teuer und wenig flexibel. Die mechanische Bearbeitung setzt der Miniaturisierung Grenzen, weswegen mittels Schichtverfahren hergestellte Bauelemente von großem Interesse sind.

Hier bietet sich das oben beschriebene PAD-Verfahren an. Im ersten Schritt werden in klassischer Mischoxidtechnik $NiMn_2O_4$-Pulver mit kubischer Spinellstruktur hergestellt und durch Mahlen, Trocknen und Sieben so präpariert, dass sie sich danach gut im PAD-Prozess verarbeiten lassen. Mechanisch stabile, gut haftende, ca. 1 µm dicke und homogene keramische Schichten mit kubischer Spinellstruktur lassen sich sehr gut abscheiden. Aufgrund der nanokristallinen Schichtstruktur und der vorhandenen Mikrodehnungen liegen die charakteristischen Kenngrößen NTC-Widerstände (ρ_{25} und B) zunächst etwas über denen von gesinterten Bulkkeramiken. Ein mildes nachträgliches Tempern der Schicht sorgt dafür, dass sich die Werte der $NiMn_2O_4$-Bulkkeramik wieder einstellen.

Hergestellt wurden Bauelemente der Chip-Baugröße 1206 (3,2 mm x 1,6 mm), wie in Abb. 2 gezeigt.

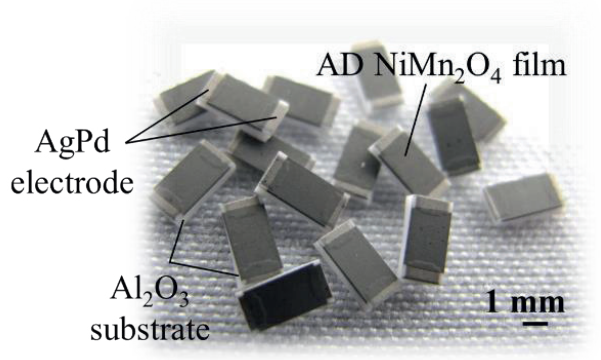


Abb. 2: NTC-Temperatursensoren bestehend aus einem Aluminiumoxidsubstrat, AgPd-Siebdruckelektroden und einer $NiMn_2O_4$-NTC-Schicht, die mittels der PAD hergestellt wurde (aus [4]).

Die *B*-Werte streuten lediglich um max. ± 0,5 %, was den angestrebten Toleranzbereich von ≤ 1 % deutlich übertraf. Beim R_{25}-Wert konnte eine Toleranz von ± 10 % erreicht werden. Exakt passende Werte erhielt man danach nach einem Laserabgleich. Besonders vorteilhaft hat sich ein nachträgliches Tempern bei 400 °C herausgestellt, da sich dadurch auch die Alterungsstabilität der Schichten signifikant verbessert hat.

Weitere Details finden sich in den Arbeiten [5-8].

Mittels dem PAD-Verfahren hergestellte temperaturunabhängige resistive Sauerstoffsensoren.

Neben konventionellen konduktometrischen Gassensoren Sensoren aus SnO_2 und anderen Metalloxiden zum Nachweis umweltschädlicher oder gefährlicher Substanzen, werden auch temperaturunabhängige resistive Sauerstoffsensoren diskutiert. Anwendung finden solche Sensoren in der Regelung und Überwachung von Verbrennungsprozessen bzw. deren Abgasnachbehandlungseinrichtungen. Mit Hilfe des PAD-Verfahrens wurde z.B. $SrTi_{1-x}Fe_xO_3$ [9] oder $BaFe_{1-x}Ta_xO_3$ (BFTx) eingesetzt [10]. Die simultane Co-Deposition von inerten und Sensorwerkstoffen bietet weitere vielversprechende Perspektiven zur Feinabstimmung der Sensoreigenschaften [11].

Eine etwas verbesserte Formulierung von BFT enthält 1 mol% Al_2O_3 als Dotierstoff (BFATx). Unter den untersuchten BFATx-Proben wurden besonders gute Eigenschaften in Bezug auf die Temperaturunabhängigkeit des spezifischen Widerstandes für BFAT25 ($BaFe_{0.74}Al_{0.01}Ta_{0.25}O_3$) gefunden. Abb. 3 zeigt ein typisches Messprotokoll bei 900 °C. Dargestellt ist der Logarithmus der Leitfähigkeit (log σ) einer BFAT30-Schicht, die mit dem PAD-Verfahren hergestellt wurde. Das Material reagiert schnell und reproduzierbar auf den sich ändernden Sauerstoffpartialdruck (pO_2). Abbildung 4 zeigt die doppelt logarithmische Darstellung der Leitfähigkeit gegen den Sauerstoffpartialdruck des Sensors zwischen 600 °C und 900 °C im Sauerstoffpartialdruckbereich von 10 bis 1000 mbar.

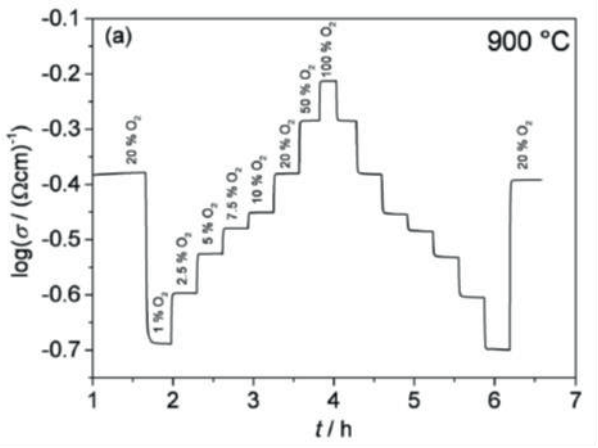


Abb. 3: Sensorsignal (Leitfähigkeit der Schicht σ) eines temperaturunabhängigen Sauerstoffsensors aus einem PAD-Film aus BFAT30. Aus [12].

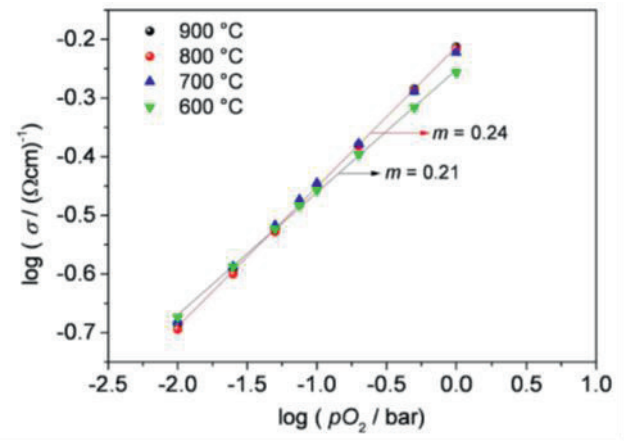


Abb. 4: Doppellogarithmischer Auftrag der Leitfähigkeit σ gegen den Sauerstoffpartialdruck pO_2 für einen PAD-beschichteten BFAT30-Sensor. Man beachte, dass die Kurven von 700, 800 und 900 °C sich kaum unterscheiden. Aus [12].

Weder die Empfindlichkeit gegenüber Sauerstoff (Steigung der Kennlinie) noch der Grundwiderstand ändern sich mit der Temperatur. Zwischen 700 °C und 900 °C hängt log σ linear von log pO_2 mit einer Steigung *m* von 0,24 ab.

Sogar ein kombinierter resistiver und thermoelektrischer Sauerstoffsensor mit nahezu temperaturunabhängigen Eigenschaften sowohl der Leitfähigkeit als auch des Seebeck-Koeffizienten konnte hergestellt werden. Solch ein dualer thermoelektrisch-resistiver Sauerstoffsensor mit nahezu temperaturunabhängigen Eigenschaften beider Messgrößen wurde mit Hilfe von BFAT30 [13] auf einem Transducer abgeschieden, der eine Heizung, Äquipotentialschichten und Elektrodenstrukturen umfasst.

Auch fast alle anderen Metalloxidschichten können mit dem PAD-Verfahren bei Raumtemperatur aufgebracht

werden. So zeigt klassisches Zinnoxid, wenn es auf Interdigitalelektroden abgeschieden wird, erwartungsgemäß eine ausgeprägte Empfindlichkeit auf Stickoxide bei etwa 300 °C und auf Wasserstoff bei etwa 450 °C [14].

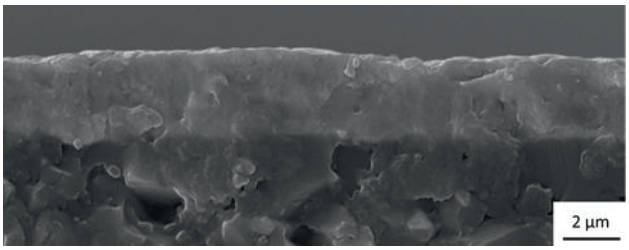


Abb. 5: Typische REM-Aufnahme (Bruch) einer keramischen Sensorschicht (hier: oxidionenleitendes Bismut-Vanadat), die im PAD-Verfahren hergestellt wurde. Der PAD-Film (weniger dunkel) ist dicht und weist eine ausgezeichnete Verbindung mit dem Aluminiumoxid-Substrat auf. Aus [1].

Die Pulveraerosoldepositionsmethode kann auch zur Herstellung elektrochemischer Gassensoren mit festen Elektrolyten verwendet werden. Ein Beispiel für einen typischen Stickoxidsensor nach der neuartigen Puls-Polarisations-Methode, die in jüngster Zeit mit YSZ als Festelektrolyt viel Aufmerksamkeit erregt hat, ist in [15] gezeigt. Verwendet man einen Sauerstoffionenleiters auf Bismut-Vanadat-Basis mit höherer Ionenleitfähigkeit kann der Sensor sogar bei noch niedrigeren Temperaturen betrieben werden. Der Aufbau ist in Abb. 4 gezeigt.

Fazit

Mit dem PAD-Verfahren ist es möglich, keramische Gassensorschichten ganz ohne Hochtemperaturprozess direkt aus einem keramischen Ausgangspulver auf fast jedem Substratmaterial herzustellen. Sogar Temperatursensoren können aufgebracht werden.

Zukünftige Arbeiten, die die Herstellung von Sensoren auf Polymer- oder Textilsubstraten zum Inhalt haben, sind bereits geplant.

Danksagung

Diese Übersichtsarbeit baut auf Beiträgen der gesamten PAD-Forschungsgruppe am Lehrstuhl für Funktionsmaterialien auf. Ganz herzlichen Dank für die tolle Arbeit!

Literatur

[1] D. Hanft, J. Exner, M. Schubert, T. Stöcker, P. Fuierer, R. Moos: An Overview of the Aerosol Deposition Method: Process Fundamentals and New Trends in Materials Applications, *Journal of Ceramic Science and Technology*, 6, 147-182 (2015), doi: 10.4416/JCST2015-00018

[2] J. Exner, T. Nazarenus, D. Hanft, J. Kita, R. Moos: What Happens during Thermal Post-Treatment of Powder Aerosol Deposited Functional Ceramic Films? Explanations Based on an Experiment-Enhanced Literature Survey, *Advanced Materials*, 32, 1908104 (2020), doi: 10.1002/adma.201908104

[3] J. Exner, M. Schubert, D. Hanft, J. Kita, R. Moos: How to treat powders for the room temperature aerosol deposition method to avoid porous, low strength ceramic films, *Journal of the European Ceramic Society*, 39, 592-600 (2019), doi: 10.1016/j.jeurceramsoc.2018.08.008

[4] M. Schubert, D. Hanft, T. Nazarenus, J. Exner, M. Schubert, P. Nieke, P. Glosse, N. Leupold, J. Kita, R. Moos: Powder aerosol deposition method — novel applications in the field of sensing and energy technology, *Functional Materials Letters*, 12, 1930005 (2019), doi: 10.1142/S1793604719300056

[5] M. Schubert, C. Münch, S. Schuurman, V. Poulain, J. Kita, R. Moos, Thermal Treatment of Aerosol Deposited $NiMn_2O_4$ NTC Thermistors for Improved Aging Stability, *Sensors*, 18, 3982 (2018), doi: 10.3390/s18113982

[6] M. Schubert, C. Münch, S. Schuurman, V. Poulain, J. Kita, R. Moos, Characterization of Nickel Manganite NTC thermistor films prepared by Aerosol Deposition at room temperature, *Journal of the European Ceramic Society*, 38, 613-619 (2018), doi: 10.1016/j.jeurceramsoc.2017.09.005

[7] M. Schubert, J. Kita, C. Münch, R. Moos, Analysis of the characteristics of thick-film NTC thermistor devices manufactured by screen-printing and firing technique and by room temperature aerosol deposition method (ADM), *Functional Materials Letters*, 10, 1750073 (2017), doi: 10.1142/S1793604717500734

[8] M. Schubert, Aerosolbasierte Kaltabscheidung für die Herstellung von schichtbasierten NTC-Thermistorbauteilen. In: R. Moos, G. Fischerauer (Hrsg.), Bayreuther Beiträge zur Sensorik und Messtechnik, Bd. 29, Shaker-Verlag, Düren (2019), ISBN: 978-3-8440-7041-5

[9] K. Sahner, M. Kaspar, R. Moos, Assessment of the novel aerosol deposition method for room temperature preparation of metal oxide gas sensor films, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 139, 394-399 (2009), doi: 10.1016/j.snb.2009.03.011

[10] M. Bektas, D. Schönauer-Kamin, G. Hagen, A. Mergner, C. Bojer, S. Lippert, W. Milius, J. Breu, R. Moos, $BaFe_{1-x}Ta_xO_{3-\delta}$ - A material for temperature independent resistive oxygen sensors, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 190, 208-213 (2014), doi: 10.1016/j.snb.2013.07.106

[11] J. Exner, M. Schubert, D. Hanft, T. Stöcker, P. Fuierer, R. Moos, Tuning of the electrical conductivity of $Sr(Ti,Fe)O_3$ oxygen sensing films by aerosol co-deposition with Al_2O_3, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 230, 427-433 (2016), doi: 10.1016/j.snb.2016.02.033

[12] M. Bektas, D. Hanft, D. Schönauer-Kamin, T. Stöcker, G. Hagen, R. Moos, Aerosol-deposited $BaFe_{0.7}Ta_{0.3}O_{3-\delta}$ for nitrogen monoxide and temperature-independent oxygen sensing, *Journal of Sensors and Sensor Systems*, 3, 223-229 (2014), doi: 10.5194/jsss-3-223-2014

[13] M. Bektas, T. Stöcker, A. Mergner, G. Hagen, R. Moos, Combined resistive and thermoelectric oxygen sensor with almost temperature-independent characteristics, *Journal of Sensors and Sensor Systems*, 7, 289-297 (2018), doi: 10.5194/jsss-7-289-2018

[14] D. Hanft, M. Bektas, R. Moos, Powder pre-treatment for aerosol deposition of tin dioxide coatings for gas sensors, *Materials*, 11, 1342 (2018), doi: 10.3390/ma11081342

[15] J. Exner, G. Albrecht, D. Schönauer-Kamin, J. Kita, R. Moos, Pulsed Polarization-Based NO_x Sensors of YSZ Films Produced by the Aerosol Deposition Method and by Screen-Printing, *Sensors*, 17, 1715 (2017), doi: 10.3390/s17081715

DOI 10.5162/15dss2021/5.1

Erhöhung der Dimensionalität und Stabilität von Gassensorsystemen als Basis für die erfolgreiche Anwendung von Methoden des maschinellen Lernens

Caroline Schultealbert, Tobias Baur, Martin Leidinger, Wolfhard Reimringer, Thorsten Conrad

3S GmbH – Sensors, Signal Processing, Systems, Saarbrücken, Deutschland
Kontakt: caroline.schultealbert@3S-ing.de

Einleitung

Die Gasmesstechnik gehört zu den herausforderndsten Gebieten der Messtechnik. In der chemischen Analytik wird für jede Messaufgabe die passende Probenvorbereitung (Sorbens, Sampling-Technologie, Transportvorkehrungen) und eine fähige Analysetechnik (z.B. GC-MS, HPLC) ausgewählt. Obwohl Sensorsysteme allgemein als kostengünstig und einfach angesehen werden, gilt für die Gasmesstechnik ähnliches: Sampling, Sensoren, Betriebsart und vor allem Auswertemethodik müssen sorgfältig ausgewählt, vorbereitet und abgestimmt werden. Ein Gesamtsystem ist somit für eine spezifische Anwendung maßgeschneidert. Zum Einsatz kommen dabei oft Methoden des maschinellen Lernens, um die Vielzahl von Sensorsignalen und Parametern erfolgreich zu verarbeiten und in eine relevante Ausgabegröße umzuwandeln.

Ein bekannter und seit mehreren Jahrzehnten verfolgter Ansatz ist der temperaturzyklische Betrieb von Metalloxid-Halbleitergassensoren (MOS-Sensoren). Der Informationsgehalt eines solchen Sensorsignals ist durch den Zusammenhang von Schichttemperatur und Reaktivität deutlich erhöht [1]. Durch komplexe statistische Kalibrierung und Methoden wie der PLSR (partial least squares regression) oder der Anwendung von neuronalen Netzen können hervorragende Ergebnisse z.B. im Rahmen der Innenraumluftqualitätsmessung (IAQ) erzielt werden [2,3].

Für komplexere Messaufgaben können insbesondere Informationen orthogonal zum TCO interessant sein, um eine selektivere und stabilere Modellbildung mit Methoden des maschinellen Lernens zu ermöglichen. Dies kann beispielsweise durch Kombination verschiedener MOS-Sensorschichten oder verschiedener Sensorprinzipien erfolgen. Darüber hinaus ist die Kombination mit einem Präkonzentrator denkbar, der zusätzlich Informationen über Flüchtigkeit und Diffusionsgeschwindigkeit bereitstellt [4].

Das vorliegende Manuskript gibt einen kurzen Einblick in diese Technologien. Ausgehend von der Anwendung IAQ und einer schlichten Kalibrierung eines Sensorsystems basierend auf einem einzigen MOS-Sensor, wird der Informationsgehalt der Desorption eines Präkonzentrators demonstriert sowie gezeigt, dass die Kombination von MOS-Sensorschichten mehr Information bieten kann, aber nicht muss. Zuletzt wird gezeigt, dass im Außenbereich durch die Kombination mehrerer Sensortechnologien wie MOS-Sensoren und elektrochemische Zellen (EC-Zellen) z.B. Maskierungseffekte aufgedeckt werden können, aber auch neue Fragen aufgrund von Korrelationen zum Vorschein kommen.

Methoden und Materialien

Die vorgestellten Ergebnisse wurden mit unterschiedlichen Messsystemen und Gasmischsystemen erhalten.

Die Ergebnisse im Unterkapitel *Kalibrierung* beruhen auf dem Produktionsprozess eines IAQ-Messsystems basierend auf einem MOS-Sensor[1]. Die Kalibrierung im Rahmen der Produktion erfolgt innerhalb einer Gasmischanlage mit Feuchteerzeugung bei Raumtemperatur, einem Nullluftgenerator, Kohlenstoffmonoxid und Wasserstoff als Hintergrundgase, sowie der Zumischung repräsentativer flüchtiger organischer Verbindungen (VOCs).

Die Daten aus dem Unterkapitel *Präkonzentrator* wurden mit einem eigens hergestellten PCSM (preconcentrator sensor module) in einer Gasmischanlage vermessen, das einen Präkonzentrator mit einem MOS-Sensor in einem Keramikgehäuse vereint. Die verwendete Gasmischanlage ist in [5] beschrieben.

Das Unterkapitel *Kombination von MOS-Sensorschichten* beruht auf einem öffentlich verfügbarem Datensatz [6], der in [7] näher beschrieben ist.

Das Unterkapitel *Kombination von Sensortypen* beruht auf Feldinstallationen des EnvironmentalCheckerOutdoor (ECO), ein gepumptes modulares Gassensorsystem. Die gezeigten Daten zu Stickoxid-Events entstammen einer Installation in einem Industriepark. Die erwähnten Korrelationen (Stickoxide, Ozon und Wasserstoff) wurden im Rahmen einer verkehrsnahen Installation beobachtet.

[1] Es sind weitere Sensoren im System enthalten, die für die Messung der TVOC-Konzentration keine oder eine untergeordnete Rolle spielen (Temperatur und Feuchte werden als Korrekturparameter eingesetzt).

Ergebnisse

Kalibrierung

Basis jeglicher Anwendung von Methoden des maschinellen Lernens ist die statistische Kalibrierung. Hierbei werden Trainingsdaten erzeugt, auf deren Basis die Modellbildung erfolgt. Am Markt erhältliche Gassensoren besitzen häufig bereits Ausgabesignale wie die Summenkonzentration der flüchtigen organischen Verbindungen (TVOC) in Innenräumen. Die Qualität dieser Signale genügt jedoch nur bedingt dem Anspruch verschiedener Anwender, weswegen sämtliche Systeme in der Produktion nachkalibriert werden.

Abb. 1 zeigt die Signalverläufe von zwölf Sensorsystemen. Die Ausgabe der MOS-Sensoren ab Werk (*uncalibrated TVOC values*) sind in den beiden Graphen links dargestellt. Aus der Kombination von zwei Ausgabewerten des Sensors wird mit Hilfe einer PLSR eine neue 3S-TVOC-Ausgabe (rechte Seite, *calibrated TVOC values*) erzeugt. Die oberen beiden Graphen zeigen denselben Abschnitt aus der Werkskalibrierung in der Gasmischanlage. Die Gasangebote sind Gemische repräsentativer VOCs bei insgesamt 0,6-3 mg/m³, die verschiedene Responsespektren auf den Sensoren abdecken. Zusätzlich werden die Hintergrundgase Wasserstoff und Kohlenstoffmonoxid variiert. Die unteren beiden Graphen zeigen Signale derselben Sensorsysteme im Feld im Anschluss an die Kalibrierung über mehrere Tage – der Tag-Nach-Rhythmus der Lüftung ist deutlich zu erkennen.

Im Ergebnis weisen die kalibrierten Ausgabewerte einen vielfach besseren Gleichlauf auf, wodurch Messergebnisse in verschiedenen Räumen verglichen werden können. Darüber hinaus liegen die kalibrierten Messsignale bei deutlich niedrigeren Konzentrationen, da die Response der Sensoren auf ein für die Anwendung repräsentatives Gemisch (inkl. Störgrößen) bestimmt wurde.

Präkonzentrator

Abb. 2 zeigt die relative Signaländerung einer sensitiven Schicht des MOS-Sensors im PCSM bei Angebot verschiedener Gase nach 8 Minuten Adsorption des Gases bei einer Präkonzentrator-Temperatur von 40 °C und einer 120 s langen Desorption bei 200 °C. Die Temperatur der Sensorschicht beträgt 250 °C. Während der 8-minütigen Adsorptionszeit wird der Sensor zusätzlich im TCO betrieben, um den größtmöglichen Gesamtinformationsgehalt zu erhalten.

Die unterschiedliche Höhe der Desorptionspeaks wird durch die Sensitivität des Sensors und die Flüchtigkeit und damit das Adsorptionsvermögen des Präkonzentrators bestimmt. Der zeitliche Versatz des Maximums wird neben dem Zeitverhalten des Sensors durch die Desorptionstemperatur und die Diffusionsgeschwindigkeit der Gase bestimmt. Tab. 1 zeigt einen Überblick der aus dem Sensorsignal erhaltenen Parameter des Peaks (Zeitpunkt des Maximums und relative Höhe) sowie einen Vergleich mit charakteristischen Eigenschaften der vermessenen Substanzen (Dampfdruck, Siedepunkt und Diffusionskoeffizient).

Abb. 2: Relative Änderung des Sensorleitwerts ($T = 250$ °C, $((G_{Desorption}/G_{Adsorption}) - 1) \cdot 100$) eines MOS-Sensors zu Beginn der Desorptionsphase des µ-Präkonzentrators nach 8-minütiger Adsorption verschiedener Gase.

Kombination von MOS-Sensorschichten

Der zusätzliche Informationsgehalt durch die Verwendung mehrerer verschiedener MOS-Sensorschichten wird beispielhaft an einem online verfügbaren Datensatz demonstriert [6]. Alle Details der Messung sind in der zugehörigen Veröffentlichung von Baur et. al. beschrieben [7].

Auf Basis des temperaturzyklischen Betriebs (Zykluslänge 120 s) werden für die fünf verwendeten Sensorschichten (AS-MLV-P2 und jede der vier SGP30 Sensorschichten) jeweils 240 Merkmale berechnet (Mittelwert und Steigung je 1 s-Abschnitt). Mit diesen Merkmalen werden PLSR-Modelle trainiert und ein RMSE auf Basis einer 10-fachen Kreuzvalidierung gebildet. Diese RMSE-Werte sind als Säulendiagramm für die verschiedenen Schichten und Gase in Abb. 3 dargestellt. Zusätzlich ist der RMSE erhalten durch die Verwendung aller vier Sensorschichten des SGP30 zum Vergleich dargestellt.

Im Ergebnis wird ersichtlich, dass je nach Zielparameter, der RMSE aus der Kombination aller vier Schichten lediglich das beste Ergebnis einer der Schichten repräsentiert (Kohlenstoffmonoxid) – die Verwendung mehrerer Schichten geht also in diesem Fall mit keiner Verbesserung im Gesamtergebnis einher. Im Gegensatz dazu zeigt das Modell zur Vorhersage der Gesamt-VOC-Konzentration einen um den Faktor 2 niedrigeren RMSE mit der Kombination allen vier Schichten im Vergleich zu den einzelnen Schichten.

Kombination von Sensortypen

Abb. 4 zeigt normierte Signalverläufe einer EC-Zelle für NO_2 und mehrerer MOS-Sensoren im TCO im Feld. Vor allem bei Außenluftmessungen können oxidierende Gase wie Stickoxide und Ozon in Kombination mit reduzierenden Zielgasen zu Maskierung und gegenläufigen Signalen führen. In den gezeigten Ausschnitten in Abb. 4 ist das in verschiedenen Ausprägungen beispielhaft gezeigt. In einem ähnlichen Aufbau neben einer Referenzmessstation können Korrelationen zwischen den Referenzdaten für Stickoxide, Ozon und das Sensorsignal eines wasserstoffselektiven MOS-Sensors beobachtet werden. Die Variation von Wasserstoff im Außen- und Innenbereich, ist aufgrund fehlender analytischer Methoden und Interessen wenig erforscht [8]. Ob die Korrelationen eine Querempfindlichkeit des Sensors oder eine tatsächliche Korrelation der Wasserstoffkonzentration mit Stickoxiden oder Ozon darstellen, ist Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Diskussion, Fazit und Ausblick

Die beschriebenen Ergebnisse zeigen Ausschnitte einzelner Bausteine der Sensorik und Datenauswertung komplexer Gesamtsysteme. Zahlreiche weitere Untersuchungen – intern und extern – formen das Gesamtbild und tragen so zur Entwicklung von besonders leistungsfähigen Gassensorsystemen bei.

Erwähnt seien zum Beispiel die Messung von Methan in harschen Umgebungen mit Hilfe von vier verschiedenen Sensorprinzipien [9] oder Felduntersuchungen zu MOS-Sensoren [2,8], wobei unter anderem die Blindheit des SGP30 gegenüber Limonen auffiel sowie eine Querempfindlichkeit von wasserstoffselektiven Sensoren gegenüber diesem Gas. Solche Informationen können je nach Anwendung eine wertvolle weitere Dimension darstellen und damit die Sensorauswahl beeinflussen. Eine gezielte Vorverarbeitung der zum Training verwendeten Merkmale kann wahlweise das nicht-lineare Sensorverhalten auf eine lineare Auswertemethode wie die PLSR [10] oder das Sensorverhalten auf eine nichtlineare Ausgabegröße wie die Geruchsintensität anpassen. Auf dieser Basis werden für die jeweilige Messaufgabe Werkskalibrierungen zur Verrechnung und Korrektur der Signale durchgeführt.

Bei verteilten Sensornetzwerken und der Verwendung von Metadaten wie Windrichtung wird die Gesamtbewertung der Daten in einer weiteren „Dimension“ komplexer. Basis für solche Ansätze muss stets eine bedachte Auswahl der Sensorik sowie eine gute Kenntnis ihrer Eigenschaften sein. In Kombination mit Ausbreitungsrechnungen werden diese Sensornetzwerke unter anderem zur Analyse der Geruchsausbreitung oder zur Überwachung von Industrieanlagen verwendet. Zur erfolgreichen Erschließung solcher Anwendungen müssen als Basis für die komplexen Modelle des maschinellen Lernens alle Sensorsignale ausreichend verstanden und optimiert sein, um eine Fehlklassifizierung oder -quantifizierung in verschiedenen Situationen zu vermeiden.

Literatur

[1] https://www.3s-ing.de/technologie/, aufgerufen am 12.11.2021.

[2] Baur, T. Amann, J., Schultealbert, C., Schütze, A.: Field Study of Metal Oxide Semiconductor Gas Sensors in Temperature Cycled Operation for Selective VOC Monitoring in Indoor Air, *Atmosphere*. 2021; 12(5):647. https://doi.org/10.3390/atmos12050647

[3] Yannick, R., Amann, J., Baur, T., Goodarzi, P., Schultealbert, C., Schneider, T. Schütze, A.: High-Performance VOC Quantification for IAQ Monitoring Using Advanced Sensor Systems and Deep Learning, *Atmosphere 2021, 12(11), 1487;* https://doi.org/10.3390/atmos12111487

[4] Leidinger, M., Rieger, M., Sauerwald, T., Alépée, C., Schütze, A.: Integrated pre-concentrator gas sensor microsystem for ppb level benzene detection, Sensors and Actuators B. 2016; 236. https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.04.064

[5] Leidinger, M., Schultealbert, C., Neu, J., Schütze, A., Sauerwald, T.: Characterization and calibration of gas sensor systems at ppb level—a versatile test gas generation system, Meas. Sci. Technol. 29 015901, 2018. https://doi.org/10.1088/1361-6501/aa91da

[6] Baur, T., Bastuck, M., Schultealbert, C.: Random gas mixtures for efficient gas sensor calibration: Dataset, 2020. https://doi.org/10.5281/zenodo.4264224

[7] Baur, T., Bastuck, M., Schultealbert, C., Sauerwald, T., and Schütze, A.: Random gas mixtures for efficient gas sensor calibration, J. Sens. Sens. Syst., 9, 411–424, 2020. https://doi.org/10.5194/jsss-9-411-2020

[8] Schultealbert, C., Amann, J., Baur, T., Schütze, A.: Measuring Hydrogen in Indoor Air with a Selective Metal Oxide Semiconductor Sensor, Atmosphere 2021, 12(3), 366. https://doi.org/10.3390/atmos12030366

[9] Lensch, H., Sauerwald, T., Müller, M., Braunecker, F., Dudziak, T., Brünnet, H., Schütze, A. : Multi-sensor system for selective methane measurements in harsh environments, SMSI 2020 - Sensors and Instrumentation, https://doi.org/10.5162/SMSI2020/P1.1

[10] Bastuck, M., Leidinger, M., Sauerwald, T., Schütze, A.: Improved quantification of naphthalene using non-linear Partial Least Squares Regression. ISOEN 2015, 16th International Symposium on Olfaction and Electronic Noses, Dijon, France. https://arxiv.org/abs/1507.05834

[11] Jessel, W.: Gase-Dämpfe-Gasmesstechnik, Ein Kompendium für die Praxis. Dräger AG, Lübeck, 2001.

[12] GESTIS-Stoffdatenbank, https://gestis.dguv.de/, aufgerufen am 12.11.2021.

Danksagung

Unser Dank gilt dem Lehrstuhl für Messtechnik von Prof. Schütze der Universität des Saarlandes, in dessen Labor die Daten des Unterkapitels Präkonzentrator aufgenommen wurden.

DOI 10.5162/15dss2021/5.1

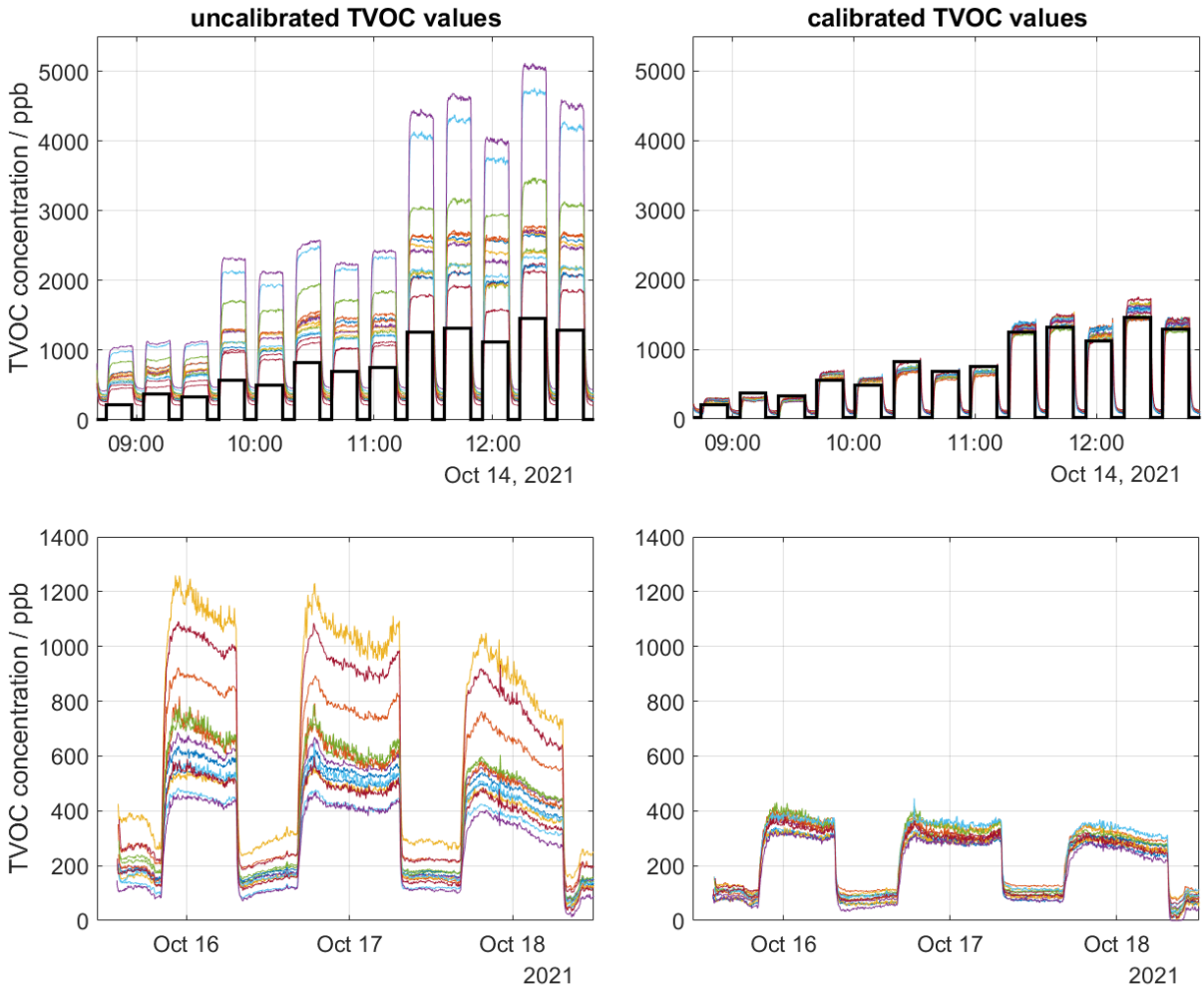


Abb. 1: Vergleich der ab Werk vom Sensor ausgegebenen TVOC-Werte (links) in der Kalibrierung (oben) mit den kalibrierten Werten erhalten durch eine PLSR-Bildung mehrerer Sensormerkmale (rechts oben). Die unteren Graphen zeigen den Vergleich beider Signale über mehrere Tage in der Produktionshalle.

Tab. 1: Desorptionszeitpunkt und Höhe im Sensorsignal des Halbleitergassensors für verschiedene Gase nach 10-minütiger Adsorption im Vergleich mit den relevanten Stoffeigenschaften Dampfdruck, Siedepunkt und Diffusionskoeffizient für die Entstehung dieser unterschiedlichen Desorptionsverhalten. (Daten aus [11,12])

Gas	**Zeitpunkt des Maximums in s**	**Höhe Maximum in %**	**Dampfdruck in hPa bei 20 °C**	**Siedepunkt in °C**	**Diffusionskoeffizient (Luft, 20 °C, 1013 hPa) in cm²/s**
Toluol	11,7	7,12	29,1	111	0,0763
Aceton	7,6	16,7	246	56	0,1049
Ethanol	9,9	6,68	58	78	0,1181
Formaldehyd	8,3	3,99	4300	-19	
Acetaldehyd	-	-	1006	20	
Xylol (m,p)	8,7	8,64	8	138	
Benzol	13,3	3,76	100	80	0,0859
Wasserstoff	6,7	4,80	n.a.	-252,9	0,69
Kohlenstoffmonoxid	7,9	1,57	n.a.	-191,5	

DOI 10.5162/15dss2021/5.1

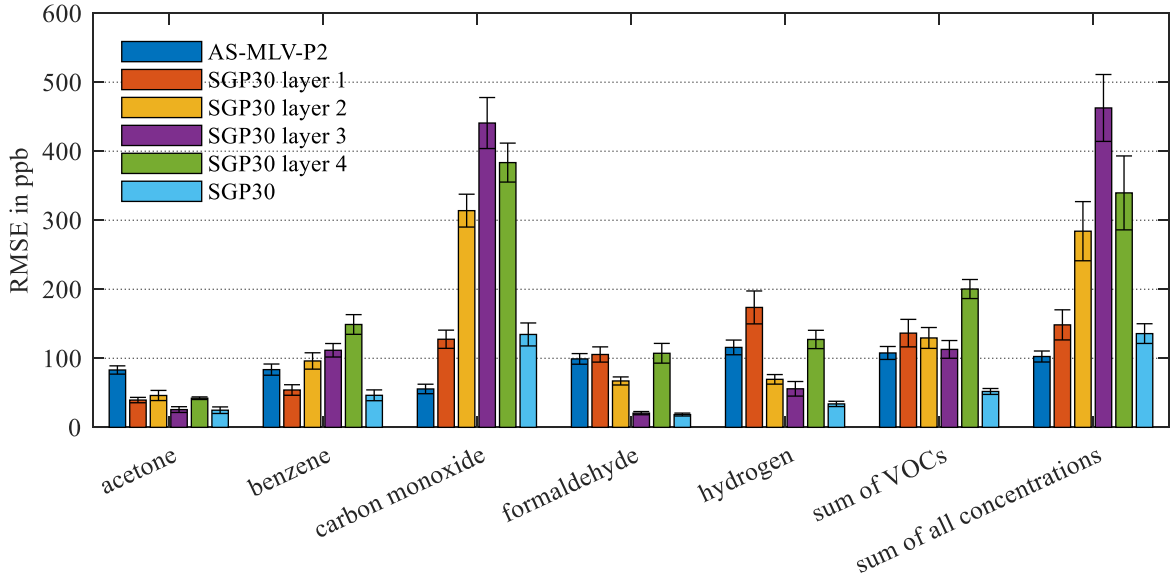


Abb. 3: Vergleich der Fehler erhalten aus der Kreuzvalidierung des Trainings auf Basis verschiedener MOS-Sensorschichten.

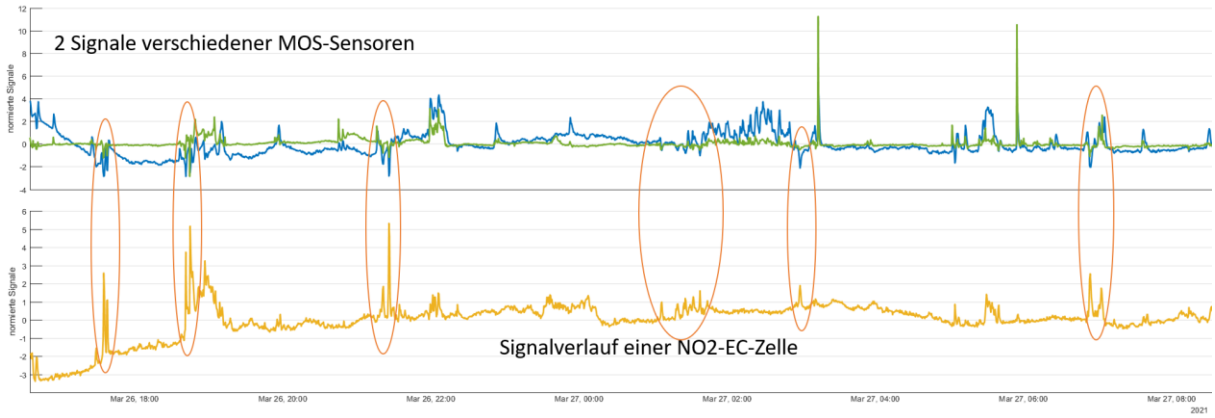


Abb. 4: Ausgewählte Events einer Messstation im Außenbereich eines Chemieparks und Vergleich der normierten Sensorsignale verschiedener Messtypen (oben: MOS-Sensoren, unten: NO_2-EC-Zelle).

DOI 10.5162/15dss2021/5.2

Embedded KI für Gassensoren - eine industrielle Perspektive

Anna Schröter[1], Ravi Kanth Reddy Chilumula[2], Ronald Schreiber[1], Clayton Kostelecky[2], Christian Meyer[1]

[1]Renesas Electronics Germany GmbH, Dresden, Deutschland
[2]Renesas Electronics America, Longmont, USA
Kontakt: anna.schroeter.uw@renesas.com

Einleitung

Die Erkennung der Luftqualität hat in den letzten Jahren viel Aufmerksamkeit erlangt, um eine bessere und gesundere Luftqualität in Innenräumen und öffentlichen Bereichen zu gewährleisten. Typische Anwendungsbeispiele der Luftgüteüberwachung reichen von Luftreinigern, Klimaanlagen- und Lüftungssteuerungen, Konferenzraumausrüstungen, Wearables, Mobiltelefonen bis hin zu Überwachungssystemen für Smart Home und Smart City. Metalloxid-Sensoren (MOx-Sensoren) sind in der Lage, das Vorhandensein vieler gesundheitsschädlicher Gase in Innenräumen und in der Außenluft zu erkennen. Die ersten digitalen MOx-Sensoren zur Erfassung der Luftqualität kamen im letzten Jahrzehnt auf den Markt [1]. Im Vergleich zu früheren analogen Lösungen haben diese wesentliche Vorteile, wie beispielsweise eine höhere Miniaturisierung, einfachere Implementation, bessere Skalierbarkeit für die Massenproduktion, einen geringeren Stromverbrauch und einen niedrigeren Preis. Die meisten MOx-Sensoren, sowohl analog als auch digital, nutzen einen traditionellen Algorithmus basierend auf empirischen Gleichungen zur Berechnung der Gaskonzentration. Ein nächster Schritt in der Entwicklung digitaler Metalloxidsensoren ist die Verwendung von Algorithmen des maschinellen Lernens für die Berechnung der Gaskonzentration. Durch den Einsatz von eingebetteter Künstlicher Intelligenz (KI) können MOx-basierte Gassensoren eine höhere Genauigkeit und eine bessere Präzision von Bauteil zu Bauteil erreichen. Renesas ist das erste Unternehmen, das MOx-basierte Gassensoren mit dieser Technologie auf den Markt brachte [2].

Methoden und Materialien

Aufbau und Funktion des MOx-Sensors

Die Gassensormodule von Renesas wie dargestellt in Abbildung 1 bestehen aus einer MEMS Mikro-Heizplatte mit dem abgeschiedenen MOx-Material und einem dedizierten ASIC für die Heizungssteuerung, elektrische Messungen und die Kommunikation über einen I^2C-Bus mit einem Host-Controller, z. B. einem Mikrocontroller.

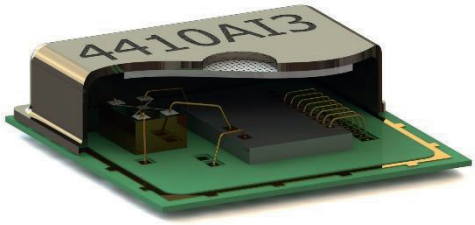


Abb. 1: Schematische Darstellung des Querschnitts der Renesas ZMOD Gassensoren (wasserdichte Variante).

Die Kalibrierungsparameter aus dem chemischen Produktionstest werden im nichtflüchtigen Speicher des ASICs gespeichert. Außerdem enthält dieser Speicher Register zur Sicherung der Sensorkonfiguration und kann die unkalibrierten Widerstandsrohwerte und Statusinformationen ausgeben. Der Host-Controller hat die Aufgabe, die Sensorkonfiguration an den ASIC zu übergeben, die Rohwiderstände auszulesen und die Kalibrierung anzuwenden. Zum Produkt gehört eine Firmware, welche die Sensorkommunikation und die Berechnung der Ausgabe, z. B. einer Gaskonzentration, enthält. Beim traditionellen Ansatz (1. Generation) wird die Gaskonzentration c aus dem Wert des kalibrierten Leitwerts des Metalloxidmaterials G_{MOx} aus folgendem empirischen ermittelten Zusammenhang gemäß Gleichung (1) berechnet [3]:

$$G_{MOx} = G_{CDA} + \frac{c^{\alpha}}{A} \qquad (1)$$

A und α sind Konstanten, welche den Schnittpunkt mit der Widerstands-Achse bzw. den Anstieg im logarithmischen Bereich angeben; beide Parameter werden für jeden Sensor während dessen Kalibrierung gewonnen. G_{CDA} ist der Referenz-Leitwert für saubere trockene Luft (*clean dry air*, CDA).

Für verschiedene Anwendungen sind je nach den zu erwartenden Gasen unterschiedliche MOx Sensormaterialien relevant. Für Innenraumluftanwendungen ist die Messung der gesamten flüchtigen organischen Verbindungen (*Total Volatile Organic Compounds*, TVOC) von Bedeutung. Für den Innen-

raumluftqualitätssensor ZMOD4410 wird ein Material verwendet, das einen positiven Anstiegskoeffizienten α aufweist. Bei Außenanwendungen spielen Verschmutzungen durch Ozon eine Rolle. Diese Gase können mit katalytischen Materialien bestimmt werden, die eine negative Steilheit α haben, wie am Beispiel des ZMOD4510.

Neuronale Netze für verbesserte Sensorausgaben

Da die Berechnung der Gaskonzentration auf dem Host-Controller erfolgt, kann die Berechnungsmethode verändert werden, ohne dass die Sensorhardware selbst geändert werden muss. Außerdem ist es möglich, das Betriebsschema zu ändern. Beispielsweise wird der Innenraumluftqualitätssensor beim traditionellen Ansatz (erste Generation) das Sensorelement auf eine konstante Temperatur zwischen 200°C bis 400°C geheizt. Um einen Sensor mit eingebetteter KI zu verwenden, wurde das Betriebsschema auf eine Heizsequenz mit unterschiedlichen Temperaturen geändert. Das Ergebnis ist eine Reihe von Widerständen bei jeweils unterschiedlicher Sensortemperatur. Der Außenluftqualitätssensor wird mit einer Reihe von Impulsen bei einer konstanten Temperatur erhitzt. Die Reihe von Widerständen spiegelt das transiente Verhalten des Sensors wider. Mit dem resultierenden zusätzlichen Informationsgehalt können einige unerwünschte Sensoreigenschaften abstrakt bestimmt werden, wie z. B. das Alter, produktionsbedingte Abweichungen des Sensormaterials und die Sensordrift.

Viele tausende Messungen mit verschiedenen Gas-Stimulationen unter kontrollierten Laborbedingungen und Untersuchungen in realen Umgebungen wurden mit hunderten von Sensoren durchgeführt. Beide Sensorgruppen erhielten Stimuli in verschiedenen Temperatur- und Feuchtebereichen (0 bis 60°C, 0 bis 80%RH) um eine Kompensation umzusetzen.

Referenzgeräte bestimmen die vorhandene TVOC-Konzentration oder Ozon-Konzentration in den realen Umgebungen bzw. im Labor (FTIR). Als Beispielumgebungen wurden im Innenraum Wohnungen und Büros sowie im Außenraum städtische und ländliche Orte auf verschiedenen Kontinenten gewählt.

Sensorwiderstände bei verschiedenen Betriebstemperaturen werden als Array erfasst, vorverarbeitet und zusammen mit den entsprechenden Zielgaskonzentrationen verwendet, um ein überwachtes Training eines künstlichen neuronalen Feed-Forward-Netzes mit einer mehrlagigen Perzeptren-Architektur (*Multi Layer Perceptron*, MLP) [4, 5] durchzuführen. Die Koeffizienten des neuronalen Netzes und die Architektur werden vereinfacht und in die Programmiersprache C übersetzt. Ein eingebetteter Host-Controller verwendet den C-Code, um die Gaskonzentration in Echtzeit auf der Grundlage der Sensorwiderstandseingaben zu ermitteln.

Ergebnisse

Embedded KI erhöht die Genauigkeit

Ein Beispiel einer Messung mit dem Innenraumluft-Sensor ZMOD4410 ist in Abbildung 2 veranschaulicht. Je vier Sensoren wurden mit dem Betriebsschema der 1. Generation mit konstanter Temperatur gemessen und vier weitere mit einem mehrstufigen Temperaturprofil. Dargestellt sind die entsprechenden Ausgabewerte der Algorithmen mit traditionellem Ansatz (1. Generation) und dem künstlichen, neuronalen Netz (2. Generation) für die TVOC Konzentration. Die Messung erfolgte unter Stimulation mit verschiedenen VOC-Gaskonzentrationen gemischt mit gereinigter Luft und 30% Luftfeuchte.

Die beiden Gruppen von Sensoren unterscheiden sich nicht nur in ihren Ausschlägen, sondern haben auch eine deutlich geringere Streuung zwischen den vier Sensoren. Insgesamt konnte ermittelt werden, dass die Messwerte der 2. Generation eine vierfach höhere Präzision erreichen als mit dem traditionellen Ansatz. Gleichzeitig halbiert sich die Messabweichung.

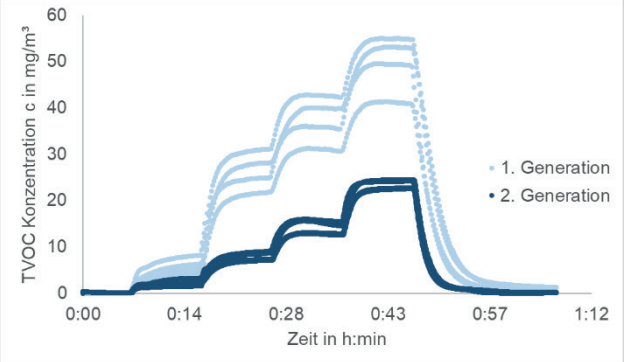


Abb. 2: Zeitverlauf der Ausgabe der TVOC Konzentration für Innenraum-Sensoren mit traditionellen Algorithmen (1. Generation) und mit eingebetteter KI (2. Generation) stimuliert mit einem VOC Gas in verschiedenen Konzentrationsstufen.

Höhere Signalgüte für geringere Leistungsaufnahme

Die Technologie der eingebetteten neuronalen Netze erhöht die Güte der Ausgabewerte. Dieser Umstand kann genutzt werden, einen Algorithmus zu entwickeln, welcher in einem Betriebsschema mit sehr kurzer Anschaltdauer weiterhin gute Ausgaben berechnet. Diese Strategie wurde für den Außenluftsensor ZMOD4510 angewandt. In dem Betriebsschema wechselt sich ein sehr kurzer Heizimpuls von wenigen Millisekunden mit einer Pause von

knapp zwei Sekunden ab. Auch in diesem Fall wurde ein neuronales Netz mit diesem Betriebsschema trainiert und gleichzeitig eine Temperatur- und Feuchtekompensation umgesetzt. Abbildung 3 zeigt die Zuordnung aller Validierungsdaten zwischen einem hochgenauem Referenzgerät zur Ozonmessung und dem digitalen MOx-Sensor mit dem neuronalen Netz im Inferenz-Zustand. Die Abbildung stellt den gesamten Trainingssatz der Messungen in drei unterschiedlichen geografischen Lagen in Nordamerika, Europa und Asien dar. Die Messungen enthalten 41,4 Millionen Datensätze für 39 Sensoren, 242 Tage Betriebszeit. Diese hohe Menge an Daten ist notwendig, um möglichst viele Zustände der Außenluft zu berücksichtigen und zu verifizieren, dass die Embedded KI korrekt trainiert und in variierenden realen Außenluft-Umgebungen funktioniert. Im Ergebnis zeigt sich ein linearer Zusammenhang zwischen den Werten des Referenzgeräts und der KI-Lösung, was für eine gute Übereinstimmung der Messungen spricht. Gleichzeitig konnte die Leistungsaufnahme des Sensors im Vergleich zur Betriebsweise in der ersten Generation um etwa das Hundertfache verringert werden (von 21 mW auf 0,2 mW).

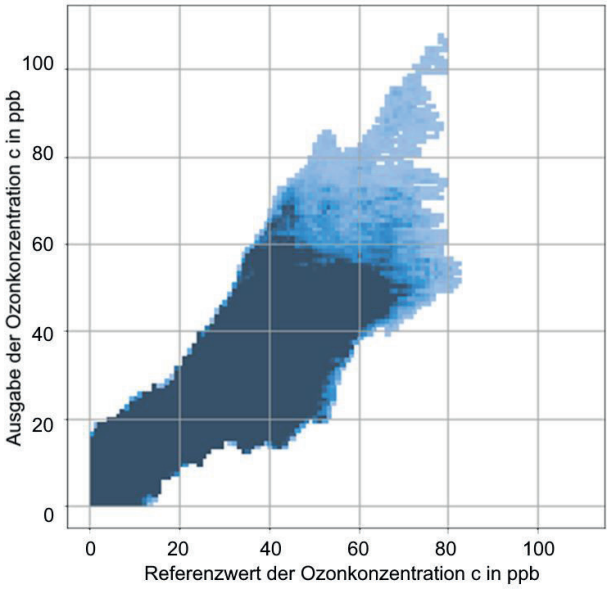


Abb. 3: Gegenüberstellung von der Ausgabe der Ozonkonzentration der Außenluft-Sensoren mit eingebetteter KI und den Werten eines Referenzgeräts

Diskussion

Der Einsatz der Embedded KI erzielte für die Renesas Gassensoren einen großen Gewinn hinsichtlich der Signalgüte. Bei der Entwicklung und Anwendung dieser Algorithmen ergeben sich einige Herausforderungen und Besonderheiten. Dazu zählen:

- Auswahl des korrekten Betriebsschemas,
- Erfassung der Trainings- und Validierungsdaten für Hunderte von Sensoren,
- das richtige Maß des Trainings des neuronalen Netzes,
- Algorithmenkomplexität der neuronalen Netze,
- Performanz in der realen Anwendung.

Für den ersten Punkt, der Auswahl des Betriebsschemas, sind zunächst eine hinreichend große Anzahl an Messungen mit verschiedenen Modi notwendig. Dabei können Anzahl und Höhe der Temperaturschritte und zur Reduktion des Stromverbrauchs eingefügte Pausenzeiten variieren. Ausgehend aus der Vorerfahrung, die bei der Entwicklung von Gassensor-Algorithmen herrscht, konnte bereits eine Vorselektion der Betriebsschemata erfolgen. Die Varianten müssen gründlich bezüglich ihrer resultierenden Sensitivität, Selektivität und des Stromverbrauchs gegeneinander abgewogen werden. Für eine gute Performanz der KI-Algorithmen ist diese Vorauswahl entscheidend.

Für die Entwicklung der Algorithmen ist eine große Anzahl von Trainingsdatensätzen nötig. Dazu muss eine gute Balance zwischen Labormessungen und Messungen in realen Umgebungen berücksichtigt werden. Die Auswahl der Trainingsdatensätze entscheidet ebenfalls über die Güte des anschließenden Trainings. Die Messumgebung sollte sinnvoll gestaltet sein, beispielsweise durch die Auswahl hochwertiger Referenzgeräte.

Das Training selbst sollte so gestaltet sein, dass eine gute Verallgemeinerung möglich ist. Demzufolge darf es nicht zu einem Übertrainieren kommen, was zu lokalen Häufungen der Ausgaben führt und auch ein Untertraining ist zu vermeiden, um die Präzision der Ausgabe zu erhalten.

Neuronale Netze haben meist eine größere Komplexität als die empirisch ermittelten Fitting-Funktionen. Dies kann zu einem größeren Speicherbedarf für den Algorithmus führen und damit zu Einschränkungen bei der Auswahl eines Host-Controllers. Dafür wurden speziell Architekturen von neuronalen Netzen gewählt, die einen geringen Speicherbedarf erfordern. Auch der Schritt der Vereinfachung des trainierten neuronalen Netzes ist dabei wichtig. Der Bedarf an Programmspeicher ist durch die Anwendung des neuronalen Netzes beispielsweise für den Innenraumsensor nur um 21% gestiegen.

Der reale Einsatz beim Anwender kann eigene Besonderheiten mit sich bringen, die beispielsweise durch die Produktion, das Gehäuse und besondere Einsatzbedingungen beeinflusst werden. Daher ist eine entscheidende Phase der Entwicklung eine

Testphase beim Anwender. Dort kann die Akzeptanz der Algorithmen und ihrer Performanz überprüft und gegebenenfalls angepasst werden.

Ausblick

Die Sensoren für Innenraumluft- und Außenluft-Qualität konnten mit Hilfe von Embedded KI-Technologie eine signifikante Verbesserung der Sensorperformanz zeigen. Das Erreichen dieser Eigenschaften war unter anderem durch die Nutzung einer Vielzahl ausgewählter Trainingssätze in verschiedenen realen und Laborumgebungen erreicht werden. Das Werkzeug der neuronalen Netze kann genutzt werden, um weitere Funktionalitäten und Anwendungen für digitale Metalloxid-Sensoren zu erschließen. Analog zum Außenluftsensor ZMOD4510 kann auch der Innenraumluftsensor ZMOD4410 durch ein angepasstes Betriebsschema und ein dafür trainiertes neuronales Netz in mobilen Endgeräten (Smartphones und -watches) betrieben werden. Die Veröffentlichung dieses Upgrades ist für Anfang 2022 geplant.

Literatur

[1] INTEGRATED DEVICE TECHNOLOGY, INC.: *IDT Expands its Flagship Integrated VOC Gas Sensor Line With Solutions for Indoor Air Quality Applications*. Pressemitteilung, San Jose, 2018: https://www.renesas.com/us/en/about/press-room/idt-expands-its-flagship-integrated-voc-gas-sensor-line-solutions-indoor-air-quality-applications

[2] RENESAS ELECTRONICS CORPORATION: *Renesas enhances ZMOD4410 Indoor Air Quality Platform with AI for smart odor sensing*. Pressemitteilung, Tokyo, 2020: https://www.renesas.com/eu/en/about/press-room/renesas-enhances-zmod4410-indoor-air-quality-platform-artificial-intelligence-smart-odor-sensing

[3] FRADEN, J.: *Handbook of Modern Sensors: Physics, Designs, and Applications*. Springer, 2015

[4] ZELL, A.: *Simulation Neuronaler Netze*. Addison Wesley Longman, 1994

[5] RUMELHART, D. E.; HINTON, G. E.; AND WILLIAMS, R. J.: *Learning internal representations by error propagation.* California Univ San Diego Inst for Cognitive Science, Technical Report, 1985

DOI 10.5162/15dss2021/5.3

Überwachung der Luftqualität in Innenräumen mittels komplexer Sensorsysteme und Deep Learning Ansätzen

Yannick Robin[1], Johannes Amann[1], Payman Goodarzi[1], Tobias Baur[1], Caroline Schultealbert[1], Tizian Schneider[1] und Andreas Schütze[1]

[1]Lehrstuhl für Messtechnik, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, Deutschland
Kontakt: y.robin@lmt.uni-saarland.de

Einleitung

Die Innenraumluftqualität ist laut der World Health Organisation (WHO) eine der größten Gefahrenquellen für die Gesundheit des Menschen [1]. So kann beispielsweise eine zu hohe Konzentration von Formaldehyd und anderen flüchtigen organischen Verbindungen (engl.: Volatile Organic Compounds, VOCs) in der Atemluft krebserregend sein [2]. Problematisch für den Menschen sind hierbei besonders zwei Dinge. Erstens halten sich die meisten Menschen zu ca. 90 % in Innenräumen auf [3] und sind dadurch permanent von einer ausreichenden Innenraumluftqualität abhängig. Zweitens ist die Innenraumluftqualität eine komplexe, schwer überwachbare Größe, wodurch heute eine gesunde Innenraumluft kaum gewährleistet werden kann [4]. Erschwerend kommt hinzu, dass durch die zunehmende Versiegelung und Isolierung der Bausubstanz zur Energieeinsparung der Luftaustausch reduziert wird und heute in Innenräumen häufig höhere Schadstoffkonzentrationen vorliegen als in der Außenluft [5, 6].

In dieser Arbeit wird gezeigt, dass es möglich ist, einige ausgewählte flüchtige organische Verbindungen, die einen negativen Einfluss auf die Gesundheit haben, auf ppb Niveau auch in komplexen Umgebungen zu quantifizieren. Dies wird mittels einer Kombination aus kostengünstigen Metalloxid-Halbleiter-Gassensoren (MOS), einem komplexen Temperaturzyklus (TCO) [7] und einer Auswertung mit Deep Learning Methoden erreicht. Dazu wird der Senor zunächst mithilfe einer Gasmischanlage (GMA) [7] kalibriert. Während der Kalibrierung wird der Sensor in der GMA verschiedenen komplexen, aber genau bekannten Gasgemischen ausgesetzt. Anhand der aufgezeichneten Sensorsignale kann nun ein datengetriebenes Model trainiert werden, welches es ermöglicht, die Gaskonzentrationen für unbekannte Mischungen der gleichen Gase sowohl in Laborumgebungen als auch im Feld vorherzusagen.

Methoden und Materialien

Datensatz

Im Folgenden wird der Datensatz von Baur et al. [7] verwendet. Dieser Datensatz beinhaltet neben zwei zeitlich voneinander getrennte Feldtests, die zur Evaluierung der Methoden in realen Umgebungen dienen, ebenfalls drei Kalibrierungsphasen im Labor. Mithilfe dieser Daten soll gezeigt werden, dass es möglich ist, die Konzentration aller Gase, die mittels der Kalibriemessungen im Labor trainiert worden sind, sowohl innerhalb der Laboruntersuchungen als auch in den Feldtests auf ppb-Niveau vorherzusagen. Die Gasgemische der Kalibrierungsphasen wurden dabei so zusammengestellt, dass sie vereinfacht der typischen Innenraumluft entsprechen. Die Gasgemische enthielten neben dem Schadstoff Formaldehyd, die VOCs Aceton, Toluol und Ethanol. Des Weiteren beinhalteten die Gasgemische die relevanten Hintergrundgase Wasserstoff und Kohlenstoffmonoxid, die die Quantifizierung von VOCs stark beeinflusst.

Der Datensatz wurde mittels eines MOS-Gassensors (SGP30, Sensirion, Staefa ZH, Schweiz) aufgezeichnet. Der SGP30 besteht aus vier gassensitiven Schichten auf einer Hotplate. Die Selektivität und Sensitivität wurden mittels des temperaturzyklischen Betriebs deutlich gesteigert [7]. Der Temperaturzyklus besteht aus mehreren Hoch- und Niedertemperaturphasen im Bereich von 100 °C bis 400 °C (s. Abb. 1). Eine Messung beinhaltet genau einen vollständigen Temperaturzyklus (2 Minuten). Die aufgezeichneten Daten repräsentieren die Widerstandswerte der vier gassensitiven Schichten über die Zeit. Insgesamt wurden während der Kalibrierungsphasen zehn Temperaturzyklen pro Gasgemisch aufgezeichnet. Dabei wurden 500 unterschiedliche Gasgemische während der Initialkalibrierung, 500 während der ersten Rekalibrierung (nach dem ersten Feldtest) und weitere 100 in der zweiten Rekalibrierung (nach dem zweiten Feldtest) aufgezeichnet (insgesamt 1100 unterschiedliche Gasgemische). Aufgrund von Synchronisationsproblemen wer-

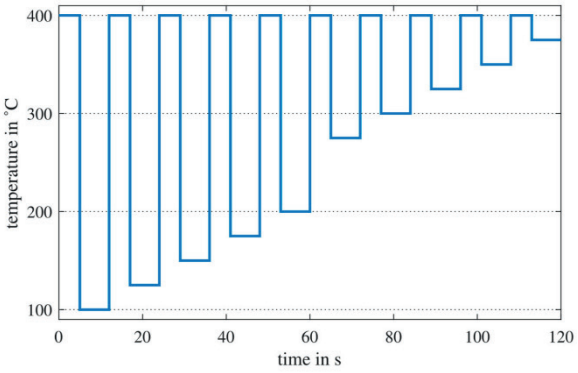


Abb. 1: Komplexer Temperaturzyklus [7].

den für die Auswertung nur fünf Temperaurzyklen pro Gasgemisch analysiert.

Außerdem werden für die weiteren Auswertungen lediglich die Gasgemische der Initialkalibrierung und die ersten 100 der ersten Rekalibrierung benutzt. Dadurch können die folgenden Ergebnisse mit den Ergebnissen aus [7] verglichen werden. Des Weiteren werden die Sensorsig-

nale, wie im Sauerwald-Baur Modell beschrieben [9,10], in den logarithmischen Leitwert überführt. Für die nachstehenden Auswertungen werden die Daten nochmals auf Basis der Gasgemische in 70 % Trainings-, 10 % Validierungs- und 20 % Testdaten unterteilt.

Modelle

Zur Auswertung werden als Referenz die Modelle aus [7] herangezogen. Diese Modelle basieren auf linearen Modellen des klassischen maschinellen Lernens, welche im folgenden FESR Modelle genannt werden. Die neu eingeführte Methode basiert auf einem Convolutional Neuronal Network (CNNs, s. Abb. 2), welches im folgenden TCOCNN [13] genannt wird.

Die Modelle des klassischen maschinellen Lernens verwendet Feature Extraktion (FE), Feature Selektion (FS) und ein Regressionsmodell, um die Gaskonzentrationen vorherzusagen. Zur Feature Extraktion werden die Leitwertsignale in 120 äquidistante Segmente eingeteilt. Auf jedem dieser Segmente wird der Mittelwert und die Steigung berechnet. Die daraus resultierenden 240 Features pro Sensorschicht (960 für alle Schichten) werden mittels rekursiver Feature Eliminierung (RFE) basierend auf der Regression der kleinsten Quadrate auf die 300 besten Features reduziert. Anschließend wird die partielle kleinste Quadrate Regression (engl. PLSR) bezüglich der benutzten Features und PLSR Komponenten mithilfe der Trainings- und Validierungsdaten optimiert. Eine detaillierte Beschreibung der Modellbildung ist in [7] zu finden.

Tab. 1: Parameter inklusive Wertebereich für Hyperparameteroptimierung [13].

Hyperparameter	Wertebereich
Initial leaning rate (logarithmisch)	$1*10^{-4}$ -$9*10^{-3}$
Number of filters (erste beiden Schichten)	60 - 240
Kernel size (erste beiden Schichten)	40 - 80
Striding size (erste Schicht)	15 - 45
Dropout	30 % - 50 %
Number of neurons (Fully Connected Layer)	1000 - 2500

Das Modell des neuronalen Netzes besteht aus zehn Convolutional Layern gefolgt von zwei Fully-Connected Layern und basiert grundlegend auf dem Netz aus [8]. Das TCOCNN hat gegenüber [8] den Vorteil der geringeren Komplexität aufgrund der weggefallenden direkten Verbindungen zwischen zwei Convolutional Layern (s. Abb. 2). Für die Optimierung der Hyperparameter wird eine Neural Architecture Search (NAS) für jedes Gas durchgeführt. Bei der NAS werden alle Hyperparameter aus Tabelle 1 mittels einer Bayesschen Optimierung dahingehend angepasst, dass der Root Mean Square Error (RMSE) der Validierungsdaten minimiert wird. Dieses Vorgehen soll gewährleisten, dass das Model auf jedes Gas angepasst wird und einen minimierten Fehler auf den Testdaten garantiert.

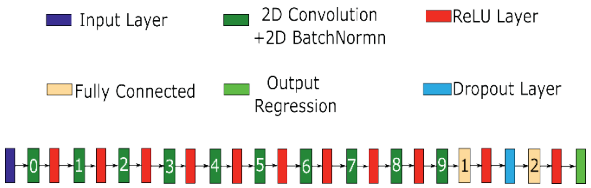


Abb. 2: Generelle Architektur des TCOCNN (angepasst von [8,13]).

Auswertung

Um die verschiedenen Modelle auf Basis der Kalibrierdaten untereinander vergleichen zu können, wird für jedes Gas ein Modell auf den Trainings- und Validierungsdaten gebildet. Anschließend können über den RMSE der Testdaten die zwei verschiedenen Modelle für ein spezifisches Gas verglichen werden.

Des Weiteren werden die Modelle, welche auf den Kalibrierdaten trainiert wurden, ebenfalls dazu benutzt, die Vorhersagequalität der Modelle auf den Feldtests miteinander zu vergleichen. Dabei wird, wie in den Labortests, zunächst ein Modell auf Basis der ersten 600 Kalibrierungsgemische trainiert und dann auf die Feldtests angewendet. Die Bewertung der Modelle basiert dann auf einem quantitativen Vergleich. Dazu wird zunächst die Ungenauigkeit der Vorhersagen der beiden Modelle verglichen. Um eine möglichst objektive Aussage treffen zu können, wurde ein möglichst konstanter Bereich zwischen dem 4. Oktober 12:00 Uhr und dem 5. Oktober 00:00 Uhr mithilfe eines gleitenden Mittelwertfilters (Fenstergröße eine Stunde) geglättet und als Referenz gewählt. Die Unsicherheit bestimmt sich nun durch die Standardabweichung der Vorhersage von dieser Referenz. Zusätzlich werden generelle Eigenschaften der Vorhersage untersucht, wie beispielsweise die Vorhersage von negativen Konzentrationen und die Grundkonzentrationen.

Des Weiteren werden die beiden Freisetzungen von Aceton und Toluol vom 16. Oktober untersucht. Dabei soll gezeigt werden, dass neben dem FESR Modell, ebenfalls das TCOCNN Modell dazu in der Lage ist, die Freisetzungen unter realen Bedingungen zu detektieren. Bei der untersuchten Freisetzung wurden zunächst um 14:50 Uhr ungefähr 600 ppb Aceton und Toluol freigesetzt. Diese Freisetzung wurde nochmals um 18:00 Uhr mit den gleichen Gasen und Stoffmengen wiederholt. Dadurch, dass die freigesetzten Mengen bekannt sind, sollten die beiden datengetriebenen Modelle, unter der Annahme das kein Gas verloren geht und sich die Gase im Raum gleichmäßig verteilen, ebenfalls Konzentrationen nahe der 600 ppb für Aceton und Toluol vorhersagen.

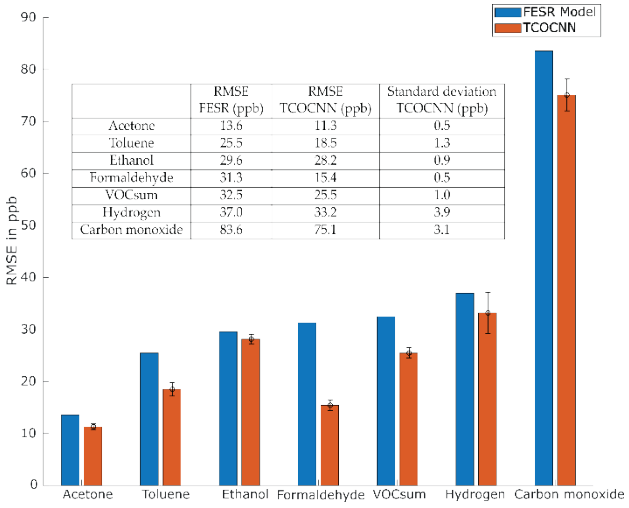
Außerdem wird die Vorhersage mit analytischen Messystemen verglichen, welche zur gleichen Zeit im Einsatz waren. Dazu gehört der tragbare Gaschromatograph X-pid 9500 mit Photoionisationsdetektor (Dräger Safety AG & Co KGaA, Lübeck, Germany), welcher zur Untersuchung der VOCs dient. Zusätzlich wurden Tenax Röhren (Markes International Ltd, Llantrisant, Wales, UK) aufgezogen, um die Innenraumluft ebenfalls mittels Thermode-

sorption-Gaschromatographie-Massenspektroskopie (TD-GC-MS) zu analysieren.

Ergebnisse

Labormessungen

Abb.3 zeigt, dass das TCOCNN für alle Gase im mittel bessere Ergebnisse erzielt als das FESR Modell. Lediglich



	RMSE FESR (ppb)	RMSE TCOCNN (ppb)	Standard deviation TCOCNN (ppb)
Acetone	13.6	11.3	0.5
Toluene	25.5	18.5	1.3
Ethanol	29.6	28.2	0.9
Formaldehyde	31.3	15.4	0.5
VOCsum	32.5	25.5	1.0
Hydrogen	37.0	33.2	3.9
Carbon monoxide	83.6	75.1	3.1

Abb. 3: Vergleich der erreichten RMSE-Werte von FESR (Baur et al. [7]) und TCOCNN (mit Standardabweichung) [13].

für Wasserstoff wurden einzelne Ergebnisse erzielt, die oberhalb des FESR Modells liegen. Die größte Verbesserung erreichte das TCOCNN Modell für Formaldehyde, hier konnte im Mittel ein 15.9 ppb kleinerer RMSE erreicht werden. Die besonders signifikante Verbesserung für Formaldehyde kann damit begründet werden, dass das ursprüngliche Modell von [8] für dieses Gas optimiert wurde. Es kann angenommen werden, dass mit einem weitreichenden Hyperparametertuning (auch Parameter, die für diesen Versuch konstant waren) ähnliche Verbesserungen für die anderen Gase erreicht werden können. Nichtsdestotrotz konnte gezeigt werden, dass es möglich ist, dass das TCOCNN an alle Gase automatisiert angepasst werden kann und bessere Ergebnisse erzielt als das FESR Modell [13].

Generelle Feldtests

Bevor die Feldtests bezüglich der Freisetzungen analysiert werden, werden in diesem Abschnitt die generellen Verläufe der datengetriebenen Modelle untersucht. In Abb. 4 sind die vorhegesagen Konzentrationen von Formaldehyd und Wasserstoff für die FESR und TCOCNN Modelle dargestellt. Zunächst wird anhand von Abb. 4 deutlich, dass sich die Grundkonzentration der FESR und TCOCNN Modelle deutlich unterscheiden. So ist beispielsweise die Grundkonzentration für das TCOCNN bezüglich der Formaldehydkonzentration immer deutlich geringer als die des FESR Modells. Im Gegensatz dazu ist die Grundkonzentration des TCOCNN Modells für Was-

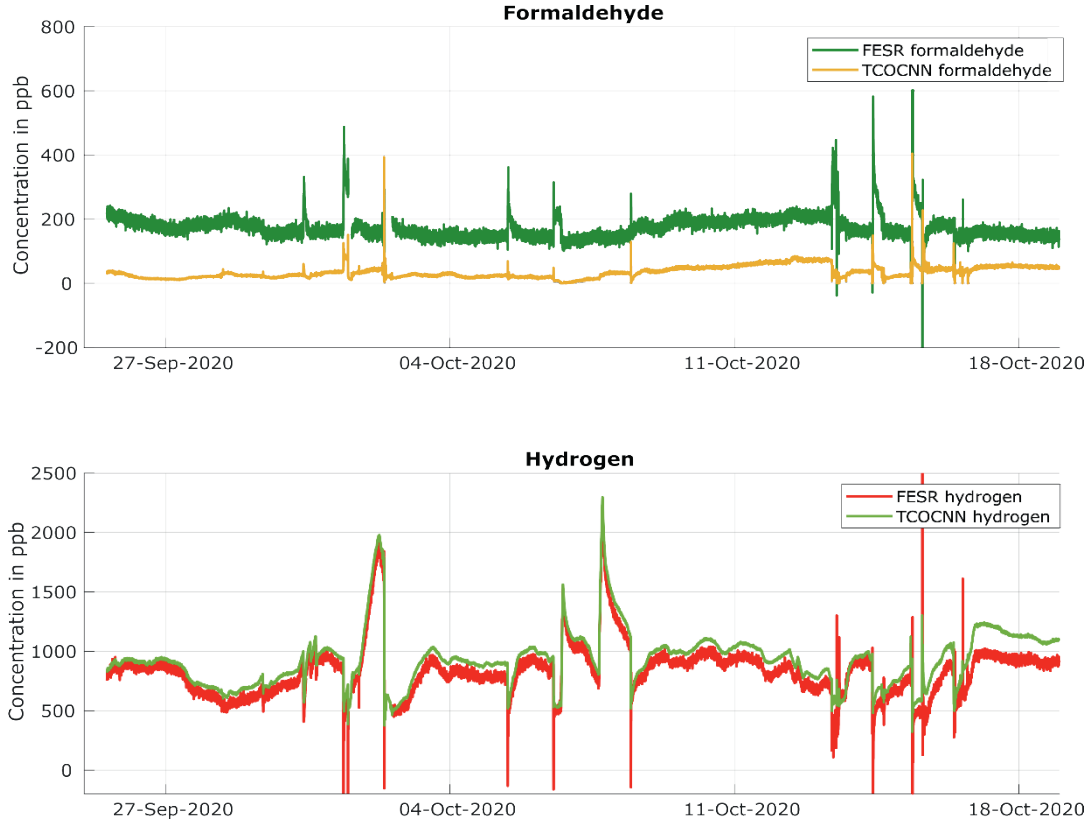


Abb. 4: Vorhersage von Formaldehyd und Wasserstoff über einen längeren Zeitraum mittels TCOCNN und FESR [13].

serstoff leicht höher. Bezüglich der absoluten Genauigkeit kann keine Aussage getroffen werden, da beide Modelle gleichermaßen falsch liegen können. Um dies genau zu spezifizieren, sind weitere kalibrierte Referenzsysteme notwendig. Es kann allerdings festgehalten werden, dass die vorhergesagten Konzentrationen des TCOCNN durchaus realistischer sind. Das kann bei Formaldehyde dadurch begründet werden, dass die vorhergesagten Konzentrationen des TCOCNN größtenteils unterhalb des von der WHO festgelegten Maximum von 80 ppb [12] liegen. Das gleiche gilt für Wasserstoff. Dort wird während der Lüftungsevents eine Konzentration von 500 ppb erwartet [11]. Dieser Wert wird für das TCOCNN während dieser Events erreicht, wohingegen das FESR meist niedrigere Konzentrationen vorhersagt.

Des Weiteren zeigt Abb. 4, dass die Vorhersagen der FESR Modelle eine größere Standardabweichung aufweist (Formaldehyde: TCOCNN 1.6 ppb vs. FESR 9.9 ppb; Wasserstoff: TCOCNN 3.7 ppb vs. FESR 19.0 ppb [13]) und das während der Lüftungsevents sowohl für Formaldehyd als auch Wasserstoff des Öfteren Konzentrationen unterhalb von 0 ppb vorhergesagt werden. Diese Signaleigenschaften zeigen deutlich, dass das TCOCNN Modell dazu fähig ist, qualitativ hochwertige Vorhersagen zu generieren, die dem FESR Modell überlegen sind [13].

Freisetzung von Aceton und Toluol im Feld

Abb. 5 zeigt, dass sowohl die FESR Modelle als auch die TCOCNNs die beiden Freisetzungen von Aceton und Toluol mit einer zeitlich hohen Auflösung detektieren können. Hierbei ist besonders anzumerken, dass die generellen zeitlichen Verläufe bei den verschiedenen datengetriebenen Modellen nahezu identisch sind.

Es ist ebenfalls zu sehen, dass die vorhergesagt Konzentration der Toluol Modelle langsamer ansteigt als die der Aceton Modelle. Dies kann damit begründet werden, dass Toluol einen niedrigeren Dampfdruck als Aceton besitzt. Dieser Effekt wird besonders bei der zweiten Freisetzung deutlich. Zu diesem Zeitpunkt war die Raumtemperatur geringer als bei der ersten Freisetzung (bei Nacht), weswegen das Toluol nochmals langsamer verdampfte. Mithilfe dieser Beobachtung kann gezeigt werden, dass beide Modelle physikalisch plausible Verläufe vorhersagen.

Des Weiteren ist zu sehen, dass sowohl das TCOCNN (550 ppb) als auch das FESR Modell (600 ppb) für die beiden Gase Aceton und Toluol Konzentrationsanstiege

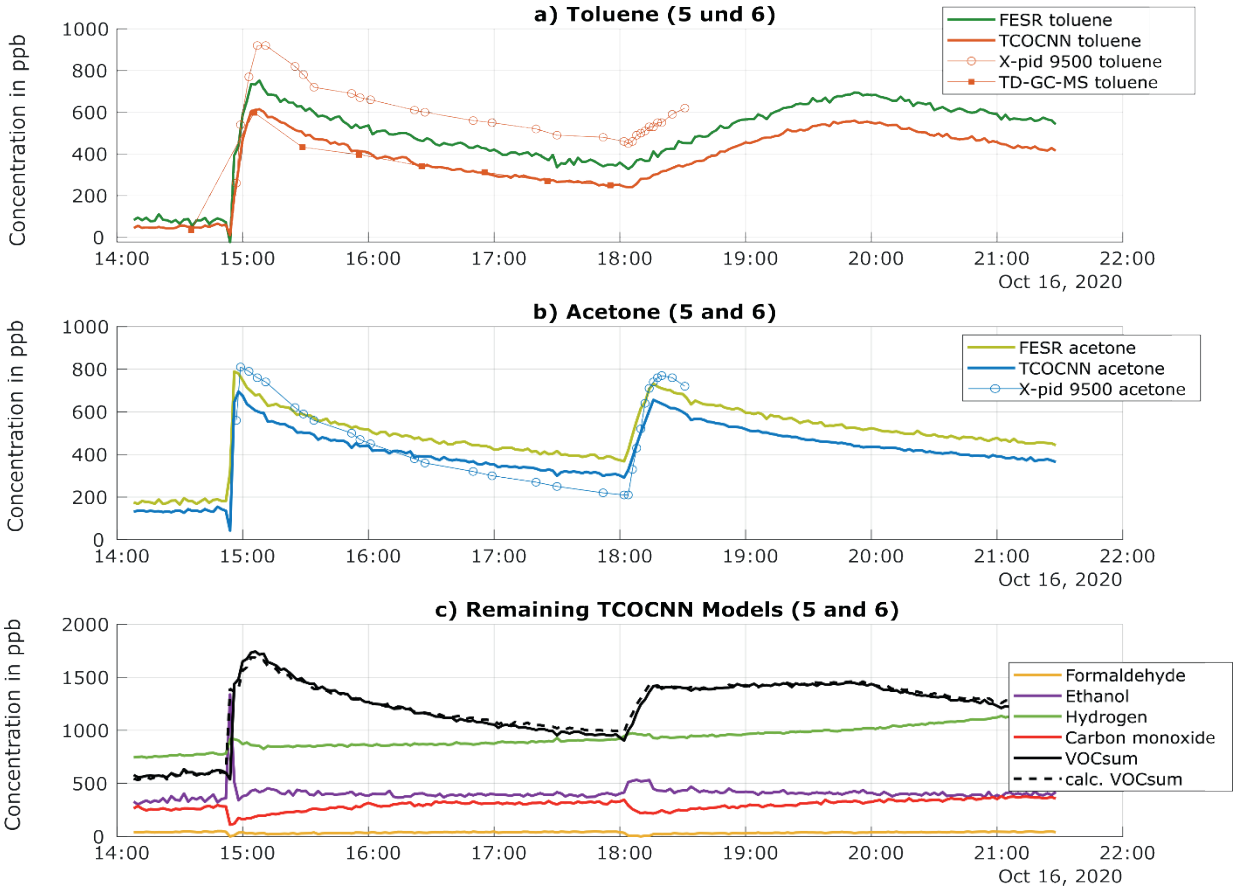


Abb. 5: Vorhersage aller Gase während der Freisetzung von Toluol und Aceton mittels TCOCNN, FESR, X-pid 9500 und TD-GC-MS. (a) Vorhersage von Toluol mittels TCOCNN, FESR, X-pid 9500 und TD-GC-MS. (b) Vorhersage von Aceton mittels TCOCNN, FESR, X-pid 9500. (c) Vorhersage aller anderen trainierter Gase und Kenngrößen mittels TCOCNN (angepasst von [7,13]).

nahe der theoretisch freigesetzten Menge von 600 ppb vorhersagen. Wie allerdings schon im Abschnitt bezüglich der generellen Feldtestergebnissen angemerkt, kann sowohl das TCOCNN als auch das FESR Modell näher an dem tatsächlichen Konzentrationsanstieg liegen. Dies liegt vor allem daran, dass der Anstieg der Konzentration sensorseitig durch Verluste aufgrund von Ventilation, Adsorption an Oberflächen oder ungleichmäßiger Verteilung im Raum sowohl geringer als auch höher zu dem theoretisch zu erwartendem Wert sein kann. Um weitere Aussagen über die Qualität der Vorhersagen treffen zu können, wurden zusätzlich zu den Gassensoren ebenfalls Daten mit dem X-pid 9500 und dem TD-GC-MS aufgezeichnet.

Das Referenzsystem X-pid-9500 sagt sowohl für Aceton als auch Toluol eine höhere maximale Konzentration als die datengetriebenen Modelle vorher. Die höhere Konzentration kann damit erklärt werden, dass die Quantifikationsgrenze für Toluol bei 1 ppm und für Aceton bei 500 ppb liegt und damit die reelle Konzentration der beiden Gase von den gemessenen Werten abweichen können. Nichtsdestotrotz kann mithilfe des X-pid 9500 der generelle Verlauf der datengetriebenen Modelle validiert werden.

Das TD-GC-MS als „Gold-Standard“ für Toluol kann über die absolute Konzentration von Toluol eine Aussage treffen. Dabei ist zu sehen, dass das TD-GC-MS sowohl eine ähnliche Grundkonzentration als auch Konzentrationsanstieg wie das TCOCNN vorhersagt. Allerdings muss angemerkt werden, dass das GC-MS nicht kalibriert war und deshalb die Ergebnisse mit Vorsicht betrachtet werden müssen. Nichtdestotrotz gibt das Ergebnis einen Hinweis darauf, dass das TCOCNN Modell möglicherweise dazu in der Lage ist, genauere Konzentration vorherzusagen.

In Abb. 5c sind die Modelle des TCOCNNs für die weiteren Gase abgebildet. Dabei entspricht der Summen-VOC-Wert weitestgehend der Addition der verschiedenen Einzelgase (VOCs). Außerdem sind die Modelle der anderen Gase kaum von den Freisetzungen von Aceton und Toluol beeinflusst. Ethanol und Formaldehyde zeigen lediglich einen temporären und verhältnismäßig vernachlässigbaren Ausschlag. Bezüglich des Wasserstoffs sind ebenfalls kleine kurze Anstiege zu erkennen, wobei die ursprüngliche Konzentration schnell wieder erreicht wird. Wasserstoff zeigt des Weiteren einen Anstieg über die Zeit. Dieser Anstieg kann mit dem Zerfall der VOCs in Wasserstoff in Verbindung gebracht werden. Das einzige Gas, welches signifikant von den Freisetzungstests beeinflusst wird, ist Kohlenstoffmonoxide. Für dieses Gas kann ein deutlicher Abfall der Konzentration beobachtet werden, welcher deutlich über eine längere Periode anhält. Dieser Effekt kann damit begründet werden, dass der SGP30 keine besonders gute Selektivität für dieses Gas besitzt [7], wie bereits mithilfe der datengetriebenen Modelle in den Laboruntersuchungen gezeigt [13].

Diskussion

Die gezeigten Ergebnisse belegen, dass das TCOCNN sowohl im Labor als auch in den Feldtests zur Quantifizierung von VOCs und Hintergrundgasen eingesetzt werden kann und durchaus bessere Ergebnisse liefert als die linearen Modelle der FESR Methode. Es wurde gezeigt, dass die TCOCNN Methode für alle Gase, die während der Laboruntersuchung analysiert wurden, kleinere RMSE Werte als die FESR Modelle erreicht. Bezüglich der Feldtests waren die vorhergesagten Konzentrationen des TCOCNN Modell von höherer Qualität als die der FESR Modelle, da eine geringere Standardabweichung erreicht werden konnte und keine Vorhersagen unterhalb von 0 ppb getroffen wurden. Bezüglich der Freisetzungstests war deutlich zu erkennen, dass sowohl das FESR Modell als auch das TCOCNN dazu in der Lage waren die Freisetzungen mit hoher zeitlicher Auflösung zu detektieren. Letztlich bestand die höchste Übereinstimmung für Toluol zwischen dem TD-GC-MS und dem TCOCNN Modell. Diese Ergebnisse bestätigen, dass das TCOCNN Modell in Verbindung mit MOS-Gassensoren und komplexer Betriebsmodi dazu in der Lage ist, die Qualität der Innenraumluft vorherzusagen.

Zukünftige Arbeiten werden die absolute Genauigkeit, der TCOCNN- und der FESR-Methoden mit Hilfe von kalibrierten Referenzmesssystemen untersuchen. Des Weiteren ist immer noch offen, auf Basis welcher Features das TCOCNN Modell seine Vorhersagen trifft und wie diese Features physikalisch zu interpretieren sind.

Literatur

[1] United Nations, D.o.E.; Development, S.A. Ensure healthy lives and promote well-being for all at all ages. https://sdgs.un.org/ goals/goal3. (Aufgerufen: 26.08.2021)

[2] Hauptmann, M. et al.: Mortality from Solid Cancers among Workers in Formaldehyde Industries. American Journal of Epidemiology (2004) 159, 1117–1130, doi:10.1093/aje/kwh174.

[3] U.S. Environmental Protection Agency. 1989. Report to Congress on indoor air quality: Volume 2. EPA/400/1-89/001C. Washington, DC.

[4] Schütze, A.; Sauerwald, T.: Indoor air quality monitoring, in: Eduard Llobet (ed.): Advanced Nanomaterials for Inexpensive Gas Microsensors, Elsevier, 2020, Pages 209-234, ISBN: 978-0-12-814827-3

[5] Pegas P N et al.: Indoor and outdoor characterization of organic and inorganic compounds in city centre and suburban elementary schools of Aveiro, Portugal. Atmospheric Environment (2012) 55:80–89.

[6] Paciencia I, et al.: A systematic review of evidence and implications of spatial and seasonal variations of volatile organic compounds (VOC) in indoor human environments. J. Toxicol. Environ. Health B (2016) 19(2):47–64.

[7] Baur, T. et al.: A. Field Study of Metal Oxide Semiconductor Gas Sensors in Temperature Cycled Operation for Selective VOC Monitoring in Indoor Air. Atmosphere (2021) 12, 647. doi:10.3390/atmos12050647.

[8] Robin, Y. et al.: Machine Learning based calibration time reduction for Gas Sensors in Temperature Cycled Operation. 2021 IEEE Int. Instr. Meas. Techn. Conf. (I2MTC), pp. 1–6. doi:10.1109/I2MTC50364.2021.9459919.

[9] Schultealbert, C.; Baur, T.; Schütze, A.; Böttcher, S.; Sauerwald, T. A novel approach towards calibrated measurement of trace gases using metal oxide semiconductor sensors. Sens. Actuators B Chem. 2017, 239, 390–396.

[10] Baur, T.; Schütze, A.; Sauerwald, T. Optimierung des temperaturzyklischen Betriebs von Halbleitergassensoren (Optimization of temperature-cycled operation of semiconductor gas sensors). TM-Tech. Mess. 2015, 82, 187–195.

[11] R. Schleyer, E.B.; Wallasch, M. Das Luftmessnetz des Umweltbundesamtes. Umweltbundesamt: Dessau-Roßlau, Germany2013.

[12] WHO. WHO Regional Office for Europe Centers of Disease Control, WHO Guidelines for Indoor Air Quality: Selected Pollutants; World Health Organization: Copenhagen, Denmark, 2010; Volume 9, ISBN 978-92-890-0213-4.

[13] Robin, Y.; Amann, J.; Baur, T.; Goodarzi, P.; Schultealbert, C.; Schneider, T.; Schütze, A. High-Performance VOC Quantification for IAQ Monitoring Using Advanced Sensor Systems and Deep Learning. Atmosphere 2021, 12, 1487. https://doi.org/10.3390/atmos12111487

DOI 10.5162/15dss2021/5.4

Abschätzung der Messunsicherheit in smarten Sensornetzwerken mittels künstlichem Rauschen und maschinellem Lernen

Tanja Dorst[1], Patrick Christoffel[2], Julian Kunze[2], Andreas Schütze[1,2]

[1]ZeMA – Zentrum für Mechatronik und Automatisierungstechnik gGmbH, Saarbrücken, Deutschland
[2]Universität des Saarlandes, Lehrstuhl für Messtechnik, Saarbrücken, Deutschland
Kontakt: t.dorst@zema.de

Einleitung

Kalibrierung, Messunsicherheiten und damit Rückführbarkeit auf das internationale Einheitensystem SI (*Système International d'Unités*) zählen zu den bedeutendsten metrologischen Grundprinzipien. Zur Bewertung der Datenqualität und damit auch der Qualität und Verlässlichkeit von Ergebnissen des maschinellen Lernens ist die Kenntnis über die Größe der Messunsicherheit der Messwerte erforderlich. Zur genauen Bestimmung der Messunsicherheit ist in der Regel eine Kalibrierung der verwendeten Sensoren nötig, was sehr aufwendig und teuer sein kann. Daher wird aus Kostengründen in neuen Prüfständen oft auf kalibrierte Sensoren verzichtet und auch bei bestehenden Prüfständen gestaltet sich ein Sensorausbau zur Rekalibrierung oft schwierig bis unmöglich. Für grobe Abschätzungen der zu erwartenden Messunsicherheiten bei den verwendeten Sensoren und damit der Datenqualität an sich können Informationen aus den Datenblättern der Sensorhersteller herangezogen werden. Auch dies gestaltet sich schwierig, da gerade bei älteren Sensoren oft keine Datenblätter mehr zur Verfügung stehen und Datenblätter nicht immer alle benötigten Informationen beinhalten; zudem stellt dies eine sehr pessimistische Abschätzung dar.

Aus den genannten Gründen zeigt dieser Beitrag, wie auch ohne Informationen aus Herstellerdatenblättern und ohne teure Kalibrierung die Messunsicherheit der Sensorrohdaten mit Hilfe von künstlich erzeugtem additivem weißem Rauschen und einer Mustererkennung mittels maschinellem Lernen abgeschätzt werden kann. Mit Hilfe von Kurvenfits an die Kurve, die aus den Klassifikationsergebnissen der verschiedenen Rauschlevel entsteht, können Rückschlüsse von den Klassifikationsergebnissen auf die Standardmessunsicherheit des Sensors gezogen werden, da ein Rauschen größer als die Standardmessunsicherheit zu einer Verschlechterung der Klassifikationsergebnisse führt.

Grundlagen und allgemeine Vorgehensweise

Um Messunsicherheiten nach dem *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement* (GUM) [1] und seinen beiden Ergänzungen [2,3] bestimmen zu können, werden neben den eigentlichen Messwerten auch die zugeordneten Standardmessunsicherheiten benötigt. Um diese Unsicherheiten in diesem Beitrag abzuschätzen, wird ein Datensatz eines hydraulischen Systems betrachtet [4]. In diesem in Abb. 1

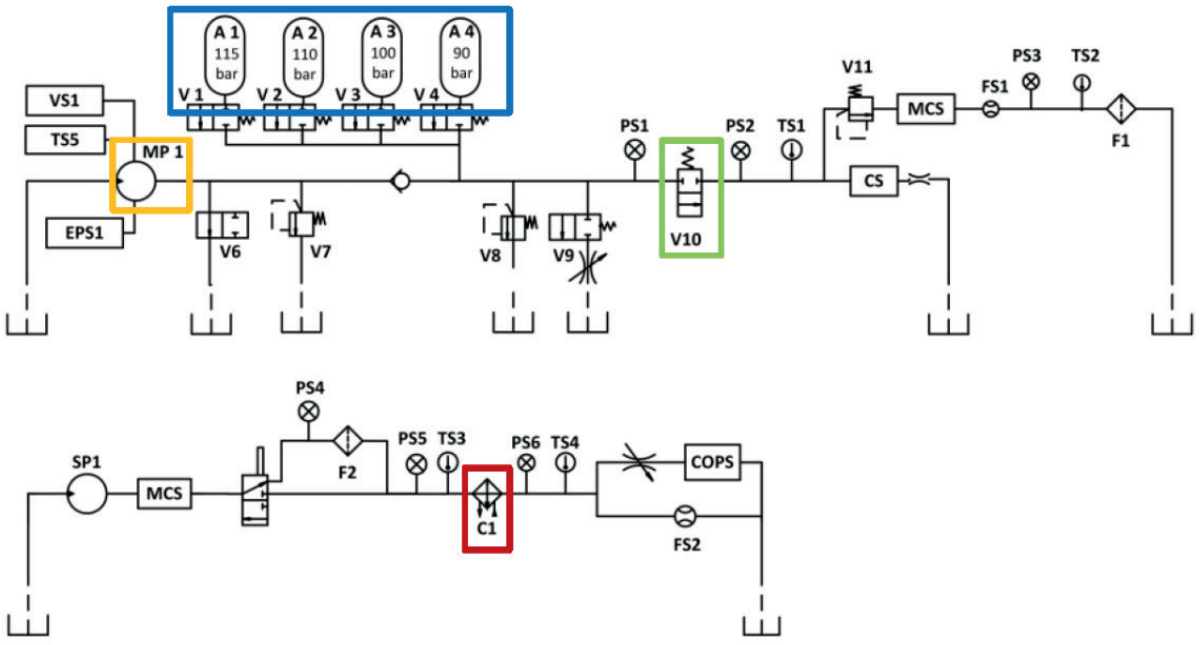


Abb. 1: Hydraulisches System, in welchem verschiedene Fehlerzustände der Hydrospeicher A1 - A4 (blau), der Pumpe MP1 (gelb), des Ventils V10 (grün) und des Kühlers C1 (rot) simuliert werden [5]

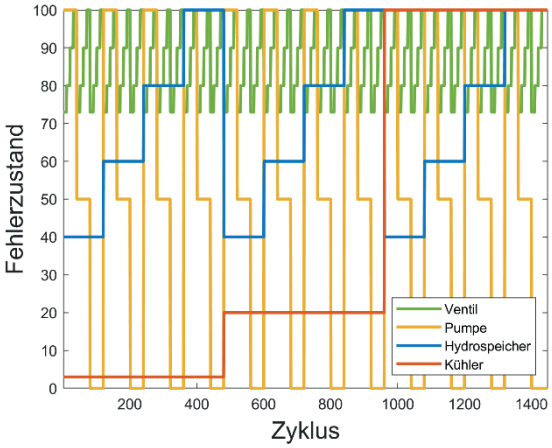


Abb. 2: Fehlerzustände von Ventil, Pumpe, Hydrospeicher und Kühler für die verschiedenen Zyklen.

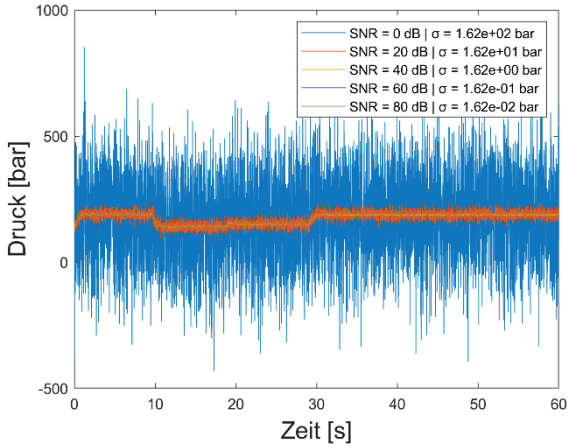


Abb. 3: Signal des Drucksensors PS1 (vgl. Abb. 1) mit additivem weißem gaußsches Rauschen verschiedener Intensitäten.

gezeigten hydraulischen System werden zyklenweise verschiedene Fehlerzustände bei Pumpe, Hydrospeicher, Ventil und Kühler simuliert und die Daten mit Hilfe von 17 Sensoren erfasst [5, 6]. Die vier verschiedenen Fehlerzustände pro Zyklus werden wie in Abb. 2 gezeigt systematisch kombiniert, so dass der Datensatz Zyklen mit jeder Kombination der Fehlerzustände enthält. Zur Abschätzung der Messunsicherheit eines Sensors werden je ein Sensor und ein Fehlerzustand aus dem Datensatz des hydraulischen Systems ausgewählt.

Die Sensorrohdaten $S \in \mathbb{R}^{m \times n}$ werden durch additives weißes gaußsches Rauschen $N \in \mathbb{R}^{m \times n}$ manipuliert (siehe Abb. 3), d.h. es gilt für die verrauschten Daten

$$G = S + N \in \mathbb{R}^{m \times n},$$

mit $n(t) = \sigma \cdot rand,\ \sigma \in \mathbb{R}.\ rand \in \mathbb{R}^{m \times n}$ bezeichnet die normalverteilten Zufallszahlen derselben Dimension wie die Sensorrohdaten S. Für die quadrierte Standardunsicherheit gilt

$$\sigma^2 = 10^{\frac{sp-snr}{10}} \qquad (1)$$

wobei $sp \in \mathbb{R}$ den Signalpegel (engl. *signal power*) und $snr \in \mathbb{R}$ das Signal-Rausch-Verhältnis (SNR, engl. *signal-to-noise ratio*) eines Zyklus, d.h. einer Zeile der Matrix S, bezeichnet. Der Signalpegel berechnet sich durch

$$sp = 10 \cdot \log_{10} \frac{\|s\|_2^2}{n},$$

wobei s einen Zyklus aus S, $\|s\|_2$ die euklidische Norm und n die Anzahl der Datenpunkte in einem Zyklus bezeichnet.

Zur Abschätzung der Messunsicherheiten wird eine der 15 möglichen Kombinationsmöglichkeiten aus Merkmalsextraktion (ME) und -selektion (MS) aus der Toolbox für automatisiertes maschinelles Lernen [7, 8], deren Schema in Abb. 4 gezeigt ist,

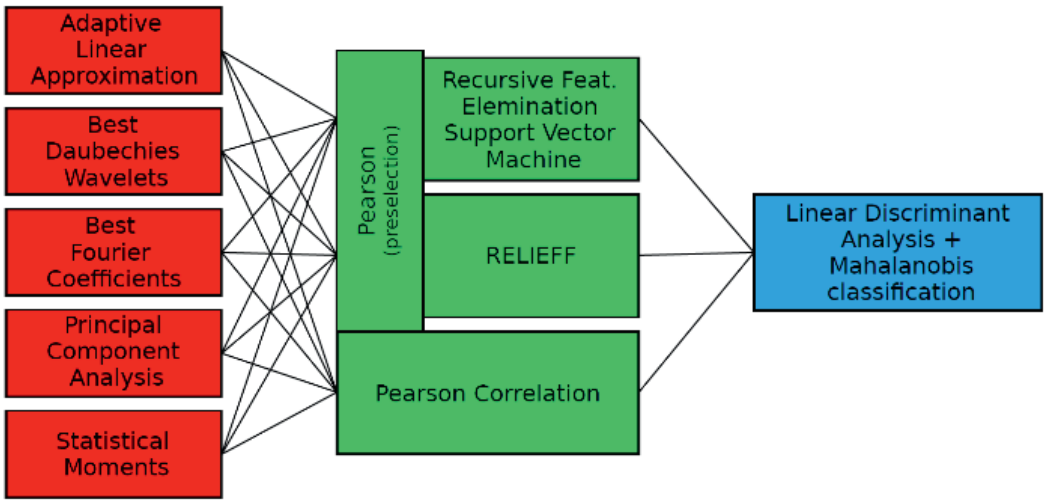


Abb. 4: Automatisierte Toolbox für maschinelles Lernen mit Merkmalsextraktion (ME, rot), Merkmalsselektion (MS, grün) und Klassifikation (blau) [9].

ausgewählt. Während bei der ME Merkmale aus den Sensorrohdaten generiert werden, wird bei der MS die Anzahl der Merkmale deutlich reduziert und redundante Merkmale oder Merkmale mit wenig bis kaum Informationsgehalt werden aus der Menge aller extrahierten Merkmale entfernt. Vor der Klassifikation wird zunächst eine weitere Dimensionsreduktion mittels Linearer Diskriminanzanalyse (LDA) durchgeführt, anschließend erfolgt die eigentliche Klassifikation mittels Mahalanobis Distanz zu den Gruppenmittelpunkten. Die drei Schritte ME, MS und abschließende Klassifikation werden mit den künstlich durch additives weißes gaußsches Rauschen verschiedener Rauschlevel verrauschten Sensorrohdaten durchgeführt.

Ergebnisse der Messunsicherheitsabschätzung durch maschinelles Lernen

Um Messunsicherheiten abschätzen zu können, muss zunächst gezeigt werden, dass ein Zusammenhang zwischen dem Klassifikationsergebnis und dem Rauschlevel der Eingangsdaten in die automatisierte Toolbox für maschinelles Lernen besteht.
Wie in Abb. 5 ersichtlich, besteht eine Korrelation zwischen dem SNR und der Anzahl an korrekt klassifizierten Daten, die eine statistische Relevanz aufweist. Es ist anzumerken, dass sich die Ergebnisse für einen einzelnen Sensor bezogen auf ein einzelnes Target repräsentativ reproduzieren lassen und bei schlechter werdendem SNR eine Verschlechterung der Klassifizierung, bis hin zu einem Punkt, an dem die Daten gleichverteilt einer zufälligen Klasse zugeordnet werden, aufweisen. Bei Verwendung mehrerer Sensoren ist dieses Verhalten nicht mehr garantiert, da die zusätzlichen Sensoren unter Umständen zu viel Information zur Klassifizierung beitragen, wodurch es einerseits zu einer starken Verzögerung bei der Verschlechterung der Ergebnisse kommen kann, andererseits tritt bedingt durch die Redundanz der Sensordaten oftmals gar keine Verschlechterung der Klassifikation ein. Im in Abb. 5 gezeigten Fall werden Fehlerzustände des Hydrospeichers (vier verschiedene Vordrücke) mittels Drucksensor PS1 klassifiziert. Dabei zeigt die ME mittels Hauptkomponentenanalyse (PCA) in Kombination mit anschließender MS mittels Pearson Korrelation gute und zuverlässige Ergebnisse, je nach ausgewähltem Sensor und Art der benötigten Information kann es jedoch notwendig sein, andere Methoden zu verwenden.
Um aus den gewonnenen Erkenntnissen einen Rückschluss auf die Messunsicherheit ziehen zu können, wurde nachfolgend versucht, mittels verschiedener Methoden eine Berechnungsvorschrift abzuleiten. Wie in Abb. 6 ersichtlich ist eine Rückrechnung durch eine Exponentialfunktion mit zwei Termen als approximierende Kurve möglich, wobei die Approximation speziell im Bereich großer SNR-Werte nicht immer zu brauchbaren Ergebnissen führt.
Auch andere Modellfunktionen, u.a. einfache lineare Funktionsansätze, aber auch deutlich aufwändigere Fourierreihenansätze

$$f(x) = a_0 + a_1 \cdot \cos(x \cdot p) + b_1 \cdot \sin(x \cdot p) + a_2 \cdot \cos(2 \cdot x \cdot p) + b_2 \cdot \sin(2 \cdot x \cdot p) \ ,$$

weisen ähnlich Probleme auf. Dies lässt sich auf die hohe Dichte an Datenpunkten in diesem Bereich zurückführen, wodurch dort vermehrt redundante Punkte auftreten, während die Anzahl an Punkten im Bereich schlechter werdender Klassifikationsergebnisse immer weiter abnimmt. Eine Möglichkeit, das Ergebnis zu verbessern, besteht in der Einschränkung des Definitionsbereichs beispielsweise auf Klassifikationsraten zwischen 70% und 100%, da

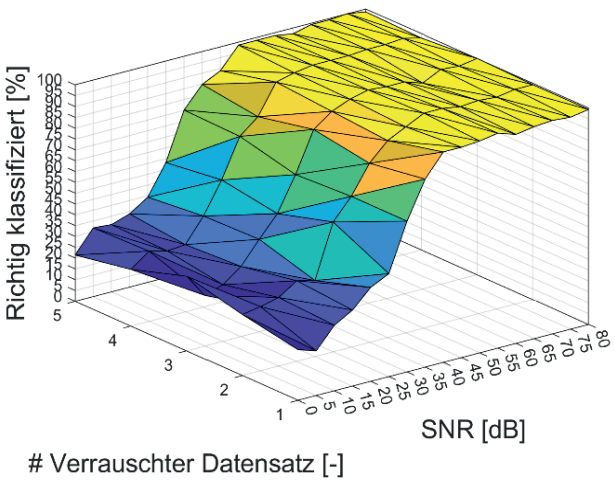


Abb. 5: Klassifikationsergebnisse für verschiedene Rauschintensitäten und den Akkumulator mit Hauptkomponentenanalyse (PCA) als ME und Pearson Korrelation als MS.

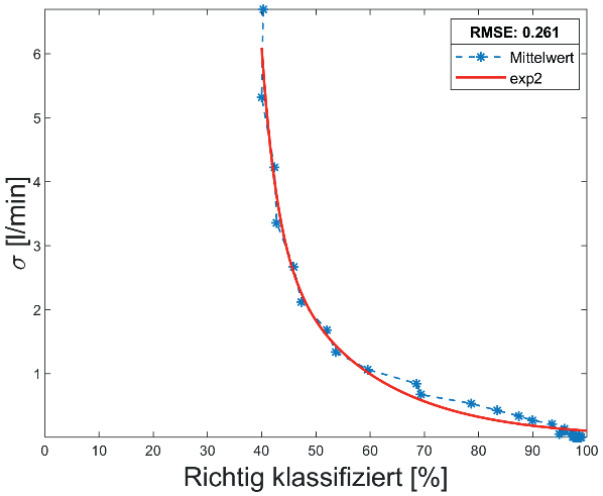


Abb. 6: Kurvenfit der Standardabweichung über den korrekt klassifizierten Daten für den Durchflusssensor FS1 (vgl. Abb. 1) mittels Exponentialfunktion (Modellfunktion:
$f(x) = a \cdot exp(b \cdot x) + c \cdot exp(d \cdot x)$).

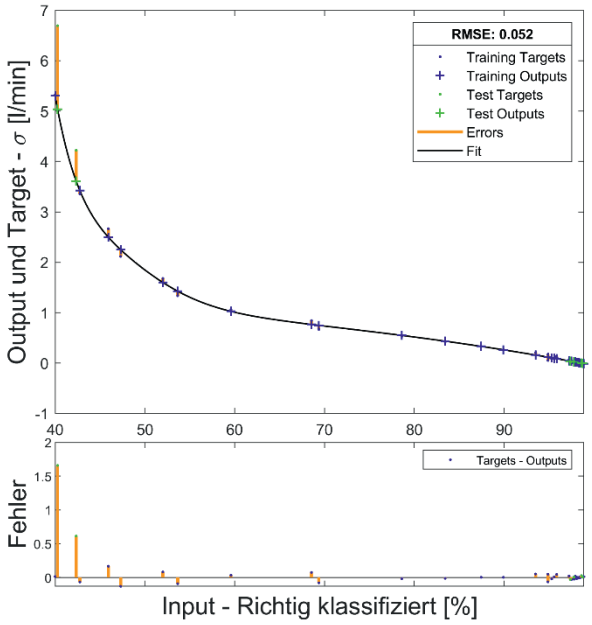


Abb. 7: Kurvenfit mittels Feedforward Neural Network der Standardabweichung über dem Prozentsatz der korrekt klassifizierten Daten für den Durchflusssensor FS1 (vgl. Abb. 1).

schlechtere Klassifikationsraten in einem realen System keinen nennenswerten Nutzen mehr haben. Hierdurch kann je nach verwendetem Sensor ein nahezu linearer Verlauf angenommen werden. Da dies jedoch nicht auf alle Sensoren anwendbar ist, ist es naheliegend, eine allgemeinere Methode zur Kurvenanpassung zu finden.

Eine Möglichkeit hierfür bieten neuronale Netze (NN), die als universeller Interpolator auch komplexe Kurvenverläufe präzise und zuverlässig abbilden können. Abb. 7 zeigt das Ergebnis eines *Feedforward Neural Network* mit einem *Hidden Layer* und fünf Neuronen, wobei als Trainingsalgorithmus *Bayesian Regularization* zum Einsatz kam. Das NN bildet den Zusammenhang zwischen der Klassifikationsrate und dem vorhandenen Rauschen bei dem vorliegenden Beispiel sowie bei anderen Sensoren des Hydraulikdatensatzes zuverlässig ab, jedoch ist der Rechenaufwand im Vergleich zu anderen Interpolationsmethoden häufig höher. Zudem besteht bei neuronalen Netzen immer die Gefahr des Overfittings, d.h. der Überanpassung des Modells an die Daten.

Zuletzt wird die Möglichkeit der Abschätzung über eine Sigmoidfunktion betrachtet. Im Folgenden wird der sich aus der Simulation ergebende Anteil der korrekt klassifizierten Messzyklen in Abhängigkeit vom SNR als C bezeichnet. An diese diskreten Werte wird eine analytische kontinuierliche Funktion $C(snr)$ gefitted. Um eine inverse $snr(C)$ bestimmen zu können, muss $C(snr)$ streng monoton sein. Außerdem lassen sich Grenzwerte durch die im Folgenden beschriebenen Überlegungen definieren.

Geht SNR gegen 0, so ist zu erwarten, dass die Messzyklen gleichverteilt sind und zufällig in eine Klasse eingeordnet werden. Daher gilt

$$\lim_{snr \to 0} C(snr) = C_{min} \approx \frac{1}{n_{classes}}. \tag{2}$$

Für sehr großes SNR hingegen sollte sich $C(snr)$ einem maximalen Wert annähern, der der Klassifikationsrate ohne Rauschen entspricht. In diesem Fall soll also

$$\lim_{snr \to \infty} C(snr) = C_{max} \tag{3}$$

gelten. Schließlich soll sich die analytische kontinuierliche Funktion $C(snr)$ durch möglichst wenige, interpretierbare Parameter beschreiben lassen. Eine mögliche Funktionenklasse, die diese Eigenschaften erfüllt, sind Sigmoidfunktionen. Insbesondere die logistische Funktion [10]

$$f(x) = \frac{L}{1 + e^{-t(x - x_0)}} \tag{4}$$

bietet sich als Ausgangspunkt an. Da die gefittete Standardunsicherheit $\sigma(C)$ von Interesse ist und diese unter anderem, wie in (1) beschrieben, von einem Term $10^{g(snr,sp)}$ abhängig ist, wird die Sigmoidfunktion so modifiziert, dass an Stelle der Basis e (Eulersche Zahl) die Basis 10 verwendet wird. Wie noch gezeigt wird, ergibt sich somit eine elegantere Beschreibung von $\sigma(C)$.

Als Ansatz wird die modifizierte, skalierte und verschobene Fit-Funktion

$$C(snr) = C_{min} + \frac{C_{max} - C_{min}}{1 + 10^{-t\,(snr_{infl} - snr)}} \tag{5}$$

mit dem Parameter

$$snr_{infl} = snr\left(\frac{C_{max} + C_{min}}{2}\right) \tag{6}$$

als Wert von snr am Wendepunkt P_{infl} der Sigmoidfunktion verwendet (vgl. Abb. 8). Der Parameter t hängt mit der Steigung s in P_{infl} über

$$s = -\frac{t \cdot \ln(10) \cdot (C_{min} - \mathrm{C}_{max})}{4} \tag{7}$$

zusammen.

Um diesen theoretischen Ansatz zu testen, wurden mit Hilfe der automatisierten ML-Toolbox [7, 8] die Fehlerzustände des Hydrospeichers aus den Sensordaten des Durchflusssensors FS1, der Motorleistung EPS1 und des Drucksensors PS2 extrahiert. Die beste Kombination war stets Beste Fourier Koeffizienten (BFC) [11] als ME, Pearson als Vorselektion mit anschließender *Recursive Feature Elimination Support Vector Machine* (RFESVM) [12, 13] als MS. Die Klassifikation wurde immer mit LDA und Mahalanobis Distanz durchgeführt. Die Parameter C_{min} und

C_{max} werden nach Gl. (2) und (3) bestimmt, während t und snr_{infl} an die Simulationsdaten gefittet werden. In Abb. 8 ist einer dieser Fits gezeigt. Um schließlich die Standardmessunsicherheit $\sigma(C)$ aus dem Anteil der korrekt klassifizierten Datensätze zu bestimmen, wird Gl. (5) nach snr aufgelöst und in Gl. (1) eingesetzt. Mit

$$\sigma_{infl}^2 = 10^{\frac{sp-snr_{infl}}{10}} \tag{8}$$

ergibt sich somit zur Abschätzung der Standardmessunsicherheit die simple Formel

$$\sigma(C) = \sigma_{infl}\left(-\frac{C-C_{\max}}{C-C_{min}}\right)^{\frac{1}{20\,t}}. \tag{9}$$

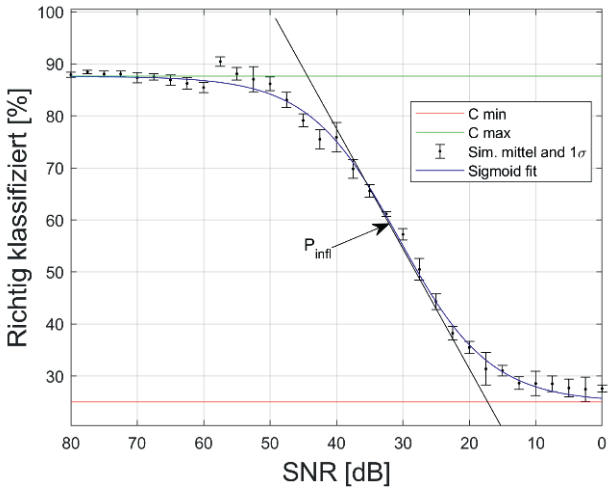


Abb. 8: Fit der Klassifikationsergebnisse mit dem Durchflusssensor FS1 für den Hydrospeicher durch eine Sigmoidfunktion.

Der Graph dieser Funktion für die Abschätzung der Messunsicherheit des Durchflusssensor FS1 ist in Abb. 9 gezeigt.

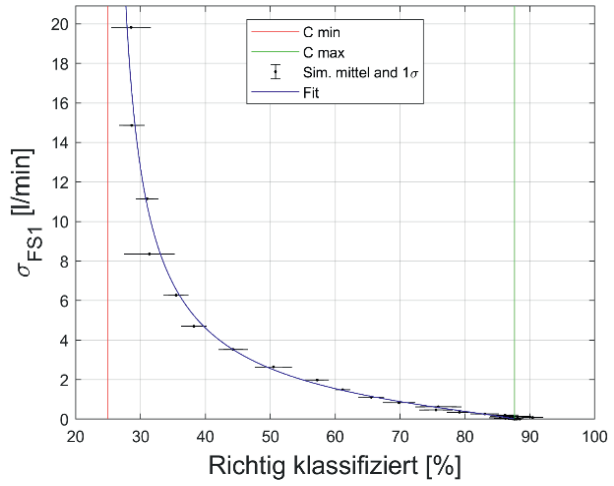


Abb. 9: Funktion $\sigma(C)$ nach Gl. (9) für die Daten des Durchflusssensor FS1 und die Fehlerzustände des Hydrospeichers als Target.

Zusammenfassung und Ausblick

In diesem Beitrag wurde gezeigt, wie man mittels künstlicher erzeugtem weißen gaußschen Rauschen nützliche Abschätzungen bzgl. der Standardmessunsicherheit von Sensoren durchführen kann, da Abschätzungen mit Hilfe der Datenblätter der Sensorhersteller meist sehr grob sind. Zur Abschätzung wurden zum einen einfache Kurvenfits u.a. mit linearen und exponentiellen Funktionen, Fourrierreihenansätzen sowie der Sigmoidfunktion verwendet, zum anderen kamen auch neuronale Netze zum Einsatz. Ein guter Kompromiss zwischen Laufzeit und Genauigkeit zeigt dabei die Sigmoidfunktion. Neuronale Netze zeigen zwar sehr gute Ergebnisse, allerdings bei deutliche größerem Rechenaufwand.
Für die Zukunft ist geplant, diese so abgeschätzten Standardmessunsicherheiten mit Hilfe von Kalibrierdaten und somit wahren Messunsicherheitswerten verschiedener Sensoren auf ihre Genauigkeit zu untersuchen.

Literatur

[1] Joint Committee for Guides in Metrology, “JCGM 100: Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement,” JCGM100:2008, 2008.

[2] Joint Committee for Guides in Metrology, “JCGM 101: Evaluation of measurement data — Supplement 1 to the ‘Guide to the expression of uncertainty in measurement’ — Propagation of distributions using a Monte Carlo method,” JCGM101:2008, 2008.

[3] Joint Committee for Guides in Metrology, “JCGM 102: Evaluation of measurement data – Supplement 2 to the ‘Guide to the expression of uncertainty in measurement’ – Extension to any number of output quantities,” JCGM102:2011, 2011.

[4] T. Schneider, S. Klein, and M. Bastuck, “Condition monitoring of hydraulic systems Data Set at ZeMA,” Apr. 2018, doi: 10.5281/ZENODO.1323611.

[5] N. Helwig, E. Pignanelli, and A. Schütze, “Condition monitoring of a complex hydraulic system using multivariate statistics,” Conf. Rec. - IEEE Instrum. Meas. Technol. Conf., pp. 210–215, 2015, doi: 10.1109/I2MTC.2015.7151267.

[6] N. Helwig, E. Pignanelli, and A. Schütze, “Detecting and Compensating Sensor Faults in a Hydraulic Condition Monitoring System,” Proc. Sens. 2015, pp. 641–646, 2015, doi: 10.5162/sensor2015/D8.1.

[7] T. Schneider, N. Helwig, and A. Schütze, “Automatic feature extraction and selection for classification of cyclical time series data,” Tech. Mess., vol. 84, no. 3, pp. 198–206, 2017, doi: 10.1515/teme-2016-0072.

[8] T. Schneider, N. Helwig, and A. Schütze, “Industrial condition monitoring with smart sensors using automated feature extraction and selection,” Meas. Sci. Technol., vol. 29, no. 9, 2018, doi: 10.1088/1361-6501/aad1d4.

[9] T. Dorst, Y. Robin, T. Schneider, and A. Schütze, “Automated ML Toolbox for Cyclic Sensor Data,” MSMM 2021, pp. 149–150, 2021.

[10] L. J. Reed, and J. Berkson, “The Application of the Logistic Function to Experimental Data.,” J. Phys. Chem., vol. 33, no. 5, pp. 760–779, May 1929, doi: 10.1021/j150299a014.

[11] F. Mörchen, “Time series feature extraction for data mining using DWT and DFT,” Dep. Math. Comput. Sci. Univ. Marburg, Ger. - Tech. Rep., vol. 33, pp. 1–31, 2003.

[12] A. Rakotomamonjy, “Variable Selection Using SVM-based Criteria,” J. Mach. Learn. Res., vol. 3, pp. 1357–1370, 2003.

[13] I. Guyon, and A. Elisseeff, “An introduction to variable and feature selection,” J. Mach. Learn. Res., vol. 3, pp. 1157--1182, 2003.

DOI 10.5162/15dss2021/5.5

5.5
Waldbrandfrüherkennung mit Gassensoren

J. Müller, Dryad Networks GmbH, Berlin/D

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/6.1

6.1
Quanten-Sensortechnologien basierend auf Elektronenspins in Diamanten

P. Maletinsky, University of Basel, Basel/CH

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/6.2

Herstellung und Charakterisierung von smarten thermosensitiven Hydrogelen mit eingebetteten Gold- und Silber-Nanopartikeln

Klaudia Rückmann[1], Raoul G. C. Middendorff[1] und Julia Körner[1]

[1]Institut für Grundlagen der Elektrotechnik und Messtechnik, Leibniz Universität Hannover, Hannover, Deutschland
Kontakt: rueckmann@geml.uni-hannover.de

Einleitung

Smarte Hydrogele sind viskoelastische dreidimensionale Netzwerke aus hydrophilen Polymerketten, die als Reaktion auf einen äußeren Stimulus (z. B. pH-Wert, Temperatur, Licht, Ionenkonzentration oder bestimmte Moleküle) ihren Quellgrad signifikant ändern, d. h. große Mengen an Wasser auf- bzw. abgeben können [1, 2]. Die Stärke der Änderung hängt dabei sowohl vom äußeren Stimulus als auch von den chemischen und mechanischen Eigenschaften der Hydrogelmatrix ab [3]. Letztere lassen sich z. B. durch die Einbettung von metallischen Nanopartikeln verändern, so dass unter anderem Oberflächenadhäsion, mechanische Stabilität, optische Eigenschaften sowie das Quell- bzw. Entquellverhalten der smarten Hydrogele modifiziert werden können [4-6].

Um basierend auf diesem Ansatz zukünftig Hydrogele mit gewünschten Eigenschaften für Sensoranwendungen zu entwickeln, müssen zunächst die zugrunde liegenden Mechanismen, der Einfluss der Einbettung verschiedener Metall-Nanopartikel (Materialien, Größen, Oberflächenfunktionalisierungen) sowie entsprechende Herstellungsmethoden genauer untersucht und verstanden werden.

In der hier vorgestellten Untersuchung wurde der Einfluss von Gold- und Silber-Nanopartikeln auf das Quellverhalten von smarten thermoresponsiven Poly(N-Isopropylacrylamid) (PNIPAAm) Hydrogelen unterschiedlicher Dicken und Größen bei Temperaturänderung und in verschiedenen Konzentrationen von Phosphat-gepufferter Salzlösung (PBS) untersucht. Dazu wurden sowohl native (nanopartikelfreie) als auch Hydrogele mit eingebetteten Gold(Au)- und Silber(Ag)-Nanopartikeln unterschiedlicher Größen bei Verwendung gleicher Volumenkonzentrationen durch freie radikalische Polymerisation hergestellt.

Methoden und Materialien

Für die Herstellung aller PNIPAAm-Hydrogele wurden die folgenden Chemikalien verwendet: N-Isopropylacrylamid (NIPAAm, ≥99,0 %), N,N′-Methylenbisacrylamid (BIS, 99,0 %), Kaliumperoxodisulfat (KPS, ≥99,0 %) und N,N,N′,N′-Tetramethylethylendiamin (TEMED, 99,0 %). Alle Chemikalien wurden von Sigma-Aldrich (Steinheim, Deutschland) erworben. Zusätzlich wurden bei der Hydrogelsynthese sowohl Gold- als auch Silber-Nanopartikel unterschiedlicher Größen verwendet. Alle Nanopartikel sind mit Polyvinylpyrrolidon (PVP) beschichtet und in deionisiertem Wasser gelöst. Die verschiedenen Nanopartikel-Stammlösungen mit Konzentrationen von 5,1 mg/ml bis 5,5 mg/ml (Herstellerangabe) wurden von der Firma nanoComposix Europe (Prag, Tschechische Republik) erworben.

Sowohl die nativen (nanopartikelfreien) als auch die PNIPAAm-Hydrogele mit eingebetteten Nanopartikeln (s. Tab. 1) wurden durch freie radikalische Polymerisation aus dem Hauptmonomer NIPAAm in Anwesenheit des Vernetzers BIS synthetisiert. Dabei wurden KPS als Initiator und TEMED als Beschleuniger eingesetzt.

Zur Herstellung der nativen Hydrogele wurden zunächst NIPAAm (Konzentration von 0,51 mol/l), BIS (Konzentration von 0,021 mol/l) und KPS (Konzentration von 0,0037 mol/l) nacheinander in deionisiertem Wasser gelöst. Nach anschließendem Abkühlen der Lösung auf 0 °C in einem Wasserbad wurde diese 15 Minuten mit Stickstoff gespült. Danach erfolgte die Hinzugabe von TEMED mit einer Konzentration von 0,0083 mol/l. Nach der Hydrogelbildung, die über einen Zeitraum von 17 Stunden bei Raumtemperatur stattfand, wurden die Hydrogele für 7 Tage in deionisiertem Wasser gewaschen. Dabei erfolgte der Wasserwechsel jedes Mal nach 24 Stunden.

Bei der Synthese der Nanopartikel-Hydrogele wurde jeweils ein definiertes Volumen der Nanopartikel-Stammlösung in die Pregel-Lösung hinzugefügt, so dass insgesamt eine Nanopartikelkonzentration von 0,0018 vol.% erhalten wurde.

Tab. 1: Für die Untersuchungen verwendete Hydrogele

Hydrogele	Additive (Nanopartikel)	Konzentration an Nanopartikeln
PNIPAAm	keine	0 vol.%
Au-PNIPAAm	Gold (15 nm und 50 nm)	0,0018 vol.%
Ag-PNIPAAm	Silber (50 nm)	0,0018 vol.%

Ergebnisse

Abb. 1 zeigt zur Übersicht die verschiedenen durch freie radikalische Polymerisation hergestellten Hydrogele in deionisiertem Wasser mit einer Temperatur

von 21 °C. Beim Vergleich des Quellverhaltens der verschiedenen Proben bei Temperaturerhöhung kann beobachtet werden, dass die Ag-Hydrogele ein deutlich schnelleres und stärkeres Entquellen zeigen, als native und Au-Gele (vgl. Abb. 1B und 2). Es ist ein deutlich unterschiedlicher Entquellgrad sowie eine leichte Trübung aller Proben zu erkennen.

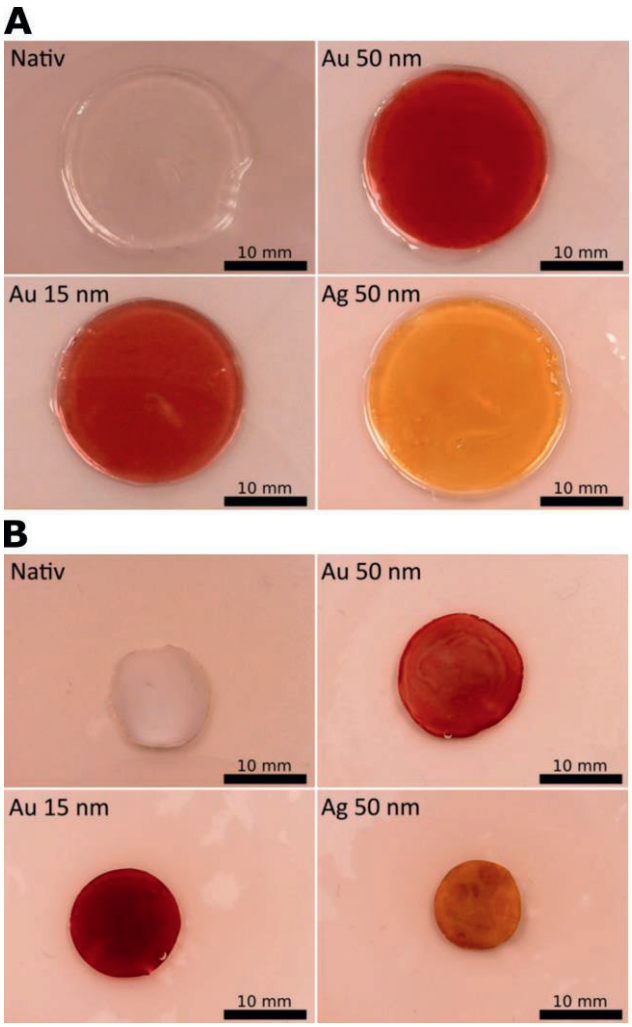


Abb. 1: (A) Thermoresponsive PNIPAAm-Hydrogele ohne Nanopartikel (nativ) und mit unterschiedlich großen eingebetteten Gold(Au)- und Silber(Ag)-Nanopartikeln bei 21 °C. (B) Entquellen der Proben bei Temperaturerhöhung auf 37 °C.

Weiterhin bewirkt die Einbettung von Gold-Nanopartikeln unabhängig von der Partikelgröße keine signifikante Veränderung des durch Temperaturänderung hervorgerufenen Entquellverhaltens. Dies deutet darauf hin, dass der Einbau der Silber-Nanopartikel in die Hydrogelmatrix auf andere Weise erfolgt, als im Fall von Gold. Um die zugrunde liegenden Mechanismen besser zu verstehen, bedarf es weiterer Untersuchungen.

An dieser Stelle lässt sich jedoch bereits festhalten, dass Gold-Nanopartikel zwar das Quellverhalten von PNIPAAm-Hydrogelen nicht beeinflussen, sehr wohl aber deren Farbe. Damit eignet sich eine entsprechende Dotierung zur Einfärbung von Hydrogelen, so dass diese z. B. mit optischen Methoden deutlich leichter analysiert werden können, als farblose Proben.

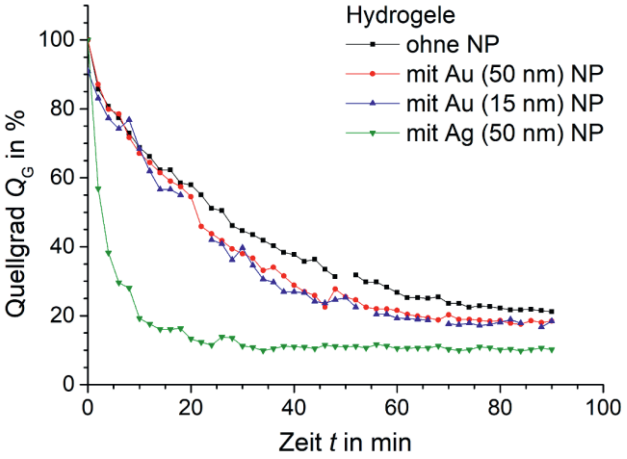


Abb. 2: Zeitabhängige Entquellkurven aller vier Proben bei Temperaturerhöhung auf 37 °C.

Literatur

[1] RICHTER, A.; PASCHEW, G.; KLATT, S.; LIENIG, J.; ARNDT, K.-F.; ADLER, H.-J.P.: Review on hydrogel-based pH sensors and microsensors. In: *Sensors* 8 (2008), Nr. 1, S. 561-81

[2] BAHRAM, M.; MOHSENI, N.; MOGHTADER, M.: An introduction to hydrogels and some recent applications. In Majee, S.B. (Hrsg.): *Emerging concepts in analysis and applications of hydrogels*, IntechOpen, 2016

[3] GANJI, F.; VASHEGHANI-FARAHANI, S.; VASHEGHANI-FARAHANI, E.: Theoretical description of hydrogel swelling: a review. In: *Iranian Polymer Journal* 19 (2010), Nr. 5, S. 375-98

[4] THONIYOT, P.; TAN, M.J.; KARIM, A.A.; YOUNG, D.J.; LOH, X.J.: Nanoparticle–hydrogel composites: concept, design, and applications of these promising, multi-functional materials. In: *Advanced Science* 2 (2015), Nr. 1-2, 1400010

[5] RAFIEIAN, S.; MIRZADEH, H.; MAHDAVI, H.; MASOUMI, M.E.: A review on nanocomposite hydrogels and their biomedical applications. In: *Science and Engineering of Composite Materials* 26 (2019), Nr. 1, S. 154-74

[6] DANNERT, C.; STOKKE, B.T., DIAS, R.S.: Nanoparticle-hydrogel composites: from molecular interactions to macroscopic behavior. In: *Polymers* 11 (2019), Nr. 2, S. 275-309

[7] MIDDENDORFF, R.G.C.: *Herstellung und Charakterisierung von smarten Hydrogelen mit eingebetteten Metall-Nanopartikeln*, Leibniz Universität Hannover, Masterarbeit, 2021

DOI 10.5162/15dss2021/6.3

Neuartige Methode zur Veränderung der charakteristischen Sensoreigenschaften der WO_3-Sensoren

Ugur Geyik[1], Hamid Raza[2], Nicola Pinna[2], Nicolae Barsan[1] und Udo Weimar[1],

[1]Institut für Physikalische Chemie, Eberhard Karls Universität Tübingen, Tübingen, Deutschland
[2]Institut für Chemie, Humboldt-Universität zu Berlin, Berlin, Deutschland
Kontakt: ugur.geyik@ipc.uni-tuebingen.de

Einleitung

Wolfram(VI)-oxid ist eines der am meisten verwendeten Metalloxide, die in kommerziellen Halbleiter-Metalloxid-Gassensoren (SMOx) zum Einsatz kommen. Damit die Beständigkeit der WO_3 Sensoren nicht abnimmt, werden sie häufig mit Edelmetallen, wie zum Beispiel Platin, Rhodium oder Palladium beladen [1], [2]. Das hat zur Folge, dass sich die charakteristischen Sensoreigenschaften des WO_3-Sensors signifikant ändern, da der Fermi-Level-Mechanismus nach der Beladung dominiert [3], [4]. Auch die Verteilung und Größe der Beladung ein einen Einfluss auf die Oberflächenchemie und Sensoreigenschaften. Die häufigste Methode, die zum Einsatz kommt, um die WO_3-Sensoren zu beladen, ist die Sol-Gel-Imprägnierung. Eine Herausforderung bei dieser Methode ist die Realisierung einer gleichmäßigen Größe und Verteilung der Edelmetallbeladung. Im Gegensatz dazu bietet die Atomlagenabscheidung (Atomic Layer Deposition, ALD) eine exzellente Kontrolle der zuvor genannten Parameter auf atomarer Ebene [5]. Aufgrund dessen ist eine systematische Untersuchung von mit ALD beladenen Sensoren erforderlich. In diesem Beitrag wurde Platin als Edelmetall zur Beladung verwendet.

Methoden und Materialien

Sensorherstellung

Zunächst wurde eine Paste aus kommerziellen WO_3-Pulver (Sigma Aldrich; nanopowder, < 100 nm particle size (TEM)) mit 1,2-Probandiol (Sigmal Aldrich; 99,5+ % A.C.S. Reagenz) in einem Mörser hergestellt. Anschließend wurde die WO_3-Paste mit Hilfe des Siebdruckverfahrens auf die Al_2O_3-Substrate (CeramTec GmbH) aufgebracht, die auf der Vorderseite Platinelektroden und auf der Rückseite Platinheizer haben. Danach wurden die bedruckten WO_3-Sensoren ca. vier Stunden bei Raumtemperatur und hinterher bei 70°C im Trockenschrank über Nacht gelagert. Später wurden die Sensoren in einem Rohrofen bei 400°C, 500°C und 400°C für jeweils 10 Minuten kalziniert.

Platin Sensorbeladung mit ALD

Die Atomic Layer Deposition Platinbeladung erfolgte unmittelbar auf den WO_3-Sensoren mit Hilfe einer ALD Anlage von ARRADIANCE (GEM-Star-XT). Als Ausgangsstoffe wurden Trimethyl-(methylcyclopentadienyl)-platin(IV) ($(MeCp)Pt^{IV}Me_3$), reiner Sauerstoff (O_2, 99,99%) und Stickstoff (als Trägergas/Spülungsgas) verwendet. Dabei wurde die Temperatur des Platin Präkursor bei 120 °C und des Sauerstoffes bei 80 °C gehalten, bevor sie in die ALD Reaktionskammer (265 °C) dosiert wurden. Es wurden Sensoren mit unterschiedlichen ALD Zyklen (2, 5, 10, 25 und 50) hergestellt. Ein ALD Zyklus (siehe Abbildung 1) besteht aus einer Abfolge von Dosierung/Aussetzung/Spülung von $(MeCp)Pt^{IV}Me_3$ für 0.6 s/30 s/30 s und für O_2 0.3 s/50 s/50 s.

Charakterisierung

Die RTEM Bilder wurden mit einem FEI Talos F200S Rasterelektronenmikroskop aufgenommen. Die Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS) Messungen wurden mit JPS-9030 (JEOL) und Phoibos 100 (SPECS) durchgeführt.

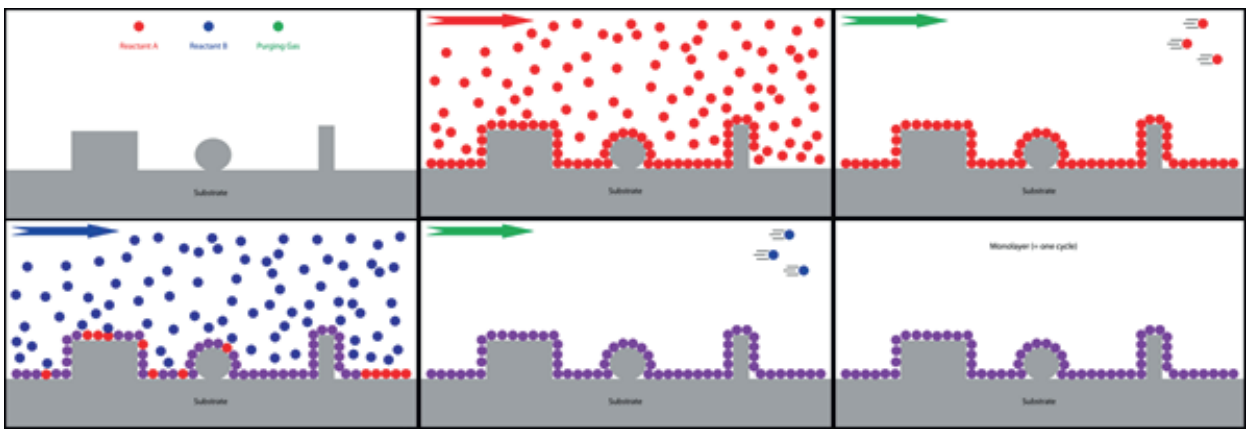


Abbildung 1: Darstellung eines ALD Prozesses für ein Zyklus (Monoschicht)

Messungen

Es wurden Gleichstromwiderstandsmessungen mit einer softwaregesteuerten Gasmischanlage und einem Keithley 617 Elektrometer aufgenommen. Sechs verschiedene Gase (CO, H_2, Ethanol, Aceton, Toluol, und NO_2), mit jeweils unterschiedlichen Konzentrationen, wurden den Sensoren für je eine Stunde dosiert. Zwischen den Gaspulsen wurde mit synthetischer Luft gespült. Die Messung wurde drei Mal bei unterschiedlichen Luftfeuchtigkeiten (5 % RH, 30 % RH und 80 % RH) gemessen. Die Betriebstemperatur der Sensoren beträgt 300 °C. Die Sensorsignale wurden wie folgt berechnet (reziprok für oxidierende Gase):

$$S_{Red.\ Gas} = \frac{R_0}{R_{red.\ Gas}} \geq 1$$

Außerdem wurden Spektren mit operando diffuse Reflexions-Fouriertransformationsspektroskopie (DRIFT) aufgenommen, um die Oberflächenreaktionen zu untersuchen. Dazu wurde ein evakuierbarer FT-IR Spektrometer (VERTEX 70v) von Bruker mit einer DRIFT Kammer von Harrick („Praying Mantis“) verwendet. Die DRIFT Spektren wurden mit einer Auflösung von 4 cm^{-1} aufgenommen und die Absorption wurde wie folgt errechnet [6]:

$$Absorptions\ Spektrum = -log\frac{Probenspektrum}{Referenzspektrum}$$

Ergebnisse

XPS Messungen wurden gemacht, um Auskunft über die Oxidationsstufe der Platinbeladung von den Sensoren zu bekommen. Wie in der Abbildung 2 zu erkennen, zeigen die Spektren für die niedrigen Platin-Zyklen, dass mehr oxydisches Platin vorliegt als bei den höheren Zyklen. Vor allem beim 2 ALD Pt-WO_3 Sensor zeigt das Spektrum bei der Bindungsenergie (BE) 72.7-73 eV (grün), dass das Platin nur die Oxidationsstufe Pt^{2+} besitzt. Beim 25 und 50 ALD Sensor ist die Platinbeladung hauptsächlich metallisch (rot, BE 71.3 eV, Pt^0). Außerdem ist bei einer BE von 79.2 eV Wolfram 5s zu erkennen. Die höchste Intensität hat die Bande beim 2 ALD Sensor. Die nimmt bei den höheren Zyklen ab. Dies deutet darauf hin, dass die Platinschicht immer größer wird, je höher die Anzahl der Zyklen steigt. Um mehr Informationen über die Oberfläche zu bekommen wurden RTEM Bilder aufgenommen. Es ist zu erkennen (siehe Abbildung 3), dass sich bei allen Zyklen keine Monoschicht ausgebildet hat. Außerdem ist kann man feststellen, dass die Platinbeladung gleichmäßig verteilt ist und eine einheitliche Größe bei den jeweiligen Zyklen besitzt, außer beim 50 ALD. Dort kann man größere Platin Agglomerationen ausmachen. Vergleicht man nun die XPS Ergebnisse mit den RTEM Bildern, so kann man sagen, dass bei den größeren Platinanhäufungen der metallische Platingehalt höher ist, als bei den niedrigen Zyklen. Kleinere Anhäufungen von Platin liegen dagegen oxidiert vor.

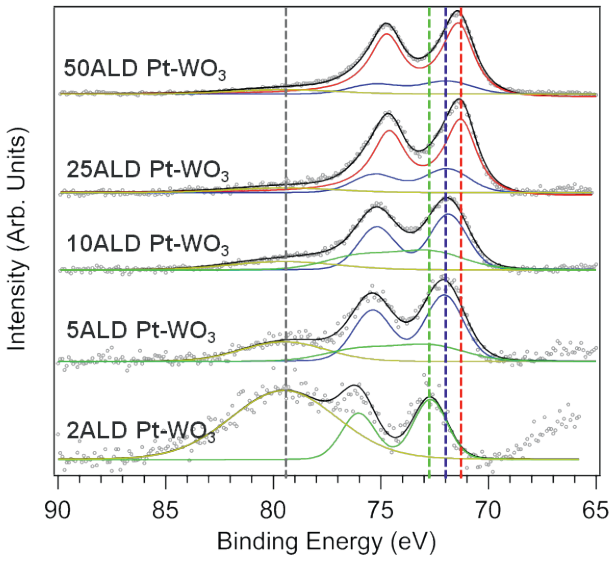


Abbildung 2: XPS: rot Pt^0, blau PtO_x, grün Pt^{2+}, gelb W 5s

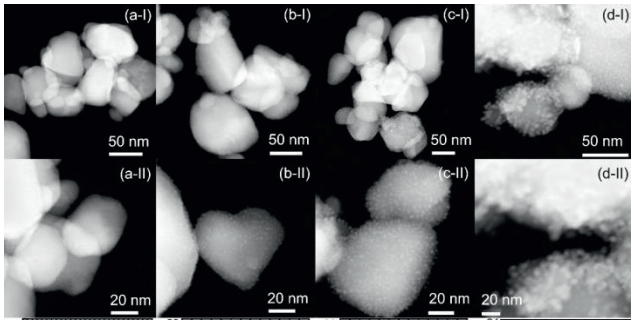


Abbildung 3: HAADF RTEM Bilder für 5 ALD (a), 10 ADL (b), 25 ALD (c) und 50 ALD (d)

Das Sensorverhalten der unterschiedlichen ALD Platin-WO_3-Sensoren wird untersucht, um festzustellen, welcher Sensormechanismus sich dahinter verbirgt. Es ist bekannt, dass bei Platin beladenen WO_3 Sensoren es sich um einen Fermi-Level-Mechanismus handelt. Jedoch ist in der Abbildung 4 zu sehen, dass sich das Sensorverhalten vom reinem WO_3 Sensor, 2 ALD, 5 ALD und 10/25/50 ALD sich signifikant unterscheiden. Vergleicht man die Sensorsignale vom reinem WO_3 Sensor und mit dem 2 ALD Pt-WO_3 Sensor, nehmen diese für Aceton, Toluol, Ethanol deutlich ab. Vor allem für NO_2 zeigen die beladenen Sensoren keine Sensorreaktion. Nur für Wasserstoff nehmen die Sensorsignale zu. Betrachtet man allerdings den 5 ALD Sensor, so unterscheidet er sich deutlich vom 2 ALD Sensor. Die Sensorsignale nehmen deutlich zu für die Testgase. Bis auf NO_2 und Wasserstoff. Die bleiben ähnlich. Beim 10 ALD Sensor nehmen wieder die Sensorsignale für alle Testgase ab. Jedoch unterschei-

den sich das Sensorverhalten mit dem 2 ALD Sensor. Der 10 ALD hat ein höheres Sensorsignal für CO und ist unabhängig gegenüber Feuchtigkeit. Die 25 ALD und 50 ALD Sensoren haben ein ähnliches Sensorverhalten, wie der 10 ALD Sensor. Nur die Sensorsignale sind signifikant kleiner.

Um herauszufinden, warum sich die Sensorverhalten von den unterschiedlichen Zyklen unterscheiden, muss man über die Oberflächenreaktionen mehr Informationen bekommen. Dazu wurden DRIFT Spektren aufgenommen. In der Abbildung 5 zeigen alle Spektren eine Abnahme der Wolfram-Sauerstoff



Abbildung 4: Sensorsignale vom reinen und Pt beladenen WO_3 Sensoren mit unterschiedlichen ALD Zyklen bei 300°C

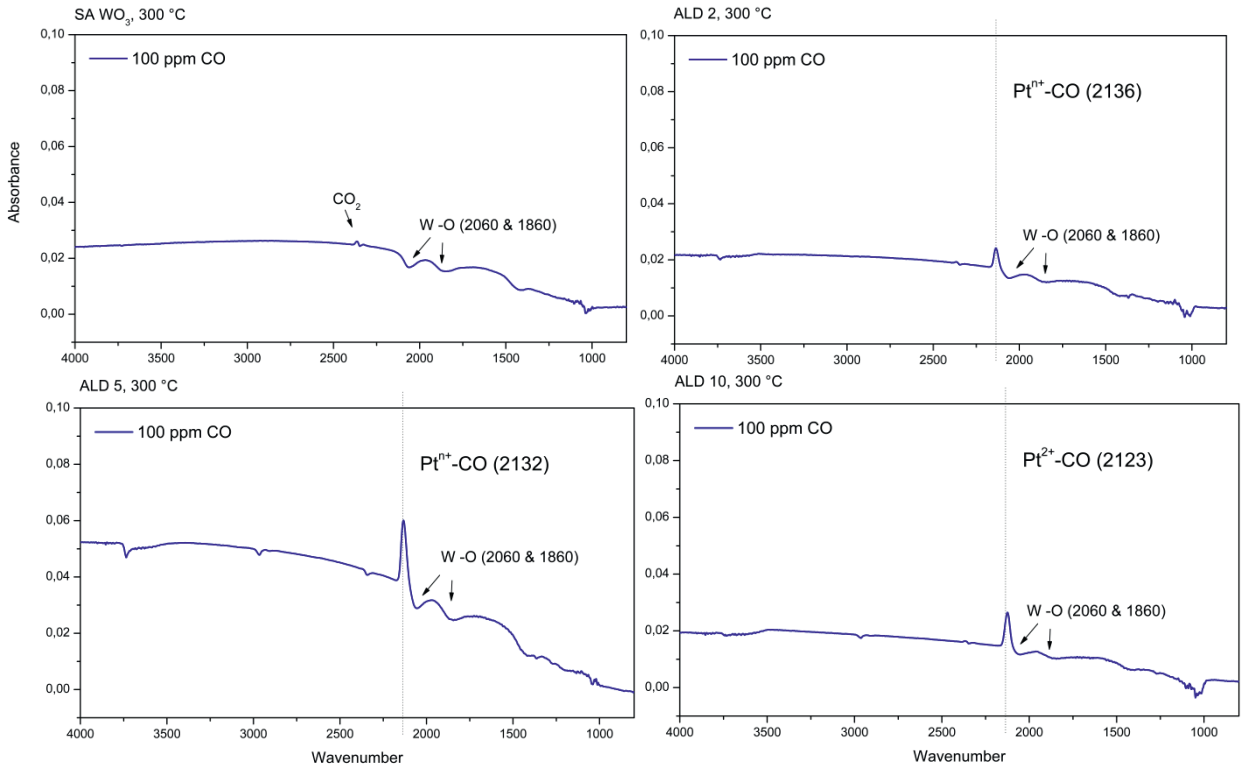


Abbildung 5: DRIFT Spektren für 100 ppm CO bei 300 °C

Banden bei einer Wellenzahl von 2060 cm^{-1} und 1860 cm^{-1} [7]. Dies zeigt, dass die WO_3 Oberfläche reduziert wird. Die Abnahme ist beim 5 ALD Platin-WO_3 Sensor am höchsten. Dies deutet darauf hin, dass CO am stärksten mit der 5 ALD Sensor Oberfläche reagiert, was auch die Widerstandsmessungen zeigen. Außerdem sieht man bei den beladenen Sensoren eine stark ausgeprägte Bande 2136 cm^{-1}, 2132 cm^{-1} und bei 2123 cm^{-1}. Diese Banden können Platin (Pt^{n+}) Carbonylen zugeordnet werden. Bevor Kohlenstoffmonoxid mit der Oberfläche zu CO_2 reagiert, adsorbiertes auf der Platinbeladung. Die Wellenzahl des Pt^{n+}-CO verschiebt sich auch in niedrigere Wellenzahl Bereich, je höher die ALD Zyklen werden [8].

All diese Ergebnisse zeigen, dass die Platinbeladung mit Atomic Layer Deposition nur mit unterschiedlicher Anzahl der Zyklen die Sensoreigenschaften signifikant verändern. Jedoch ist es noch nicht eindeutig, welcher Mechanismus bei den jeweiligen Zyklen dominiert. Es sind also weitere Messungen notwendig, um ein besseres Verständnis darüber zu bekommen.

Literatur

[1] A. Staerz *et al.*, “Rhodium Oxide Surface-Loaded Gas Sensors,” *Nanomaterials*, vol. 8, no. 11, p. 892, 2018.

[2] A. Staerz *et al.*, “The effect of platinum loading on WO 3 based sensors,” *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 291, no. February, pp. 378–384, 2019.

[3] N. Yamazoe, Y. Kurokawa, and T. Seiyama, “Effects of additives on semiconductor gas sensors,” *Sensors and Actuators*, vol. 4, no. C, pp. 283–289, 1983.

[4] A. Staerz *et al.*, “Direct Microscopic Proof of the Fermi Level Pinning Gas-Sensing Mechanism: The Case of Platinum-Loaded WO3,” *J. Phys. Chem. Lett.*, vol. 11, no. 1, pp. 166–171, 2020.

[5] C. Marichy, M. Bechelany, and N. Pinna, “Atomic layer deposition of nanostructured materials for energy and environmental applications,” *Adv. Mater.*, vol. 24, no. 8, pp. 1017–1032, 2012.

[6] J. M. Olinger and P. R. Griffiths, “Quantitative Effects of an Absorbing Matrix on Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectra,” *Anal. Chem.*, vol. 60, no. 21, pp. 2427–2435, 1988.

[7] M. Hübner, C. E. Simion, A. Haensch, N. Barsan, and U. Weimar, “CO sensing mechanism with WO3 based gas sensors,” *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 151, no. 1, pp. 103–106, 2010.

[8] D. Wang *et al.*, “Platinum loaded tin dioxide: a model system for unravelling the interplay between heterogeneous catalysis and gas sensing,” *J. Mater. Chem. A*, vol. 6, no. 5, pp. 2034–2046, 2017.

DOI 10.5162/15dss2021/6.4

Monitoring der Sättigungszustände von Deichbauwerken mittels impedimetrischer Sensoren

Wolfgang Fichtner[1], Michael Mertig[1] Dirk Fleischer[2] und Ulf Helbig[2]

[1]Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim, Deutschland
[2]Institut für Wasserbau und Technische Hydromechanik der Technischen Universität Dresden, Dresden, Deutschland
Kontakt: wolfgang.fichtner@ksi-meinsberg.de

Einleitung

Auf der Grundlage der aktuellen Klimawirkungs- und Risikoanalyse des Umweltbundesamtes ist ein stark erhöhtes Risiko der Standsicherheit von Deichen und Dammbauwerken durch meteorologische Extremereignisse regionaldifferenzierter Ausprägung festzustellen [1]. Dies erfordert im Sinne der zivilen Sicherheit zwingend eine kritischere, prognostische Betrachtung der Stabilität von Deichbauwerken, aber auch möglicher Mechanismen zur Früherkennung von Einwirkungen, die über die bisherigen Bemessungswerte hinausgehen. Flankiert von heftigen Starkregenereignissen (erheblicher oberflächlicher Wasserandrang) nehmen umgekehrt auch lange heiße, niederschlagsarme Phasen und damit eine oberflächliche Austrocknung zu. Die feuchte- bzw. sättigungsabhängigen geotechnischen Eigenschaften sind wiederum für die dauerhafte Standsicherheit und Stabilität eines Deichbauwerks von entscheidender Bedeutung.

Kostengünstig herzustellende Sensoren ermöglichen, eingebettet in repräsentativen Zonen des Deiches, die Echtzeit-Überwachung von Sättigungszuständen und Wasserbewegungen im Erdbauwerk (Abb. 1).

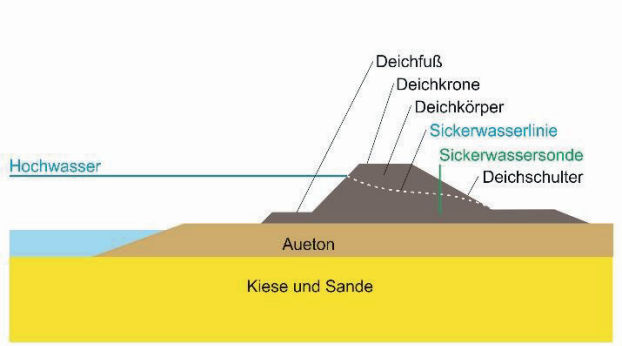


Abb. 1: Schematischer Deichquerschnitt bei hochwasserbedingtem, einseitigen Einstau.

Als Elektrodenmaterialien kommen Carbonfasermatten in spezieller, praxistauglicher Konfektionierung zum Einsatz, die für die Sanierung oder den Neuaufbau von Deichen geeignet sind. Die Entwicklung der Messtechnik am KSI Meinsberg wird von Untersuchungen begleitet, bei denen die Sensoren in Experimenten an einem realmaßstäblichen Versuchsdeich der TU Dresden mit vorgegebenen Einstauszenarien bis hin zum Deichversagen getestet werden [2]. Die Ergebnisse zeigen, dass impedimetrische Sensoren den Wassergehalt von Deichbaumaterialien qualitativ abbilden können. Die Praxis- und Langzeittauglichkeit der Sensoren ist mit Referenzmethoden zur Feuchtebestimmung verifiziert worden.

Messmethodik

Impedimetrische Sensoren

Das Sensorprinzip zur Bestimmung der Durchfeuchtung basiert auf der Impedanzmessung an einer Elektrodenanordnung im zu untersuchenden Bodenmaterial. Dabei kommen korrosionsfreie Carbonmatten zum Einsatz, die horizontal in das zu untersuchende Material eingebettet werden. Aufgrund ihrer offenen Gewebestruktur mit Spalten zwischen benachbarten Fasern und Lücken an Faserkreuzungen sind die Elektrodenmatten für auf- oder absteigende Feuchtigkeit durchlässig. Bei den Elektrodenanordnungen gemäß Abb. 2 ist das Volumen zwischen den Elektroden, wie auch der umgebende Raum mit dem zu untersuchenden Bodenmaterial gefüllt. Die Dreieranordnung der Elektroden (Abb. 2 unten) bietet u.a. den Vorteil, die vertikale Richtung der Feuchteänderung bestimmen zu können.

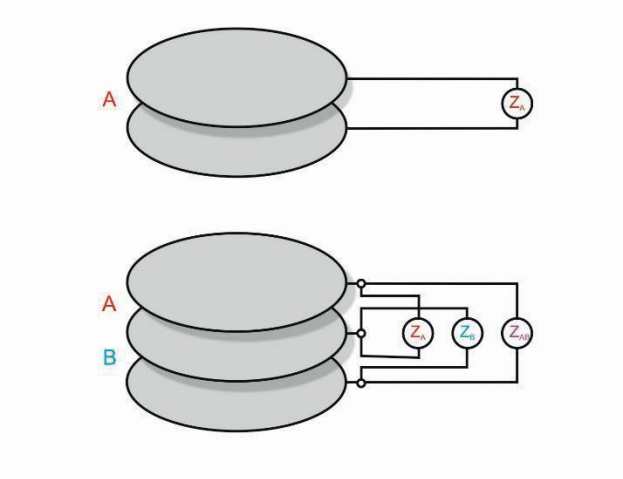


Abb. 2: Elektrodenanordnung zur Impedanzmessung,
oben: Zweielektrodenanordnung,
unten: Dreielektrodenanordnung.

Die Messung der Impedanzspektren erfolgte mit einem Potentiostaten *Gamry IFC 1010 – 25019* im Frequenzbereich von 0,1 Hz bis 100 kHz. Die Verwendung eines elektrochemischen Multiplexer ECM-8 ermöglichte die quasi-simultane Messung (Programm: *multiplexed potentiostatic eis repeating sequential*) an acht Kanälen.

Somit konnten in einer Laboranordnung bei Vorversuchen Langzeitmessungen mittels acht Messsensoren gleichzeitig durchgeführt werden.

Für den Einsatz in den verschiedenen Versuchsanordnungen des Projektes wurden Sensoren in Form von zylindrischen Elektrodenanordnungen aus Carbonmatten mit stabilem Ring und zugentlasteten Messkabeln konfektioniert (Abb. 3).

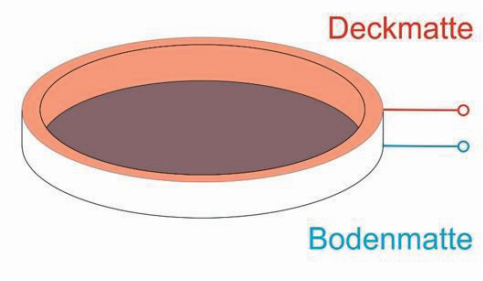


Abb. 3: Schematischer Aufbau eines impedimetrischen Feuchtesensors.

Die Elektrodenmatten werden mit den Stirnflächen des Ringes verklebt und mit geschirmtem Doppelkoaxialkabel kontaktiert. Der Übergang der Kohlenstofffaser auf die Kupferlitze des Messkabels wird durch eine Klemmverbindung hergestellt. Diese ist gegen Einwirkung der Erdfeuchte isoliert angeordnet. Am Ring ist eine Kabelzugentlastung im Kunststoffmaterial angeschraubt und so der Sensor mechanisch robust gestaltet. Im Inneren ist der Sensor mit dem Mineralgemisch des vorgesehenen Einsatzortes gefüllt.



Abb. 4: Foto eines Feuchtesensors vor dem Einbau.

Messaufbau Labor

Um quantitative Rückschlüsse von den Messwerten zur Bodenfeuchte ziehen zu können ist die Kenntnis der Kalibrierfunktion erforderlich. Dazu sind in einem Laboraufbau Feuchtewerte in Sand von 2,5 % bis 20 % (Masseanteil Wasser) vorgegeben, mehrere Sensoren in das gut homogenisierte Material eingebettet und verdichtet worden. Mit dem oben beschriebenen Versuchsaufbau zur Kalibrierung lassen sich Impedanzwerte bei diskreten Feuchtewerten bestimmen.

Für den qualitativen Vergleich von Messverläufen mit den Werten eines Referenzsensors wurde ein Messaufbau nach Abb. 5 eingesetzt. Die Erfassung des Impedanzverlaufes an den beiden Feuchtesensoren a22 und a29 (Durchmesser 100 mm) erfolgt durch Messung der Impedanz bei 1 kHz mittels eines *FLUKE PM 6306 (programmable automatic LCR-Meter).* Die Referenzwerte werden mit kommerziell verfügbaren Bodenfeuchtesensoren EC-5 von *METER group inc. USA* mit einer Abtastrate von 1 h erfasst. Diese Langzeitversuche wurden in verschließbaren Probengefäßen durchgeführt, die mit ca. 15 dm³ Rossendorfer Sand gefüllt sind. Dessen Durchlässigkeitswert $k = 1 \cdot 10^{-5}$ m/s ermöglicht den Transport von Wasser innerhalb relativ kurzer Zeiträume, wodurch schnell veränderliche Durchfeuchtungszustände im Experiment gut nachgebildet werden können. Als Material für den Einsatz im realen Deichbau ist dieses Material aufgrund der hohen Durchlässigkeit weniger gut geeignet, kommt aber beispielsweise in Nordsachsen vor.

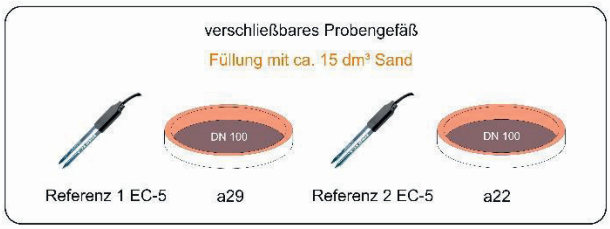


Abb. 5: Labormessanordnung zum Vergleich von Langzeitverhalten der Feuchtesensoren mit einem Referenzsensor EC-5.

Messaufbau Versuchsdeich

Zum Test der Funktionstüchtigkeit der Sensoren wurden 10 Exemplare in einen Versuchsdeich der Technischen Universität Dresden (TUD, Hubert-Engels-Labor, IWD) eingebaut. Der Deich besteht aus Sand (enggestuft, geringe Feinanteile), wodurch sich auch relativ schnell veränderliche hydrologische Szenarien vorgegeben werden können. Die Positionierung der Sensoren erfolgte in drei verschiedenen Ebenen (I, II und IV) gemäß Abb. 6.

Einige Sensoren wurden paarweise nebeneinander angeordnet, bspw. A13 und A4, um eine Dreidimensionalität der Deichdurchströmung untersuchen zu können. Die Einbaupositionen waren unterschiedlich weit von der Wasserseite entfernt (A13 und A14: 1 m, A1, A2, A11, A12 und A15: 2,25 m sowie A3, A4 und A5: 4 m). Die Deichhöhe beträgt mitsamt Bodenplatte 2 m bei einer Gesamtbreite am Deichfuß von 6 m. Eine Ansicht der Messanordnung mit den Geräten zur Impedanzmessung auf der Krone des Versuchsdeiches ist in Abb. 7 dargestellt. Es wurden verschiedene Einstauszenarien von bis zu 96 h Dauer mit Scheitelhöhen des Wasserstandes von 95 cm und 120 cm untersucht. Die Impedanzspektren sind während der Einstauvorgänge an acht Kanälen mit einer Abtastrate von 1 h erfasst worden.

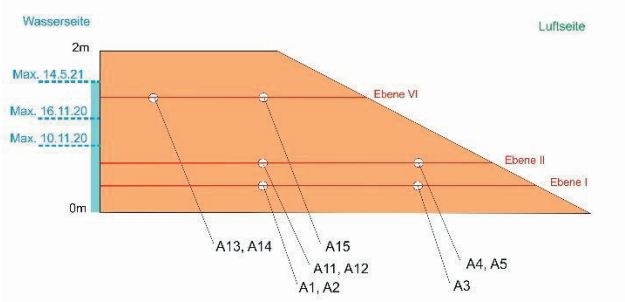


Abb. 6: Querschnitt durch einen Versuchsdeich der TUD mit Positionen der Sensoren A1 bis A15 (schematisch).

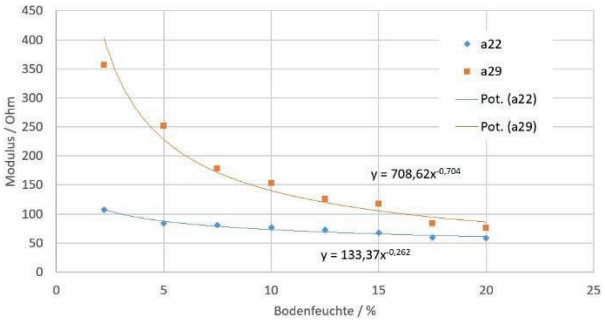


Abb. 7: Ansicht der Deichkrone in Richtung der mit Gras bewachsenen Luftseite des Versuchsdeichs der TUD mit Messequipment zur mehrkanaligen Impedanzmessung.

Ergebnisse

Kalibrierung

In Abb. 8 sind die Kalibrierkurven zweier Sensoren (DN 100 mm) dargestellt. Die größte Sensitivität zeigt sich beim Betrag der Impedanz (Modulus) während die Phasenlage nur geringe Änderungen bei Variation der Feuchte aufweist. Dargestellt ist die Kalibrierkurve mit den bei 1 kHz gemessenen Impedanzwerten. Beide Kurven zeigen den erwarteten exponentiell abfallenden Verlauf. Die Absolutwerte der Impedanz der baugleichen Sensoren liegen auseinander, was auf eine Exemplarstreuung der einzelnen Sensoren hinweist. Einen großen Einfluss auf die Sensivität besitzt die Verdichtung des Füllmaterials der Sensoren und deren mechanischer Kontakt mit den Carbonelektroden. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt sind noch nicht alle Ursachen für die Abweichungen vollständig bekannt und Gegenstand weiterer Untersuchungen.



Durch Umrechnung der komplexen Impedanzwerte in die reziproke Größe Admittanz erhält man einen weitestgehend linearen Kurvenverlauf gemäß Abb. 9. Dieser ist in der Praxis mathematisch einfacher zu handhaben. Die unterschiedliche Lage und Steilheit der Kalibriergeraden werden wie bereits oben erwähnt durch Exemplarstreuungen der baugleichen Sensoren verursacht.

Abb. 8: Kalibrierkurve (Impedanzwerte) von zwei Feuchtesensoren.

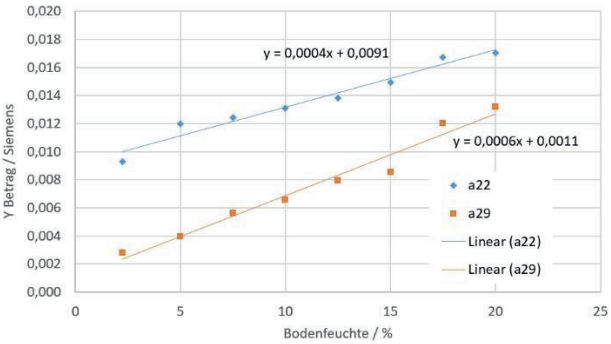


Abb. 9: Kalibrierkurve (Admittanzwerte) von zwei Feuchtesensoren.

Temperaturverhalten

Mit einer ähnlichen Versuchsanordnung wie bei den Kalibriermessungen wurde in Sand die Temperaturabhängigkeit den Feuchtesensoren bestimmt. Der Einsatz in der Praxis lässt stark schwankende Bodentemperaturen erwarten, deren Einfluss auf die Impedanzmessung hier quantifiziert werden soll. Dazu wurde die Anordnung im einem Klimaschrank im Bereich von 5 bis 50 °C bei einer Bodenfeuchte von 5 Masse-% temperiert.

Abb. 10 zeigt die Abhängigkeit zweier Sensoren von der Temperatur in Arrhenius'scher Darstellung. Dazu werden

die logarithmierten Moduluswerte (1 kHz) über der reziproken absoluten Temperatur aufgetragen.

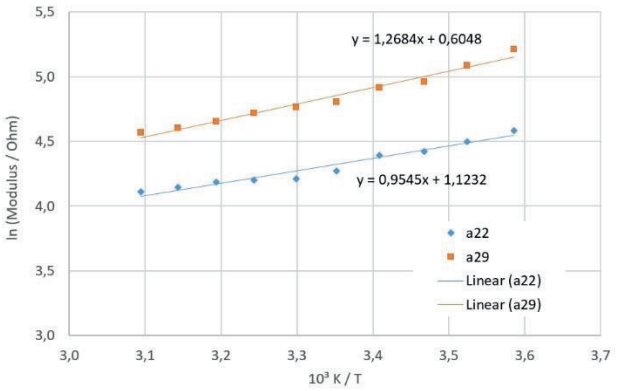


Abb. 10: Temperaturverhalten von zwei Sensoren a22 und a29 (Modulus bei 1 kHz).

Referenzmessung im Langzeitversuch

Zu Versuchsbeginn wurde eine Feuchtegehalt von 15 Masse-% in dem homogenisierten Bodenmaterial eingestellt. Danach schließt sich eine kurze Phase des Ausgleichs an, in der die Sensoren mit ihrer unmittelbaren Umgebung equilibrieren (Abb. 11). Dabei misst der Referenzsensor EC-5 1 einen Feuchtewert von ca. 20 Vol.-% und der Referenzsensor EC-5 2 einen Feuchtewert von ca. 24 Vol.-%. Zu beachten ist, dass sich der volumetrische Feuchtewert und der gravimetrische Feuchtewert durch den Proportionalitätsfaktor Trockendichte des untersuchten Materials unterscheiden. Der volumetrische Feuchtewert hängt somit direkt von der Verdichtung des Materials in der unmittelbaren Umgebung des Sensors ab. Unterschiede in der Verdichtung des Bodenmaterials bilden sich somit in den Messwerten ab und führen zu systematischen Abweichungen.

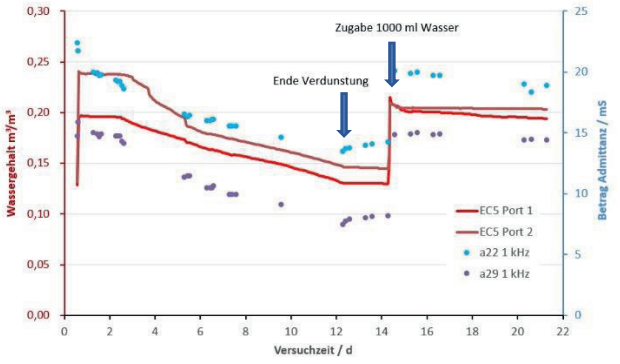


Abb. 11: Vergleich der Zeitreihen der Admittanz der Sensoren a22, a29 mit den Signalen der Referenzsensoren EC-5 1 und 2.

Wird die Anordnung geöffnet, so dass die Verdunstung von Wasser aus dem Bodenmaterial in die Umgebungsluft möglich ist, sinken die Feuchtewerte im Boden ab. Dies ist in den abfallenden Kurvenverläufen in Abb. 11 zu beobachten. Am Ende dieser Trocknungsphase liegt eine Feuchte von 8,9 Masse-% vor. Die Referenzsensoren erfassen dabei Werte von 13 – 14 Vol.-%. Der Betrag der Admittanz der Sensoren folgt tendenziell dem oben beschriebenen Kurvenverlauf. Am 12. Versuchstag wurde die Versuchsanordnung verschlossen und damit die Verdunstung in die Umgebungsluft beendet. Die Referenzsensoren gehen ab diesem Zeitpunkt in eine Phase mit konstanten Werten über. Die Admit-tanzwerte der Sensoren a22 und a29 steigen leicht an, wahrscheinlich diffundiert Feuchtigkeit aus den unter den Sensoren angrenzenden Bereichen in die Sensorfüllung ein und führt so erst nach ca. 48 h zu konstanten Werten. Um wieder auf den Ausgangswert von 15 Masse-% Feuchte zu kommen, wurde am 14. Versuchstag 1000 ml Wasser verteilt über die Sandoberfläche in die Versuchsanordnung gegeben. In dem sich anschließenden Zeitfenster mit abgedeckter Anordnung ohne Verdunstung stellen sich nach einer kurzen Ausgleichsphase wieder konstante Kurvenverläufe für die Referenz wie auch die Admittanz ein. Insgesamt kann aus dem Vergleich der Kurvenverläufe eine gute Übereinstimmung bei der Wiedergabe der qualitativen Tendenzen in den unterschiedlichen Versuchsphasen festgestellt werden.

Versuchsdeich

Die in den Versuchsdeich eingebauten Sensoren liefern im Abstand von 1 h ein komplettes Impedanzspektrum im Bereich von 0,1 Hz bis 100 kHz. In Abb. 12 sind die daraus bestimmten Admittanzverläufe (Modulus) des Sensors A3 während eines Anstauvorgangs über einen Zeitraum von 100 h dargestellt. Zur besseren Übersichtlichkeit wurde pro Frequenzdekade nur ein Admittanzverlauf aufgetragen. Der Sensor A3 befindet sich in der unteren Ebene I im Versuchsdamm (Abb. 6) und wird durch den Anstauvorgang vom teil- in den vollgesättigten Bereich überführt.

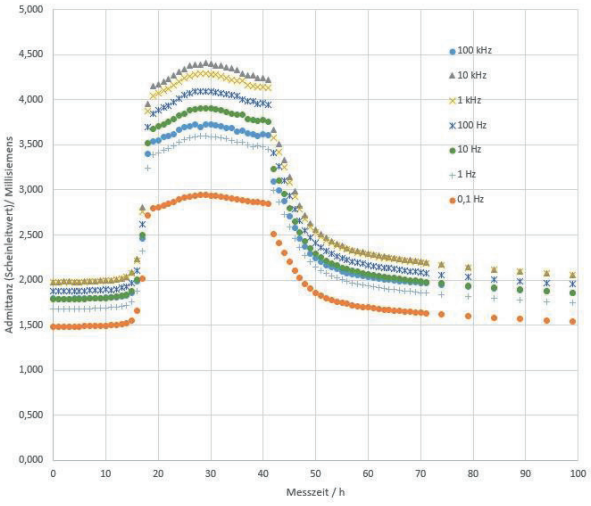


Abb. 12: Admittanzverläufe des Feuchtesensors A3, Anstau bis max. 95 cm.

Die kommende Anstauwelle macht sich zunächst durch einen allmählichen Anstieg der Admittanz bemerkbar. Nach 15 h kommt es zu einem steilen Kurvenanstieg mit einer Verdoppelung der Leitwerte. Danach tritt eine Plateauphase ein, die den vollgesättigten Bereich für Sensor A3 markiert. In dieser Phase bis 40 h treten nur geringe Veränderungen der Admittanz auf, die vermutlich aus Effekten im Zusammenhang mit einem weiteren Anstieg des hydrostatischen Drucks resultieren. Der Abfall der Kurven erfolgt nach den Plateaus, also im Zeitfenster sinkender Durchfeuchtung, deutlich flacher. Offensichtlich kann erwartungsgemäß die Wasseraufnahme im Sand schneller erfolgen als die Wasserabgabe. Die Kurvenverläufe nähern sich nach dem Einstauvorgang asymptotisch den Ausgangswerten wieder an. Qualitativ zeigen die Kurven für alle betrachteten Messfrequenzen gleiche Verläufe. Im Folgenden sollen daher nur noch die Veränderungen bei einer Arbeitsfrequenz von 1 kHz betrachtet werden.

Ein weiterer Versuch wurde mit einer Ganglinie durchgeführt, bei der der maximale Einstaupegel bei ca. 165 cm lag (Abb. 13). Das Plateau des Pegelverlaufs zwischen 90 h und 137 h wurde durch einen kurzen Abfall unterbrochen.
Der Vergleich von Admittanzverläufen von acht Sensoren, die in unterschiedlichen Bereichen des Versuchsdeiches positioniert sind, ist Abb. 14 zu entnehmen. Die Zeitachsen in beiden Darstellungen Abb. 13 und 14 wurden synchronisiert. Die Sensoren A1 und A3 befindet sich in der unteren Ebene und werden bereits nach 40 h bzw. 50 h von der ansteigenden Sickerlinie überstrichen. Danach befinden sie sich im vollgesättigten Bereich des Deiches. Die oberhalb Die in Ebene II angeordneten Sensoren A4 und A5 (Abb. 6) gehen erst nach ca. 80 h in den vollgesättigten Bereich über. Die Admittanzkurven der Sensoren A11 und A12 steigen nach 75 h an und erreichen die Plateauphase nach ca. 87 h. Nach 120 h zeigen beide Sensoren den kurzzeitigen Rückgang der Admittanzwerte, wie er durch den Pegelrückgang in Abb. 13 zu erwarten war.

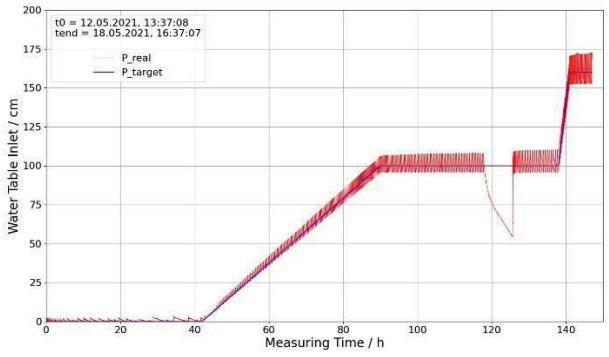


Abb. 13: Pegelverlauf am Versuchsdeich, Anstau auf der Wasserseite bis max. 165 cm.

Die in Ebene IV angeordneten Sensoren A13 und A15 werden vom Einstau erst nach ca. 138 h beeinflusst. Der zugehörige Kurvenverlauf zeigt einen sehr steilen und hohen Anstieg, der bei A15 nach kurzer Zeit (ca. 6 h) wieder abfällt. Die Kurvenform mit dem fehlenden Plateau lässt den Schluss zu, dass sich der Sensor im teilgesättigten Bereich befindet. Der näher an der Wasserseite positionierte Sensor A13 zeigt ein kurzes Plateau, was darauf schließen lässt, dass er sich während dieser Zeit in der gesättigten Zone befand.

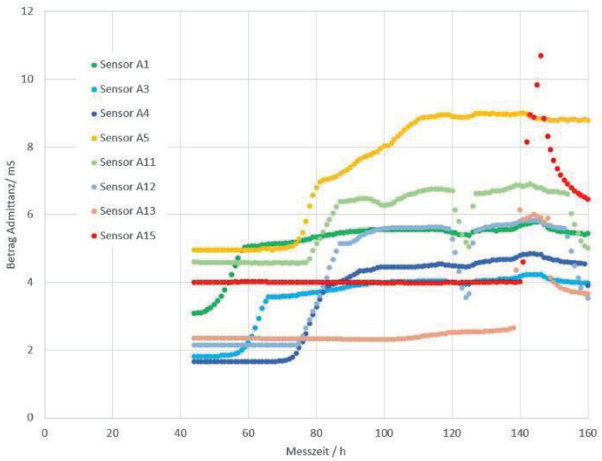


Abb. 14: Admittanzverläufe der Feuchtesensoren A3, A5 und A15, Anstau 165 cm.

Diskussion

Vor dem Hintergrund sich wandelnder klimatischer Einflüsse nimmt die Wahrscheinlichkeit längerer Trockenperioden und von Starkregenereignissen in Mitteldeutschland zu. Gerade die Kombination beider Effekte mit einhergehender Riss- und Kluftbildung infolge Austrocknung der Deichstruktur und darauffolgender schneller Durchnässung führen zu kritischen Zuständen hinsichtlich Standsicherheit, Lebensdauer und Dichtheit von Deichen. Werkzeuge zur strukturellen Analyse in Echtzeit, wie automatisierte Bereitstellung von Versagenswahrscheinlichkeiten basierend auf Sensornetzwerken und effizienter Interpretation durch mathematische Modelle, sind essenziell für Hochwasserschutzanlagen der Zukunft [3]. Eine Implementierung in technische Regelwerke steht bisher aber noch aus.

Der Einsatz preisgünstiger impedimetrischer Sensoren integriert in Monitoringsysteme zur Versagenswahrscheinlichkeit von Deichbauwerken, kann bei weiterer Verbesserung der sensorischen Eigenschaften, insbesondere hinsichtlich der Erfassung absoluter Feuchtewerte für künftige Applikationen an kritischen Deichabschnitten in Sachsen zur technischen Option werden.

Literatur

[1] UMWELTBUNDESAMT (Hg.) (2021): Klimawirkungs- und Risikoanalyse 2021 für Deutschland. Teilbericht 6: Integrierte Auswertung – Klimarisiken, Handlungserfordernisse und Forschungsbedarfe. Unter Mitarbeit von Adelphi Research, Eurac Research und Bosch & Partner GmbH. Dessau-Roßlau.

[2] FICHTNER, W.; MERTIG, M.; FLEISCHER, D.; HELBIG, U.: Impedimetrische Sensoren zur Überwachung von Deichbauwerken. 26. Interdisziplinäre Wissenschaftliche Konferenz Mittweida (2021) 25-28, DOI: 10.48446/opus-12301.

[3] PONZIANI, M., BACHMANN, D.: Real-Time Monitoring and Forecasting of Dike Strength. Int. J. of Safety and Security Eng., Vol. 6, No. 2 (2016) 122–131.

Danksagung

Die vorgestellten Arbeiten sind Teil eines Projektes gefördert vom Europäischen Fond für Regionale Entwicklung (EFRE), FKZ 100362350.
Die Autoren bedanken sich bei der SAB für die finanzielle Unterstützung sowie den Projektpartnern:
M&S Umweltprojekt GmbH, Plauen,
Institut für Grundwasser, TU Dresden, Dresden, und
Weischlitzer Tiefbau und Umweltschutz GmbH, Weischlitz,
für die angenehme Zusammenarbeit.

DOI 10.5162/15dss2021/7.1

7.1
Temperaturmessung bis 1000°C mit Hilfe gehauster piezoelektrischer Resonatoren

M. Schulz, R. Ghanavati, H. Fritze, Technische Universität Clausthal, Clausthal/D; F. Kohler, J. Wilde, Albert-Ludwigs Universität Freiburg, Freiburg/D

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/7.2

7.2
Chemische Ausdehnung von Sensor- und Elektrolytmaterialien bei hohen Temperaturen

D. Kohlmann, H. Wulfmeier, M. Schewe, C. Rembe, H. Fritze, Technische Universität Clausthal, Clausthal/D

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/7.4

7.4
Herausforderungen für Kameras in Automobilanwendungen und wie man diese testet

D. Wüller, Image Engineering GmbH & Co. KG, Kerpen/D; S. Ulrich, Robert Bosch GmbH

Manuskript lag nicht vor

Poster

DOI 10.5162/15dss2021/P1.1

Entwicklung eines Low-Cost PM Sensorenclusters zur Untersuchung des Abscheideverhaltens eines Nassabscheiders

Felix Reinke[1], Michael Novosel[2], Jörg Meyer[1] und Achim Dittler[1]

[1]Institut für Mechanische Verfahrenstechnik und Mechanik (MVM), Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Karlsruhe, Deutschland
[2]ESTA Apparatebau GmbH & Co. KG, Senden, Deutschland
Kontakt: felix.reinke@kit.edu

Einleitung

Durch Fortschritte der metallischen Zerspanungsverfahren (Schleifen, Bürsten, Polieren etc.) kommt es zur Entstehung von submikronen Partikelstäuben, deren Abscheidung immer komplexer wird. Treten alveolengängige Stäube auf (vornehmlich PM_1 und $PM_{2,5}$ Fraktion), bedarf es einer im Prozess integrierten Abscheidung, welche jedoch mit einem zusätzlichen Druckverlust des Gesamtsystems einhergeht und den notwendigen Energieeintrag erhöht. Aus diesem Grund sind neuartige Technologien erforderlich, welche bei minimalem Energieeintrag eine hohe Abscheideeffizienz (im Bereich der submikronen Partikeln) erreichen. Eine Möglichkeit können hierbei nassabscheidende Verfahren mit innovativen 3D-gedruckten Düsengeometrien zur Dispergierung der Waschflüssigkeit bieten.

Zur kostengünstigen Beurteilung der Abscheideeffizienz der Partikelfraktionen und zum besseren Verständnis von lokalen Partikelkonzentrationsniveaus können sogenannte Low-Cost PM-Sensoren lokal in den Nassabscheider eingebaut werden. Diese haben sich bereits im Anwendungsfeld der Immissionsmessung und Emmisionscharakterisierung zur Erfassung der zeitlichen und lokalen Partikelkonzentration etabliert. [1] Aufgrund der vorherrschenden Betriebsbedingungen bei der Nassabscheidung kann allerdings die qualitative Aussagekraft der Sensordaten durch zeitlich abweichende Quereinflüsse (z.B: relative Luftfeuchte) beeinflusst werden. [2]

Im Zuge dieses Beitrags soll die Methodik zur Entwicklung eines Sensorenclusters Low-Cost PM-Sensoren zur Untersuchung des lokal aufgelösten Abscheideverhaltens in einem Nassabscheider vorgestellt werden. Mit Hilfe der aus dieser Versuchsmethodik gewonnen experimentellen Daten soll zukünftig ein adaptiver Nassabscheider entwickelt werden, welcher sich entsprechend der vorherrschenden Randbedingungen (z.B. Partikelkonzentration, Strömungsverhältnisse) anpasst und somit bei multiplen Betriebspunkten fähig ist, im energieeffizienten Optimum bei maximaler Abscheideleistung betrieben zu werden.

Hierzu soll zunächst anhand von theoretischen Grundlagen die zu untersuchende Aerosolstreulichtpartikelmesstechnik erläutert werden. Anschließend folgt eine Vorstellung der verwendeten Partikelmesstechnik. Daraufhin soll die grundlegende Vorgehensweise zur systematischen Charakterisierung der qualitativen Aussagekraft der Sensordaten vorgestellt werden.

Grundlagen und Materialien

Nassabscheider

Grundsätzlich basieren Abscheider auf dem Prinzip, dass die Bahnkurven, auf denen sich die Partikeln im Fluid bewegen, zu Bereichen oder Flächen führen müssen, von denen die Partikeln durch die kontinuierliche Phase nicht mehr wegbefördert werden können. Diese Bereiche bzw. Flächen werden als Kollektoren bezeichnet. In der Nassabscheidung dient die Tropfenoberfläche als Kollektor. Sobald eine Partikel auf einen Tropfen trifft, kann nach Weber [3] angenommen werden, dass diese haften bleiben. Das dadurch gebildete Partikel-Tropfen-Agglomerat lässt sich, aufgrund der erhöhten Masse im Vergleich zur Partikel, besser mit Hilfe von beispielsweise trägheitsbasierten Abscheidemechanismen aus dem Gasstrom entfernen. [4]

Die in einem Nassabscheider ablaufenden Vorgänge können in vier Bereiche eingeteilt werden:

- Dispergierung der Waschflüssigkeit im Aerosolstrom
- Kollision der dispersen Phase mit den Tropfen
- Haftung der Partikeln an der Tropfenoberfläche
- Abscheidung der partikelbeladenen Tropfen stromabwärts

Nassabscheider unterscheiden sich zum einen in der Art der Tropfenerzeugung und zum anderen in der Art der Vermischung des Aerosols mit der Waschflüssigkeit. Beim zu untersuchenden Nassabscheider zerstäubt die Waschflüssigkeit in der Kontaktzone durch Ansaugung und Überströmung der Flüssigkeit.

Messtechnische Grundlagen

Zur online Messung von Partikelkonzentrationen in einem Gasstrom finden unter anderem optische Verfahren Anwendung. [5]

Dabei erfolgt eine Unterscheidung in abbildende Verfahren und Streulichtverfahren. Da die im Rahmen dieser Studie verwendete Partikelmesstechnik ausschließlich auf dem Streulichtverfahren basiert findet nachstehend lediglich eine Betrachtung dieses Verfahrens statt.

Das Messprinzip der Streulichtmesstechnik basiert auf der Streuung einer Lichtwelle mit der Wellenlänge λ an einer kugelförmigen Partikel mit dem Durchmesser d und dem Brechungsindex n. Aufgrund von Beugung, Reflexion und Brechung findet eine Richtungsänderung der Ausbreitung des Lichts statt. Abbildung 1 stellt die Lichtstreuung an einer Einzelpartikel dar. Zusätzlich ist sowohl der Streuwinkel θ, als auch der Polarisationswinkel ϕ aufgetragen. [6]

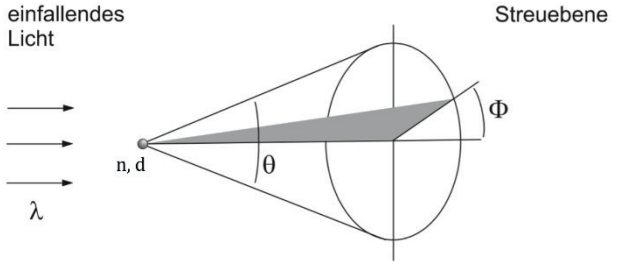


Abbildung 1 - Schematische Darstellung der Streuung einer Lichtwelle an einer Partikel. λ steht hierbei für die Lichtwellenlänge, n für den Brechungsindex, d für den Partikeldurchmesser, θ für den Detektionswinkel des Streulichts und ϕ für den Polarisationswinkel der gestreuten Lichtwelle. Nach [4].

Aus Abbildung 1 ist erkennbar, dass die Lichtstreueffekte Funktionen der Partikeleigenschaften, der Wellenlänge des Lichtes und dessen Verhältnis zueinander sowie des Streuwinkels zwischen Beobachter und Beleuchtungsrichtung sind. Zur Beschreibung des Verhältnisses zwischen Partikelgröße und Wellenlänge wird ein Streuparameter α eingeführt:

$$\alpha = \pi d/\lambda$$

Die Intensität I des am Einzelpartikel gestreuten Lichts ergibt sich demnach aus der Intensität I_0 des auf die Partikel treffenden Lichtes, dem Polarisationswinkel, dem Detektionswinkel, dem Brechungsindex m und dem Streuparameter α. Die relative Streulichtintensität I^* stellt sich wie folgt dar:

$$I^* = I/I_0 = f(\phi, \theta, n, \alpha).$$

Mittels des Streuparameter α lassen sich die theoretischen Ansätze zur Beschreibung der Partikelgrößen- und Winkelabhängigkeit der Streulichtintensität in folgende drei Bereiche aufteilen [7]:

- α << 1; Rayleigh-Bereich
- α ≈ 1; Mie-Bereich
- α >> 1; Fraunhofer-Bereich

In Abbildung 2 ist die relative Streulichtintensität I^* über den Streuparameter α für monochromatisches Licht und einem festen Streuwinkel aufgetragen und die unterschiedlichen Bereiche des Streuparameters α gekennzeichnet.

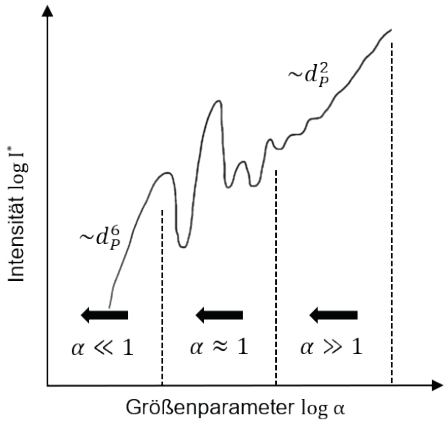


Abbildung 2 - Schematische Darstellung des Zusammenhangs der Streulichtintensität über den Größenparameter α. Zusätzlich sind die drei unterschiedlichen Bereiche der Streulichtintensität (α << 1; α ≈ 1; α >> 1) und deren Proportionalität zum Partikeldurchmesser aufgetragen. Nach [7].

Die in Abbildung 2 dargestellte Abhängigkeit der relativen Streulichtintensität weist im Rayleigh Bereich (α<<1) eine Abhängigkeit vom Partikeldurchmesser in der sechsten Potenz auf. Im Bereich der geometrischen Optik (α>>1), besteht eine quadratische Abhängigkeit der Streulichtintensität zum Partikeldurchmesser. Im Mie-Bereich (α≈1) sind starke Schwankungen zu erkennen und eine eindeutige Zuordnung der Streulichtintensität zur Partikelgröße ist allgemein nicht möglich. Das bedeutet, dass in der messtechnischen Anwendung einer gemessenen Lichtintensität mehr als eine Partikelgröße zugeordnet werden kann.

Zur Partikelmessung im Mie-Bereich besteht die Möglichkeit, unter Verwendung von weißem Licht mit 90° Streulichtdetektion, eine Glättung der Kurve (vgl. Abbildung 2) zu erreichen und somit eine eindeutige Zuordenbarkeit zwischen gemessener relativer Streulichtintensität und Partikelgröße herzustellen. Eine weitere Möglichkeit besteht darin mittels monochromatischen Lichts mit 90°-Streulichtdetektion und einer Approximationsfunktion einen angenäherten Zusammenhang zu erhalten. [8]

Zur Ermittlung der Partikelgröße mittels Streulichtverfahren ist das Reflexionsverhalten und die Brechung der Wellen beim Auftreffen einer Phasengrenzfläche relevant. Dieses Verhalten wird durch den Brechungsindex m beschrieben. Der Brechungsindex setzt sich aus einem Real- und einem Imaginärteil zusammen. Der Realteil ist hierbei der maßgebliche Parameter für die Lichtstreuung und der Imaginärteil beschreibt das Reflexionsverhalten. Unter der Annahme, dass das Reflexionsverhalten bei den zu untersuchenden Stoffen vernachlässigbar ist, ergibt sich der Brechungsindex als Verhältnis von der Lichtgeschwindigkeit im Vakuum c zur Lichtgeschwindigkeit im Partikel v_P zu

$$n = c/v_P.$$

Aufbau Streulichtmesstechnik

Der schematische Aufbau eines Streulichtpartikelzählers ist in Abbildung 3 dargestellt. Darauf ist eine exemplarische Messkammer, eine Lichtquelle, die Aerosolzufuhr und Absaugung, sowie die Lichtfalle, ein Verstärker und ein Detektor abgebildet. Des Weiteren ist das Messvolumen gekennzeichnet. Über die Aerosolzufuhr, wird das zu untersuchende Aerosol in definierter Menge in die Messkammer bzw. in das Messvolumen gesaugt. Beim Auftreffen des Lichtstrahls mit einer Partikel wird dieser gestreut. Daraufhin findet eine messtechnische Detektion der Streuung statt. Anschließend wird die detektierte Streuung in ein elektrisches Signal umgewandelt und verstärkt. [9]

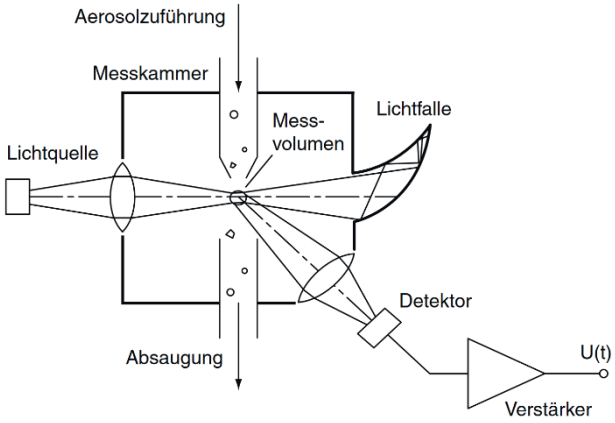


Abbildung 3 - Schematischer Aufbau eines Streulichtpartikelzählers. Dargestellt ist die Aerosolzuführung und -absaugung, eine Lichtquelle mit Detektor und Signalverstärker, sowie das Messvolumen und die Lichtfalle. [7]

Zur Vermeidung von Koinzidenzfehlern sollte bei einer Messung mit Streulichtpartikelzählern darauf geachtet werden, dass sich immer nur eine Partikel im Messvolumen während der Signalverarbeitung befindet. Bei Mehrfachdetektion von Partikeln werden mehrere Partikeln als ein großes Partikel erfasst, da keine eindeutige Zuordnung des Signals zur Partikelgröße stattfindet. Dadurch kommt es zu einer Fehlinterpretation der Partikelkonzentration und -größe. Koinzidenzfehler können durch die Wahl eines geeigneten Messvolumens reduziert werden. Dabei gilt, je kleiner das Messvolumen, desto höher ist die Partikelanzahlkonzentrationen die mit dem Gerät gemessen werden kann. [7]

Zusätzlich zu den Koinzidenzfehlern kann es zu Randzonenfehlern im Messvolumen kommen. Diese treten auf, wenn eine Partikel am Rand des Messvolumens eine deutlich geringere Streulichtintensität aufweist, wie eine Partikel selber Art im Zentrum des Messvolumens.

Aerosolmesstechnik

Die in diesem Beitrag verwendete Aerosolmesstechnik basiert auf dem Streulichtprinzip. Dabei wird ein HC-Sensor (High-Cost Sensor) als etablierte Referenzpartikelmesstechnik verwendet, während die Tauglichkeit eines Low-Cost PM-Sensors (LC-Sensor) für die Anwendung der Emissionsüberwachung im Bereich der Nassabscheidung untersucht werden soll. Die von den Herstellern angegeben technischen Daten des jeweiligen Sensors sind auszugsweise in Tabelle 1 dargestellt. Hierbei fallen zunächst die Unterschiede bzgl. der Abmessungen und des Gewichts der Sensoren auf. Des Weiteren besteht die Möglichkeit bei der verwendeten Referenzmesstechnik (HC-Sensor) größenaufgelöst zu messen, während beim LC-Sensor lediglich fünf Größenkanäle zur Verfügung stehen. Außerdem ist der Anwendungsbereich der Referenzmesstechnik aufgrund einer beheizbaren Zulaufstrecke und variablen Einstellmöglichkeiten bzgl. beispielsweise Strömungsgeschwindigkeiten zur Gewährleistung einer isokinetischen Probenahme deutlich größer. Diese Variabilität spiegelt sich auch in der Verarbeitbarkeit der Messdaten wieder. Beim LC-Sensor gibt es keine Möglichkeit partikelmaterialspezifische Eigenschaften wie den Brechungsindex oder die Partikeldichte zu variieren. Ein weiterer messtechnisch relevanter Unterschied ist die Verwendung der Lichtquelle. Der HC-Sensor verwendet eine Weißlichtquelle und der LC-Sensor monochromatisches Licht. Wie bereits im Abschnitt „Messtechnische Grundlagen“ erklärt, unterscheiden sich die beiden Lichtquellen in der Art der Zugänglichkeit des Zusammenhangs zwischen relativer Streulichtintensität und dem Mie-Größenparameter.

Tab. 1: Technische Daten der verwendeten Partikelmesstechnik

Sensortyp	**HC-Sensor**	**LC-Sensor**
Maße / mm	50 x 250 x 100	41 x 41 x 12
Gewicht / g	2800	6
Messbereich / µm	0,2 – 40 3 Bereiche	0,3 – 10
Messgrößen	Partikelgrößen-verteilung, Partikelanzahl	PM_1, $PM_{2,5}$, PM_4, PM_{10}, Partikelanzahl
Größenkanäle	64 bins	5 bins
Max. Anzahlkonzentration / cm^{-3}	$5*10^5$	$3*10^3$
Betriebstemperatur / °C	≤ 250	-10 – 60
Max. rel. Luftfeuchte	heizbar	80 %
Brechungsindex	variabel	konstant
Lichtquelle	Weißlicht	Monochromatisch
Partikeldichte	variabel	konstant
Max. Strömungsgeschwindigkeiten / ms^{-1}	variabel über isokinetische Probenahmen	1
Aufzeichnungsrate / Hz	1	1
Kosten / €	~ 30.000	~ 40

Zusätzlich gibt Sensor 1 ebenfalls an, ob bzw. wie hoch der Koinzidenzfehler der aktuellen Messung ist. Diese Möglichkeit bietet LC-Sensor 2 nicht. Wie hier

mit Koinzidenzfehlern umgegangen wird ist nicht bekannt. Des Weiteren ist beim HC-Sensor eine T-Blende zur Verringerung von Randzonenfehlern verbaut. Auch hier ist keine Information zum Umgang mit Randzonenfehlern vom LC-Sensor verfügbar.

Methodisches Vorgehen

Im Folgenden Kapitel soll das methodische Vorgehen zur Entwicklung eines Low-Cost PM-Sensorenclusters zur Untersuchung des Abscheideverhaltens eines innovativen Nassabscheiders vorgestellt werden. Zu Beginn der Methodik wird Funktion der Versuchsanlage beschrieben. Anschließend wird auf die strömungsmechanische und thermodynamische Charakterisierung der zur Verfügung stehenden Messpositionen eingegangen. Daraufhin folgt zunächst die Überprüfung möglicher Abweichungen zwischen den LC-Sensoren. Anschließend soll die qualitative Aussagekraft der Messdaten der LC-Sensoren mithilfe von etablierter Referenzmesstechnik (HC-Sensor) an den zuvor definierten Messpositionen verglichen werden.

Funktionsbeschreibung Versuchsanlage

Abbildung 4 stellt schematisch ein Fließschema der Versuchsanlage mit den relevantesten Funktionszonen dar.

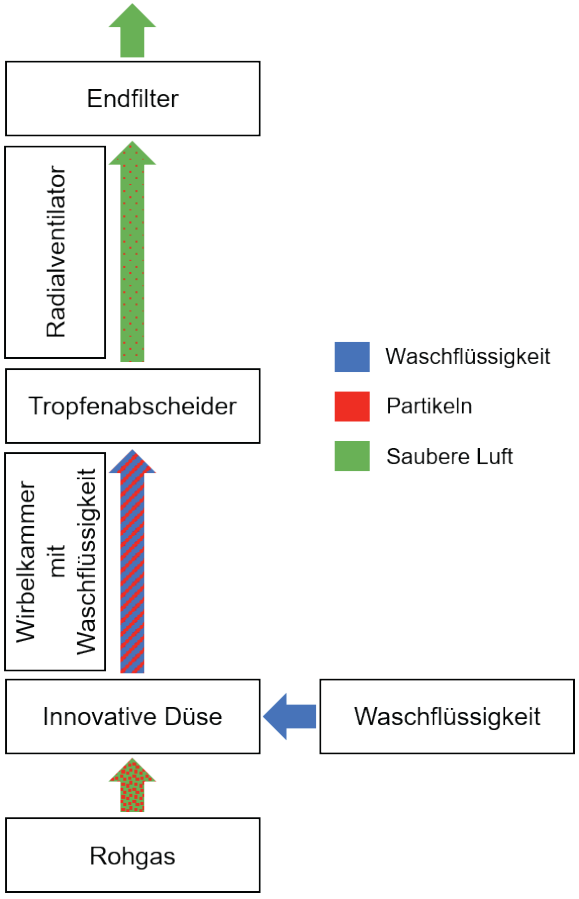


Abbildung 4 - Schematische Darstellung der Versuchsanlage mit abgebildeten Funktionszonen bzw. Komponenten.

Das Rohgas wird mittels eines Radialventilators in eine innovative 3D-gedruckte Düse gefördert. Durch strömungsmechanische Effekte wird innerhalb der Düse die Waschflüssigkeit zum einen hineinbefördert, und zum anderen zerstäubt. Im Anschluss strömt das Aerosol mit dem tropfenförmig vorliegenden Waschwasser in eine Wirbelkammer. In der Wirbelkammer wird zusätzlich Wasser mittels des Luftstroms aufgewirbelt. Durch die Aufwirbelung des Wassers werden weiteren Tropfen gebildet. Aufgrund hoher Differenzgeschwindigkeiten, sowohl in der Düse als auch in der Wirkbelkammer, zwischen den Tropfen und den Partikeln kommt es zum Auftreffen und Haften der Partikeln an der Tropfenoberfläche. Diese Partikel-Tropfen-Agglomerate werden im Anschluss an die Wirbelkammer mittels Tropfenabscheider aus dem Gasstrom auf Basis von Trägheit entfernt. Der nicht am Wasser abgeschiedene Anteil an Partikeln im Gasstrom wird mittels eines Endfilters abgeschieden.

Charakterisierung der Messpositionen

Bevor die Low-Cost PM-Sensoren (LC-Sensor) in die Versuchsanlage eingebaut werden, müssen zunächst die Messbedingungen bzgl. Temperatur, Strömungsgeschwindigkeiten und relativer Feuchte bestimmt werden. Hierzu soll die Versuchsanlage, ohne die Beaufschlagung von Partikelmaterial, bei verschiedenen Betriebspunkten betrieben werden. Dabei ist die Versuchsanlage zunächst in folgende drei Bereiche eingeteilt worden:

1. Rohgas
2. Tropfenabscheider
3. Endfilter

Diese Bereiche unterscheiden sich im späteren Betrieb wesentlich im Hinblick auf Strömungsgeschwindigkeiten v, relativer Luftfeuchten rF und konsequenterweise auch in der Partikelanzahl. Die minimalen und maximalen Versuchsbedingungen für die drei Bereiche sind in Tabelle 2 dargestellt. Es fällt auf, dass die verschiedenen Bereiche unterschiedliche Anforderungen an die Partikelmesstechnik stellen. Zum einen, kann es bei hohen relativen Luftfeuchten zum hygroskopischen Wachstum der Partikeln kommen, was zu einer fehlerhaften Konzentrations- und Partikelgrößenmessung führen kann. Dieser Effekt kann durch eine Beheizung der Probenahmestrecke verringert werden. Diese Möglichkeit steht beim LC-Sensor nicht zur Verfügung. Des Weiteren fallen die unterschiedlichen Strömungsgeschwindigkeiten im Bereich von $0{,}5 - 35\ ms^{-1}$ auf. Zur Gewährleistung einer isokinetischen Probenahme, kann bei Verwendung des HC-Sensors die Probenahmedüse und somit die Strömungsgeschwindigkeit am Eintritt variiert werden. Dadurch wird eine nichtrepräsentative Probenahme verhindert. Beim LC-Sensor steht diese Variation nicht zur Verfügung.

Tab. 2: Versuchsbedingungen in den verschiedenen Bereichen der Anlage

Bereich	Rohgas	Tropfen-abscheider	Endfilter
v / ms^{-1}	9 – 35	0,58 – 4,72	0,27 – 4,06
rF / %	Umgebung	64,8 – 88,2	49,4 – 69,5
T / °C	Umgebung	19,9 – 22,9	22,2 – 27,2

Überprüfung von systematischen Abweichungen zwischen den Sensoren

Zur Überprüfung der systematischen Abweichung der LC-Sensoren werden diese in einer Testkammer mit einem Volumen von 1 m^3 unter regulierbaren Feuchtebedingungen mit Partikeln beaufschlagt. Im Rahmen dieser Versuchsreihe werden acht LC-Sensoren untereinander und zur Referenzmesstechnik (HC-Sensor) verglichen. Hierbei werden sowohl Versuche bei Umgebungsbedingungen bei relativen Feuchten (rF) <<80% und bei relativen Feuchten (rF) >80% durchgeführt. Mittels dieser Vorgehensweise soll ein etwaiger Einfluss der relativen Luftfeuchte auf die Messqualität der LC-Sensoren untersucht werden. Die Partikelzugabe erfolgt mittels Bürstendosierer auf ein Anzahlkonzentrationsniveau von 6000 cm^{-3}. Dies entspricht der zweifachen Messgrenze der Sensoren von Typ 2. Hierbei soll untersucht werden, inwiefern die Sensoren von Typ 2 auch außerhalb der vom Hersteller spezifizierten Messgrenze qualitative Aussagen bzgl. der vorherrschenden Partikelkonzentrationsniveaus treffen können. Bevor die Partikeln in die Versuchskammer gelangen, werden Partikeln >$PM_{2,5}$ Fraktion abgeschieden. Aufgrund des konstanten Probenahmevolumenstroms des HC-Sensors verhält sich die Konzentrationsabnahme in der Versuchskammer analog zu dem Konzentrationsverlauf in einem idealen Reaktor mit Rührkesselcharakterisitk (CSTR). Mittels des in der Versuchskammer verbauten Ventilators, kann eine ideale Vermischung der Partikeln angenommen und eine Sedimentation ausgeschlossen werden.

Untersuchung der qualitativen Aussagekraft der Messdaten

Im Anschluss an die systematische Überprüfung der Abweichung zwischen den Sensoren und der Referenzmesstechnik werden diese an den zuvor aus der Charakterisierung der Versuchsanlage bestimmten Messposition verbaut und mit der Referenzmesstechnik abgeglichen. Hierbei sollen Messpositionen identifiziert werden, bei denen die LC-Sensoren zuverlässige Messdaten liefern können.

Zielsetzung

Mit Hilfe der vorgestellten Methodik soll ein Low-Cost PM-Sensorencluster entwickelt werden, welches in der Lage ist online Messdaten in ausreichender Qualität bereitzustellen um zu jedem Zeitpunkt eine Aussage bzgl. der vorherrschenden Partikelkonzentrationen im Prozess zu erhalten. Zukünftig kann dieses Cluster das Potential bieten einen adaptiven Abscheideprozess zu entwickeln, welcher mittels der Kenntnis der lokalen Partikelkonzentrationsniveaus in der Lage ist, im energetischen Optimum unter Kenntnis der Abscheideleistung betrieben zu werden.

Literatur

[1] P. Bächler, J. Meyer, and A. Dittler, “Characterization of the emission behavior of pulse-jet cleaned filters using a low-cost particulate matter sensor/Charakterisierung der Emission von druckstoßgereinigten Oberflächenfiltern mit einem Low-Cost-Feinstaubsensor,” *GrdL*, vol. 79, 11-12, pp. 443–450, 2019, doi: 10.37544/0949-8036-2019-11-12-49.

[2] A. Samad, F. E. Melchor Mimiaga, B. Laquai, and U. Vogt, “Investigating a Low-Cost Dryer Designed for Low-Cost PM Sensors Measuring Ambient Air Quality,” *Sensors (Basel, Switzerland)*, vol. 21, no. 3, 2021, doi: 10.3390/s21030804.

[3] E. Weber, “Definition des Benetzungsverhaltens heterogener Stäube und dessen Einfluß auf die Naßentstaubung,” [Online]. Available: http://swb.bsz-bw.de/DB=2.1/PPN?PPN=1125677511

[4] F. Löffler, *Staubabscheiden: 34 Tabellen*. Stuttgart: Thieme, 1988.

[5] P. Bächler, J. Szabadi, J. Meyer, and A. Dittler, “Simultaneous measurement of spatially resolved particle emissions in a pilot plant scale baghouse filter applying distributed low-cost particulate matter sensors,” *Journal of Aerosol Science*, vol. 150, p. 105644, 2020, doi: 10.1016/j.jaerosci.2020.105644.

[6] M. Kuhli, *Entwicklung von Aufgabesystemen zur Charakterisierung pharmazeutischer Aerosole mit einem optischen Partikelzähler*, 2009. [Online]. Available: https://macau.uni-kiel.de/receive/diss_mods_00004378

[7] H.-R. Tränkler and E. Obermeier, Eds., *Sensortechnik: Handbuch für Praxis und Wissenschaft*. Berlin, Heidelberg, s.l.: Springer Berlin Heidelberg, 1998.

[8] M. Stiess, *Mechanische Verfahrenstechnik - Partikeltechnologie 1,* 3rd ed. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2008. [Online]. Available: http://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:bsz:31-epflicht-1544055

[9] L. Gail and U. Gommel, Eds., *Reinraumtechnik,* 4th ed. Berlin, Heidelberg: Springer, 2018. [Online]. Available: http://www.springer.com/

DOI 10.5162/15dss2021/P2.1

P2.1
Transiente Untersuchungen des Stofftransports von Gasen in porösen Materialien

R. Grün, C. Breitkopf, Technische Universität Dresden, Dresden/D

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/P2.2

Differential Inductive Sensing System using a Differential Transformer with Shielded and Split Primary Coil

Marc Berger, Anne Zygmanowski and Stefan Zimmermann

Institute of Electrical Engineering and Measurement Technology, Leibniz University Hannover, Appelstr. 9A, 30167 Hannover, Germany
Contact: berger@geml.uni-hannover.de

Introduction

In this work, we show a differential transformer for the determination of the electrical and dielectric properties of a sample using a split primary coil and magnetic shielding through a highly permeable ferrite layer for improved sensitivity. Preliminary results show an increase in sensitivity of 12.2 % compared to a transformer with one primary coil and without shielding.

Differential transformers are widely used in sensing technologies. Typically, a differential transformer consist of three coils located on a ferrite core. The center coil is the primary coil and is excited by an ac voltage or an ac current. Due to the excitation, a primary magnetic flux is generated. The outer coils are the secondary coils and are connected differentially in series. In many applications, the ferrite core is movable. This allows a very precise displacement, force or pressure sensor to be realized [1–8].

Another field of application results with a ferrite core fixed symmetrically to the coils. If a sample is placed closer to one of the two secondary coils, its electrical and dielectric properties can be measured. Fig. 1 a) shows such a differential transformer schematically. The primary magnetic flux induces eddy and displacement currents into the sample depending on its permittivity and conductivity. These currents cause a secondary magnetic flux. Due to the lower distance to one of the secondary coils compared to the other, a higher voltage is induced into the closer coil. Thus, an output voltage U_o is generated that can be measured at the terminals of the differentially connected secondary coils. [9] shows the possibility to separate U_o into a real part depending on the permittivity of the sample and into an imaginary part depending on the conductivity of the sample. Because of the differential connection and the symmetrical setup, the primary magnetic flux induces a voltage in the upper and the lower secondary coil with the same magnitude but different sign, resulting in an output voltage of the connected secondary coils of zero. This allows the weak eddy and displacement currents to be measured with a high resolution. Such a differential transformer with fixed ferrite core can be used for determining the biomass in a bioreactor, the tissue properties or for continuous monitoring of blood properties – e.g. the sodium concentration during the dialysis treatment [9–14]. [15] has even shown the possibility of measuring directly through a tubing, making it very promising for applications such as continuous and contactless monitoring of sodium in the blood during dialysis treatment. The sodium concentration measurement in blood is realized via blood conductivity measurement, since sodium has the strongest impact on the plasma conductivity (therefore the measuring frequency must be below the β-dispersion, which is at about 1 MHz) [16–23].

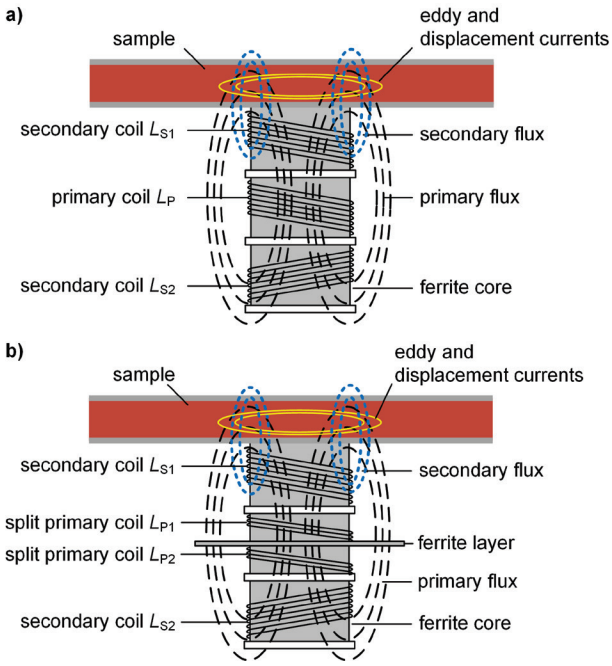


Fig. 1: (a) Schematic depiction of a differential transformer in single-primary coil configuration consisting of the secondary coils L_{S1} and L_{S2} connected differentially in series and the primary coil L_P. (b) Differential transformer with two split primary coils L_{P1} and L_{P2}. A ferrite layer is located between the two primary coils to shield the secondary flux from L_{S2}.

In order to achieve high sensitivity, it is an advantage to place the primary coil as close as possible to the sample, as this causes the sample to be penetrated strongly by the primary magnetic flux, and thus high eddy and displacement currents are induced in the sample. This increases the field strength of the secondary flux. However, due to the symmetrical design of the transformer, the secondary coil L_{S2} must also be placed closer to the sample. As a result, this secondary coil is also penetrated by more secondary

flux. Due to the differential connection of the two secondary coils, this has a negative effect on the sensitivity. In [12] it was therefore shown how to set the optimum distance between the coils.

To further attenuate the secondary magnetic flux at the position of the lower secondary coil, this paper presents a new approach with a primary coil split into two coils and a ferrite layer added between the two primary coils so that the secondary field is shielded from the secondary coil L_{S2}. A schematic illustration of this setup can be seen in Fig. 1 b). This setup improves the sensitivity of the differential transformer by 12.2 % compared to the setup shown in Fig. 1 a).

Methods and Materials

Concept

The differential transformer with split and shielded primary coils is compared to a PCB (printed circuit board) differential transformer from [12] using one single primary coil L_P. This single primary coil transformer has n_S = 542 turns for each secondary coil and n_P = 42 turns for the primary coil. The distance between the upper and lower secondary coils is 17.5 mm. The primary coil is exited with a voltage U_P = 1 V_{PP} (peak to peak) at a frequency of 155 kHz. Since the sensitivity of the differential transformer depends on the ratio of the secondary inductance L_S to the primary inductance L_P, and only the effect of the shielding is to be investigated here, this ratio should not be changed by splitting the single primary coil L_P into two primary coils L_{P1} and L_{P2}. This condition can be achieved by two basic configurations.

First, each of the two primary coils can be the same as in the single primary differential transformer. That means both the upper primary coil L_{P1} and the lower primary coil L_{P2} have 42 turns each. Each coil is excited with U_P = 1 V_{PP} at 155 kHz. This corresponds to a parallel configuration of both coils. The mutual inductance M between the primary coils is

$$M = k \cdot \sqrt{L_{P1} L_{P2}}, \qquad (1)$$

where k is the coupling factor ($0 \le k \le 1$) [24]. The total inductance L_{para} of the coupled primary coils with the same winding direction that are connected in parallel is given by [24] as

$$L_{para} = \frac{L_{P1} L_{P2} - M^2}{L_{P1,para} + L_{P2,para} - 2M}. \qquad (2)$$

If equation (1) is substituted into equation (2) and assuming that L_{P1} and L_{P2} are very well coupled via the ferrite core ($k \to 1$) and $L_{P1} = L_{P2} = L_P$, the total inductance L_{para} is given as

$$L_{para} = \lim_{k \to 1} \frac{L_P^2 - k^2 L_P^2}{2L_P - 2kL_P} = L_P. \qquad (3)$$

This gives the same inductance for the two primary coils connected in parallel and coupled via the ferrite core as for the single primary coil differential transformer.

Second, each primary coil now has a reduced number of turns to n_P = 21. Both coils L_{P1} und L_{P2} are now connected in series. The total excitation voltage is U_P = 1 V_{PP} at 155 kHz. Thus, compared to the single primary coil transformer the total number of turns of the primary coils is unchanged. Since the inductance of a coil depends quadratic on the number of turns, the inductances of the individual coils is $L_{P1} = L_{P2} = L_P / 4$. For magnetically coupled coils connected in series with the same winding direction, the total inductance L_{seri} results according to [24] to

$$L_{seri} = L_{P1} + L_{P2} + 2M = \frac{1}{4} L_P + \frac{1}{4} L_P + \frac{1}{2} k \cdot L_P. \qquad (4)$$

Again, assuming that k tends to one, it follows from equation (4) that $L_{seri} = L_P$.

Thus, it is expected that both configurations – the series connection with halved number of turns per primary coil and the parallel connection of two coils, which are identical to the single primary coil differential transformer – provide the same results. Both configurations are compared in the following using numerical simulations.

Simulations

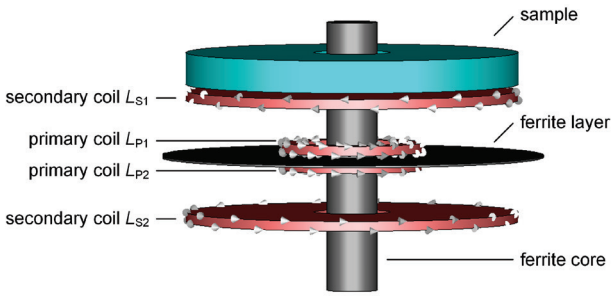


Fig. 2: CST-EM Studio simulation model for simulation of the differential transformer with split and shielded primary coil. The white cones indicate the winding direction. The ferrite layer has a thickness of 0.3 mm, a radius of 30 mm and a relative permeability of $\mu_r = 300$.

The increase in sensitivity by inserting a ferrite layer with a high relative permeability between the split primary coil is simulated for the two configurations described above using *CST-EM Studio*. The model corresponds to the PCB differential transformer with two primary coils L_{P1} and L_{P2} and is shown in Fig. 2. The number n_S of the turns of each secondary coil is 542. The distance between the upper and the lower secondary coil is also the same as with the single primary coil transformer (17.5 mm). To simulate the parallel connection of L_{P1} and L_{P2}, each primary coil has 42 turns and is wound in the same direction. Both primary coils are excited with a voltage of 1 V_{PP} at 155 kHz. To simulate the series configuration of both coils, the number of turns of L_{P1} and L_{P2} is reduced to 21 each, while exciting each coil with 0.5 V_{PP} at 155 kHz. Between the two primary coils L_{P1} and L_{P2} a 0.3 mm thick ferrite layer with a radius of 30 mm and a relative permeability μ_r = 300 is located. The relative

permeability of the ferrite core is μ_r = 300 as well. In order to investigate the exact impact of the ferrite layer, each simulation is performed with and without the ferrite layer between L_{P1} and L_{P2}.

As mentioned before, the imaginary part of the output voltage U_o depends on the conductivity of the sample. To determine the sensitivity, the conductivity of the sample is varied between 1 S/m and 2 S/m.

Experimental Setup

The PCB differential transformer with split and shielded primary coil is compared to the PCB differential transformer with the single primary coil from [12]. For both transformers, the secondary coils have 542 turns and are placed with a distance of 17.5 mm to each other. The excitation voltage is in each case 1 V_{PP} at 155 kHz.

As already shown by the theoretical preliminary considerations, and later also proven by the simulation results, the configurations of series connection with halved number of turns n_P / 2 or the parallel connection with n_P turns are equivalent. Hence, the experimental investigations are only realized in the parallel configuration. A photograph of the differential transformer with split and shielded primary coil is shown in Fig. 3.

The primary coils L_{P1} and L_{P2} have 42 turns each and are connected in parallel. In the single primary coil configuration, which is used as a reference, L_P also has 42 turns.

DI-water (deionized-water) solutions with different sodium chloride (NaCl) concentrations are used as a sample with varying conductivity. The concentration range is increased from 100 mmol/L in 10 mmol/L steps up to 150 mmol/L. The sensitivity is given by the slope of the linear regression of the imaginary part of the output voltage U_o.

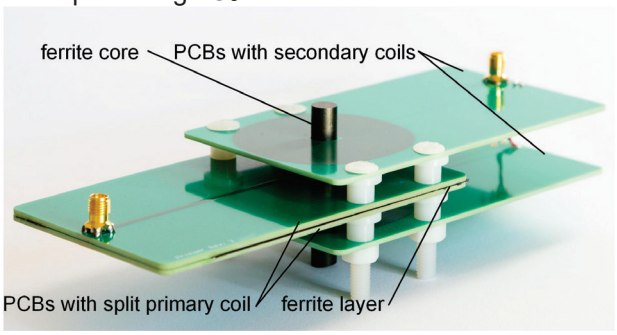


Fig. 3: Photograph of a differential transformer with split and shielded primary coil used for the experimental investigations. Each coil is realized on a separate printed circuit board (PCB). Here, the primary coils L_{P1} and L_{P2} have the same number of turns n_P = 42 as L_P of the single primary coil differential transformer from [12]. L_{P1} and L_{P2} are connected in parallel.

Results

Simulations

Initially, the simulations were conducted with two primary coils in series and in parallel configuration without ferrite layer. The results of this simulation are shown in Fig. 4 (parallel configuration: blue line; series configuration: red dashed line).

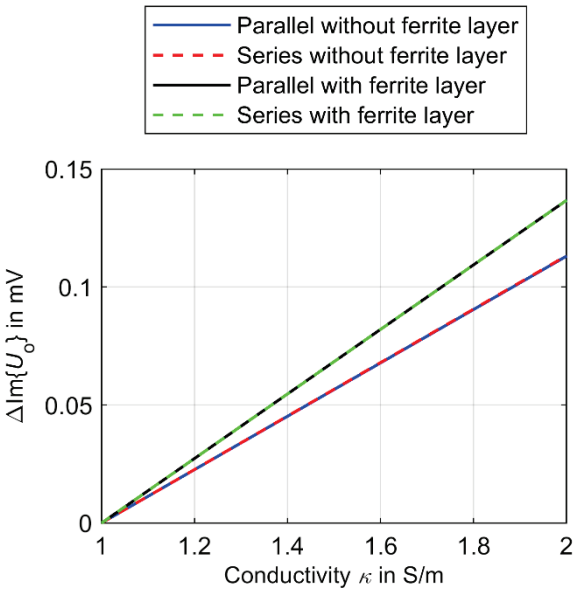


Fig. 4: Simulated variation of the imaginary part of the output voltage U_o depending on the conductivity of the sample using the simulation model from Fig. 2. For the parallel configuration, n_P is 42 turns and the excitation of each coil is 1 V_{PP}. For the series configuration n_P = 21 turns and the excitation is 0.5 V_{PP} per primary coil. Both configurations were simulated with and without a 0.3 mm thick ferrite layer between the primary coils. The relative permittivity of the ferrite layer is μ_r = 300.

As expected from the theoretical considerations, both configurations have almost the same sensitivity. For the parallel configuration, the simulated sensitivity is 113.2 µV/S/m and for the series connection, the simulated sensitivity is 113.4 µV/S/m.

Afterwards, the 0.3 mm thick ferrite layer with a radius of 30 mm and a μ_r = 300 was added between L_{P1} and L_{P2}. The simulated sensitivity is now increased for both configurations to 136.8 µV/S/m (series configuration: green dashed line; parallel configuration: black line). Thus, the sensitivity increases by about 20 % adding the ferrite layer.

Measurements

As can be seen in Fig. 5, the differential transformer with split and shielded primary coil has a sensitivity of 215.7 mV/mol/L (red), while the differential transformer in single coil configuration has lower sensitivity of 192.2 mV/mol/L (blue). Thus, in the experiment, the sensitivity of the differential transformer with split

and shielded primary coils is 12.2 % higher compared to the single primary coil differential transformer.

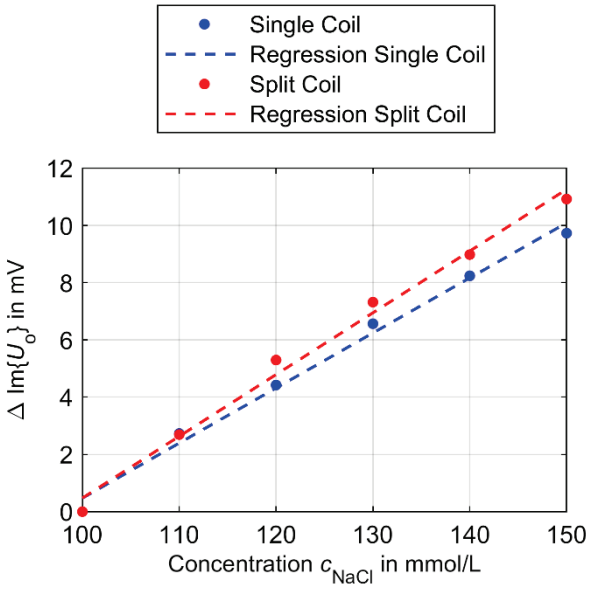


Fig. 5: Comparison between the differential transformer with a single primary coil from [12] (blue) and the differential transformer with a split and shielded primary coil from Fig. 3 (red). The dots are the measured variation of the imaginary part of the output voltage U_o depending on the NaCl concentration of the sample in DI-water. The dashed lines are the linear regressions to the measured values (the slopes represent the sensitivities).

Conclusion

In this paper, a concept for sensitivity enhancement of a differential transformer is presented. To achieve this, the primary coil of the transformer is split into two coils and a ferrite layer with a high relative permittivity is added between the two primary coils. Thus, the lower secondary coil being further away from the sample than the upper secondary coil is shielded more from the secondary flux. Due to the differential configuration of the secondary coils, this has a positive effect on the sensitivity.

There are two basic configurations for the connection of the split primary coils, allowing the total inductance of the primary coil not to be changed compared to a single primary coil differential transformer, so that an increase in sensitivity is solely attributed to the shielding. On the one hand, the same coil as for a single primary coil differential transformer can be used twice. These coils must then be connected in parallel. On the other hand, it is also possible to halve the number of turns of the coils and connect both coils in series.

Experimental investigations have shown that the differential transformer with split and shielded primary coils has a sensitivity of 215.7 mV/mol/L, exceeding the sensitivity of a single primary coil differential transformer by 12.2 %.

References

[1] A. Danisi, A. Masi, R. Losito, Performance Analysis of the Ironless Inductive Position Sensor in the Large Hadron Collider Collimators Environment, Sensors (Basel, Switzerland) 15 (2015) 28592–28602.

[2] C. Loughlin, Sensors for Industrial Inspection, Springer Netherlands, Dordrecht, 1993.

[3] M.J. Usher, Sensors and Transducers, Macmillan Education UK, London, 1985.

[4] W. Petchmaneelumka, W. Koodtalang, V. Riewruja, Simple Technique for Linear-Range Extension of Linear Variable Differential Transformer, IEEE Sensors J. (2019) 1.

[5] J. Fraden, Handbook of Modern Sensors, Springer New York, New York, NY, 2010.

[6] K.V. Santhosh, B.K. Roy, A Smart Displacement Measuring Technique Using Linear Variable Displacement Transducer, Procedia Technology 4 (2012) 854–861.

[7] A.D. Woolfson, D.F. McCafferty, S.P. Gorman, P.A. McCarron, J.H. Price, Design of an apparatus incorporating a linear variable differential transformer for the measurement of type III bioadhesion to cervical tissue, International Journal of Pharmaceutics 84 (1992) 69–76.

[8] W.H. Aellig, A new technique for recording compliance of human hand veins, British journal of clinical pharmacology 11 (1981) 237–243.

[9] T. Reinecke, P. Biechele, M. Sobocinski, H. Suhr, K. Bakes, D. Solle, H. Jantunen, T. Scheper, S. Zimmermann, Continuous noninvasive monitoring of cell growth in disposable bioreactors, Sensors and Actuators B: Chemical 251 (2017) 1009–1017.

[10] M. Berger, D. Niebuhr, M. Allers, S. Zimmermann, Continuous Non-Invasive Sodium Monitoring in Extracorporeal Circuits: 17th International Meeting on Chemical - IMCS (2018) 683–684.

[11] M. Berger, F. Sellering, H. Rohrich, H. Mansour, T. Perl, S. Zimmermann, A Differential Transformer for Noninvasive Continuous Sodium Monitoring During Dialysis Treatment: 2019 IEEE SENSORS (2019) 1–4.

[12] M. Berger, A. Zygmanowski, F. Sellering, H. Röhrich, T. Perl, H. Mansour, S. Zimmermann, Contactless and continuous sodium concentration monitoring during continuous renal replacement therapy, Sensors and Actuators B: Chemical 320 (2020) 128372.

[13] J Netz, E Forner, S Haagemann, Contactless impedance measurement by magnetic induction - a possible method for investigation of brain impedance, Physiological Measurement 14 (1993) 463–471.

[14] P. P. Tarjan, R. McFee, Electrodeless Measurements of the Effective Resistivity of the Human Torso and Head by Magnetic Induction, IEEE Transactions on Biomedical Engineering BME-15 (1968) 266–278.
[15] M. Berger, A. Zygmanowski, S. Zimmermann, Differential Inductive Sensing System for Truly Contactless Measuring of Liquids′ Electromagnetic Properties in Tubing, Sensors 21 (2021) 5535.
[16] H. Beving, L.E.G. Eriksson, C.L. Davey, D.B. Kell, Dielectric properties of human blood and erythrocytes at radio frequencies (0.2-10 MHz): dependence on cell volume fraction and medium composition, Eur Biophys J 23 (1994) 207–215.
[17] M. Stubbe, J. Gimsa, Maxwell's mixing equation revisited: characteristic impedance equations for ellipsoidal cells, Biophysical journal 109 (2015) 194–208.
[18] H.P. Schwan, Electrical properties of tissue and cell suspensions, Advances in biological and medical physics 5 (1957) 147–209.
[19] H.P. Schwan, Electrical properties of blood and its constitutents: Alternating current spectroscopy, Blut 46 (1983) 185–197.
[20] F. Montiel, P. Aimar, P. Montoriol, Continuous monitoring of sodium concentration in blood during haemodialysis by a selective membrane and conductivity sensor, Sensors and Actuators B: Chemical 27 (1995) 465–467.
[21] F. Locatelli, S. Di Filippo, C. Manzoni, Relevance of the conductivity kinetic model in the control of sodium pool, Kidney international 58 (2000) S89-S95.
[22] A. Tura, S. Sbrignadello, E. Mambelli, P. Ravazzani, A. Santoro, G. Pacini, Sodium concentration measurement during hemodialysis through ion-exchange resin and conductivity measure approach: In vitro experiments, PloS one 8 (2013) e69227.
[23] F. Locatelli, V. La Milia, L. Violo, L. Del Vecchio, S. Di Filippo, Optimizing haemodialysate composition, Clinical kidney journal 8 (2015) 580–589.
[24] M. Vömel, D. Zastrow, Aufgabensammlung Elektrotechnik 2, Vieweg+Teubner Verlag, Wiesbaden, 1998.

DOI 10.5162/15dss2021/P2.3

Kombination optischer Rückstreusensorik und Single-Use-Technologie zur Prozessintensivierung von Zellkultur-Prozessen

M. Rotter[1], T. Hanselmann[2], L. Käßer[1], J. Kneitz[1], F. Eilts[1], G. Dekevic[1], G. Cremers[2], D. Exner[2], P. Czermak[1,3], D. Salzig[1]

[1]Institut für Bioverfahrenstechnik und Pharmazeutische Technologie - IBPT, THM Gießen, Gießen, Deutschland
[2] Exner Process Equipment GmbH, Ettlingen, Deutschland
[3]FB08 Biologie und Chemie, Justus-Liebig Universität, Gießen, Deutschland

Kontakt: denise.salzig@lse.thm.de

Einleitung

Zur Herstellung von Biopharmazeutika werden prozessspezifische Kontrollstrategien genutzt, um eine hohe Kosteneffizienz zu erzielen und eine hohe Produktqualität zu garantieren (*Quality-by-Design* Ansatz, *QbD*). Mittels der Bestimmung der entscheidenden Qualitätskriterien des Produktes und einer eingehenden Charakterisierung des Prozesses wird Prozessverständnis generiert und kritische Prozessparameter (*CPPs*) ermittelt. Dies ist die Basis einer engmaschigen Überwachung der Produktionsprozesse, was im Hinblick auf die umfassenden Regularien der guten Herstellungspraxis und die Zulassung des Produktes relevant ist.

Industrielle Zellkulturprozesse werden zunehmend in *Single-Use*-Reaktoren durchgeführt. Im Rahmen eines gemeinsamen Forschungsvorhabens der THM und der Exner Process Equipment GmbH wurde zur Überwachung und Steuerung von Zellkulturprozessen ein optischer Rückstreusensor mit innovativer Messoptik zur direkten Integration in *Single-Use*-Kultivierungssysteme entwickelt. Im Vergleich mit kommerziell erhältlichen Absorptionssensoren, liegt der Vorteil der Rückstreutechnologie vor allem in einem erweiterten linearen Messbereich. Damit sind Rückstreusensoren insbesondere für die Hochzelldichte in z.B. Perfusionsprozessen interessant. Die Entwicklung des Einweg-Sensors zielte auf einen hybriden Aufbau, bei welchem die Elektronik und Auswerteeinheit als autoklavierbare *Multiple-Use* Komponente, und Teile der optischen Einheit sowie der komplette Prozessanschluss als standardisierte *Single-Use*-Komponente ausgeführt wird. In einer breitangelegten Biokompatibilitätsstudie wurden geeignete Werkstoffe für die Fertigung des Sensors identifiziert.

Es wurden diverse Prototypen des Rückstreusensors bei der Entwicklung zweier Zellkulturprozesse getestet, und der entwickelte Sensor ermöglichte es das Zellwachstum als *CPP* in zwei innovativen Zellkulturprozessen *inline* zu überwachen.

Bei dem ersten Prozess handelte es sich um einen Perfusionsprozess zur Produktion antimikrobieller Peptide (AMPs). Für die Produktion von AMPs sind neue Prozessstrategien notwendig, da sich die Produktion in mikrobiellen Produktionssystemen aufgrund der antimikrobiellen Wirkung dieser Stoffe oft schwierig gestaltet. Daher wurde in diesem Prozess mit einer stabilen Insektenzelllinie gearbeitet und die Sensorsignale zur Regelung der Zellkonzentration während der Produktionsphase genutzt.

Der zweite Prozess dient der transienten Expression von *virus-like-particles* (*VLP*s) des Gelbfiebervirus in HEK 293 T- Zellen mit dem Ziel die *VLPs* für die passive Immunisierung verwenden zu können. Das Biomassemonitoring ist bei diesem Prozess vor allem in Bezug auf die zeitliche Abstimmung der beiden Schlüsselereignisse, Transfektion und Ernte der *VLPs*, von entscheidender Bedeutung.

Methoden und Materialien

Zellkultur und Kultivierungsbedingungen

Alle Zelllinien wurden durch spezifische Analysen regelmäßig auf deren Identität und Freiheit von Mykoplasmen geprüft. Die Bestimmung der Zellkonzentrationen und Vitalität erfolgte für jeden Versuch mittels Durchflusszytometrie und Trypanblaufärbung.

Eine rekombinante *Sf*-9 Zelllinie (Sf-9 TriEx™, Merck, Darmstadt, Germany) wurde für die Stammhaltung im 100-mL-Schikanekolben in Sf-900™ II (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) Insektenzellkulturmedium kultiviert. Die Zellen wurden zweimal pro Woche passagiert. Die Passagen wurden mit einer Vitalität >90 % und einer Zelldichte von $0{,}5*10^6$ Z mL^{-1} angeimpft und im Brutschrank

bei 28 °C und 80 rpm kultiviert. Die Kryokonservierung erfolgte nach SOP der Zellbank.

Die an Suspensionskultivierung adaptiere HEK 293T SF Zelllinie (DSMZ no.: ACC 635) wurde in 100-mL-Schikanekolben mit BalanCD® oder FreeStyle™ 293 Medium (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) kultiviert. Die Animpfkonzentration betrug 0,3 - 0,5*10^6 Z mL^{-1} bei einer Vitalität > 90 %. Die Kultivierung erfolgte bei 37 °C, 8 % (v/v) CO_2 und 100 rpm.

Korrelation und Modellierung

Auf Basis einfacher Schüttelkolbenkulturen wurden Modelllösungen mit definierten Zellkonzentrationen der Zelllinien *Sf*-9 und HEK 293T SF als biologisches Triplikat mit den Sensoren vermessen. Im Schüttelkolben durch Stofftransportlimitierungen unerreichbar hohe Zellkonzentrationen wurden durch Aufkonzentrierung mittels Zentrifugation erzielt. Die Aufnahme des Messignals erfolgte durch Eintauchen der Sensorprototypen in die Zellsuspension. Ausgehend vom ersten Ansatz wurden Verdünnungsreihen angefertigt und analog vermessen (**Abbildung 1**). Referenzwerte zu jedem Verdünnungsschritt wurden durch Zellzählung mittels Durchflusszytometrie, Trypanblaufärbung, sowie mit einer etablierten Trübungssonde nach dem Absorptionsprinzip aufgenommen. Die Modellierung der Korrelationsfunktionen erfolgte durch eine lineare oder quadratische Regression der partiellen kleinsten Quadrate (PLS).

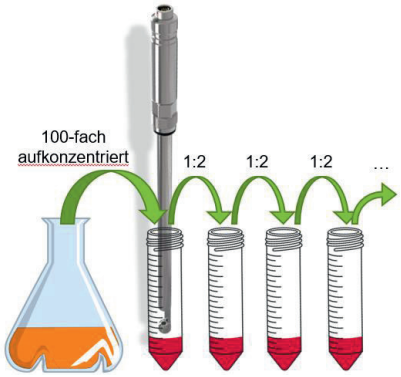


Abbildung 1: Schema der Verdünnungsreihe nach Aufkonzentrierung von Suspensionszellen aus Schüttelkolbenkulturen zur Aufnahme von Korrelationsfunktionen der Trübungssonden

Es wurden Trübungssonden eingesetzt die im Nahinfrarotbereich (850 nm) Licht emittieren und Streu- sowie Transmissionslicht detektieren. Die turbidimetrischen Sonden (Durchlichtsonden) detektieren die Abschwächung des eingestrahlten Lichts über eine festgelegte Distanz im Medium zwischen Detektor und LED. Demgegenüber wird von Rückstreusonden Streulicht detektiert, das in einem definierten Winkel auf die Photodioden des Detektors trifft. Einsatzgebiete und Unterschiede der Sondentypen sind in der Literatur umfassend beschrieben [1–4]. Eine Abbildung der verwendeten Multi-Use Sonden und Prototypen von Exner Process Equipment GmbH ist in **Abbildung 2** dargestellt.

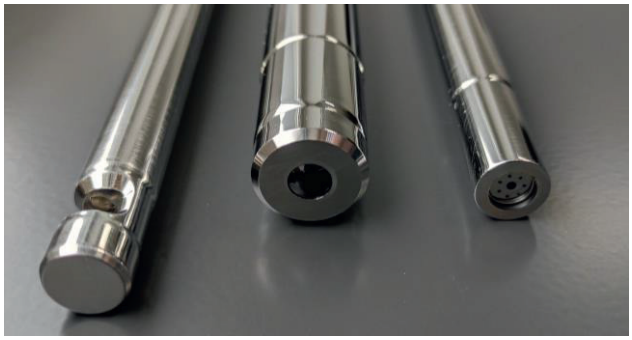


Abbildung 2: Eingesetzte Multiple-Use-Sonden aus Edelstahl für Korrelationsversuche und Bioreaktorkultivierungen, (links): Durchlichtsonde 2 mit 5 mm optischer Pfadlänge (OPL), (mittig): Rückstreusonde 1, (rechts): Rückstreusonde 3

Toxizitätsstudien und Materialauswahl

Potenzielle Kunststoffe für die Fertigung der Single-Use-Sonden wurden verschiedenen Zytotoxizitätsuntersuchen nach USP <87> und ISO 10993 unterzogen. Bei diesen wurden die Zelllinien L929 (DSMZ no.: ACC 2), die rekombinante *Sf*-9 Zelllinie, sowie adhärente HEK 293T Zellen verwendet. Eine Extraktion potenzieller *Extractables* und *Leachables* fand zellfrei unter Kultivierungsbedingungen für die verwendeten Zellkulturmedien RPMI 1640 10 % (v/v) FKS + 2 mM L-Gln, Sf-900™ II und DMEM 5 % (v/v) FKS + 4 mM L-Gln in Anlehnung an ISO 10993-12 statt. Als Kontrollen für zytotoxische Einflüsse wurden 6-1,5 % (v/v) DMSO-Ansätze verwendet. Qualitative Untersuchungen der Zellmorphologien unter Extrakteinfluss der Kunststoffproben wurden mittels Cytation™ 3 Digitalmikroskop (BioTek Instruments) durchgeführt. Nach ISO 10993-5 [5] und USP <87> [6] wurde der zytotoxische Einfluss klassifiziert. Wachstumskinetiken der drei Zelllinien über typische Kultivierungszeiten von 5 bis 7 Tagen unter Extrakteinfluss dienten der Beurteilung einer Wachstumshemmung. Mittels Durchflusszytometrie und Trypanblaufärbung wurden täglich Zellkonzentrationen sowie Vitalitäten bestimmt und die Glukose-, sowie Laktatkonzentration mittels BioSen C Line GP+ (EKF Diagnostics) detektiert. Eine weitere Untersuchung stellte nach

ISO 10993-5 Annex C ein MTT-Assay mit den Zelllinien L-929 und HEK293T dar. Die Messung der Absorptionen und Berechnungen der relativen metabolischen Aktivität und Vitalität erfolgte im Plattenleser (BioTek Instruments).

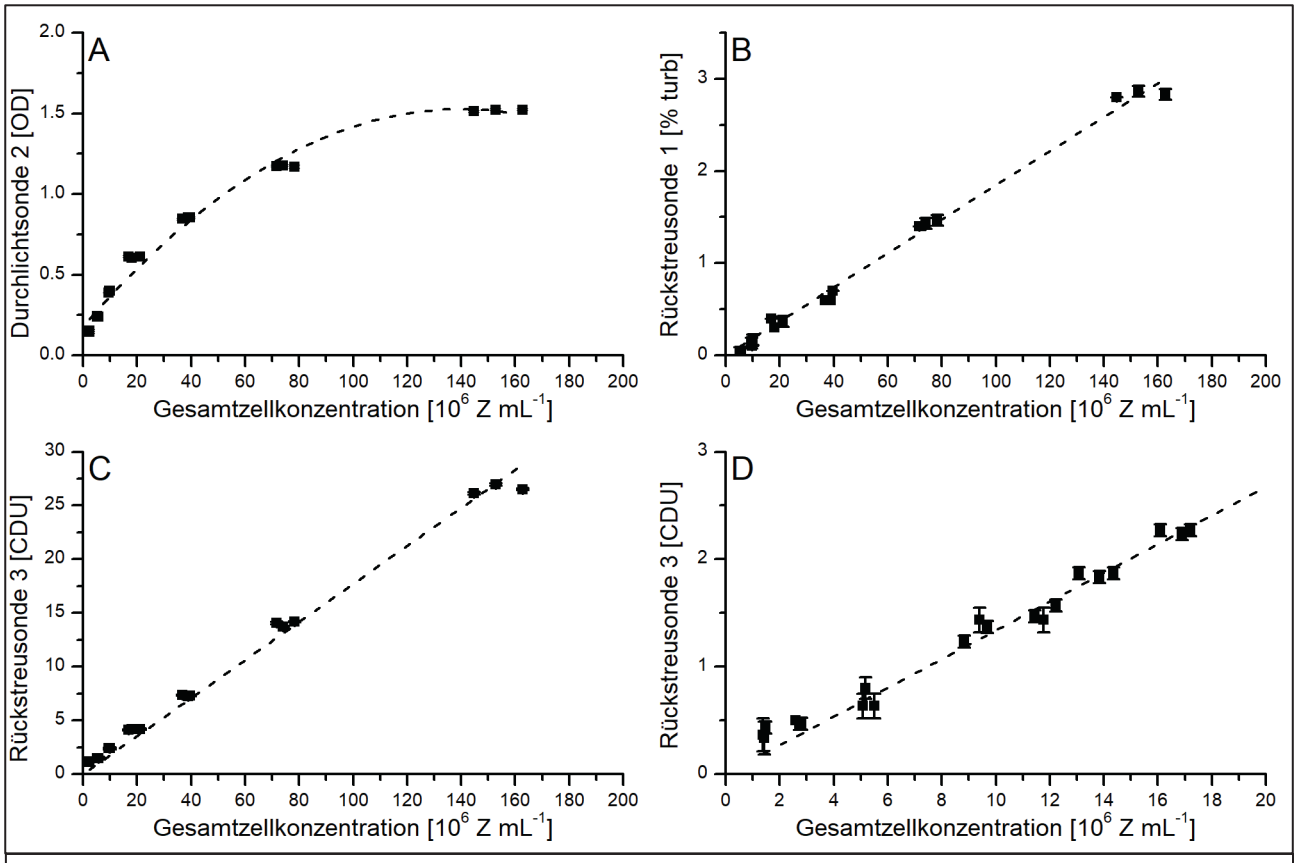
Kultivierungen im Bioreaktor

Die Kultivierungen der *Sf*-9 Zelllinie erfolgten im 5 L Sartorius Bioreaktor. Der Rührkessel wurde mit einem Schrägblattrührer (3 x 45°, d= 74 mm, n= 100 rpm), einer PT100 Temperatursonde, einer pH-Sonde, einer optischen Sauerstoffsonde, zweier OD-Sonden, sowie einer Impedanzsonde mit Pre-Amplifier ausgestattet. Die Baulänge der Sonden betrug 325 mm. Die Vorbereitung und Durchführung der Kultivierung erfolgte analog zu Harnischfeger et al. [7].

Die HEK Zelllinie wurde in einem Bioreaktor mit 5 L Arbeitsvolumen kultiviert. In einer Vergleichskultivierung wurde die Rückstreusonde 3 und die Durchlichtsonde 2 im Prozessleitsystem je eines Kessels eingebunden.

Ergebnisse und Diskussion

In **Abbildung 3** sind die Korrelationsdaten mit zugehörigen Korrelationsfunktionen der getesteten Sonden mit der rekombinanten *Sf*-9 Zelllinie dargestellt. Erwartungsgemäß zeigt sich eine lineare Korrelation für die Rückstreusonden 1 und 3 (B,C und D). Die Daten der Durchlichtsonde (A) weisen einen typischen asymptotischen Verlauf im oberen Konzentrationsbereich auf, während unter 20*10^6 Z mL^{-1} ein empfindlicher, linearer Zusammenhang

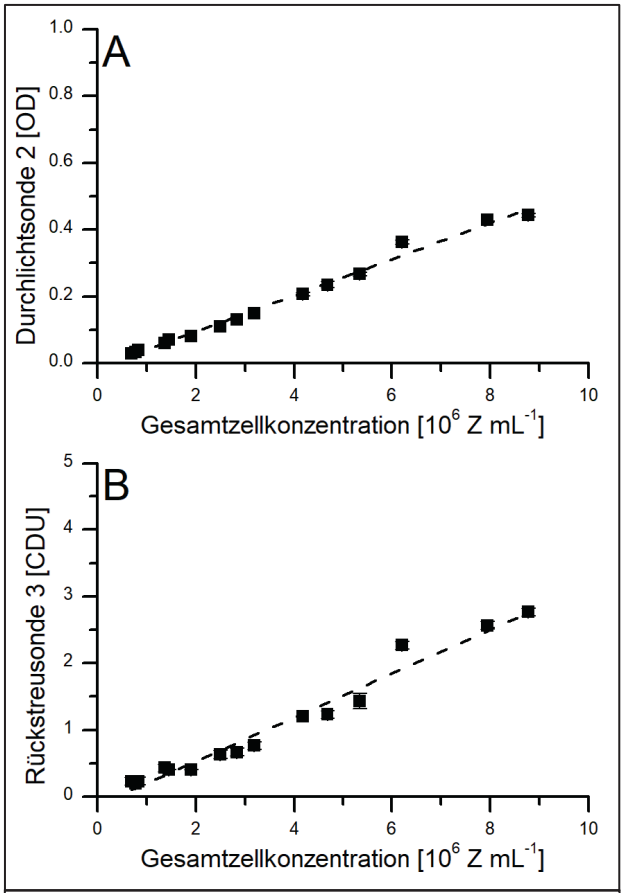


Typ	Korrelationsfunktion	R^2 [%]
A	$\mathbf{OD_A = -6,9 * 10^{-5} * c_G{}^2 + 1,9 * 10^{-2} * c_G + 0,18}$	98,2
B	$\mathbf{CDU_B = 1,88 * 10^{-2} * c_G - 0,04}$	99,4
C	$\mathbf{CDU_C = 1,69 * 10^{-1} * c_G + 0,85}$	99,6
D	$\mathbf{CDU_D = 1,23 * 10^{-1} * c_G - 0,14}$	98,2

Abbildung 3: Korrelationsfunktionen unterschiedlicher Sensortypen und Messprinzipien für *Sf*-9 Zellen, Messignal [OD, %turb, CDU] in Abhängigkeit der Gesamtzellkonzentration [10^6 Z mL^{-1}], Zellvitalität > 90 % (A): Durchlichtsonde 2 (5 mm OPL), (B): Rückstreusonde 1, (C): Rückstreusonde 3, (D): Rückstreusonde 3 während Messung im unteren Messbereich, [CDU] als *Customer defined unit* (Einheit der Rückstreutechnik abweichend von Norm ISO 7027)

besteht. Streu- und Verdeckungseffekte von hochkonzentrierten Partikeln erklären den asymptotischen Verlauf. Eine Anpassung der optischen Pfadlänge würde den linearen Messbereich verschieben [8, 9]. In Zellkulturprozessen sind jedoch Konzentrationen ab etwa 50*10^6 Z mL^{-1} meist nur durch Zellrückhalt und Perfusion möglich. Eine hohe Auflösung im unteren Messbereich ist daher für die weniger aufwendigen Prozessmodi wie Batch und Fed-Batch ausreichend. Im Gegensatz zur Rückstreusonde 1 (B, Daten nicht gezeigt) wies Rückstreusonde 3 (D) auch im unteren Messbereich eine hohe Empfindlichkeit und Auflösung auf, die für eine Prozessintensivierung von Batch zu Perfusion erforderlich sind.

Analog zur *Sf*-9 Insektenzelllinie wurden Verdünnungsreihe mit HEK293T SF Zellen vermessen (**Abbildung 4**). HEK293T SF Zellen erreichten im Schüttelkolben geringere Zellkonzentrationen als Insektenzellen und mussten stärker aufkonzentriert werden. Die erwarteten Konzentrationen im Batch-Bioreaktor werden in der Literatur ebenfalls geringer angegeben: 3,5 – 7*10^6 Z mL^{-1} für HEK [10, 11] und 7 – 16 Z mL^{-1} für *Sf*-9 [12, 13]. Sowohl die Durchlichtsonde 2 als auch die Rückstreusonde 3 wiesen im relevanten Konzentrationsbereich eine lineare Korrelation auf. Die Sonden konnten nach diesen Vorversuchen beide im realen Prozess getestet werden.



Typ	Korrelationsfunktion	R^2
A	$OD_A = 5{,}44 * 10^{-2} * \boldsymbol{c_G} - 0{,}014$	**98,9**
B	$CDU_B = 3{,}3 * 10^{-1} * \boldsymbol{c_G} - 0{,}012$	**96,9**

Abbildung 4: Korrelationsfunktionen für HEK293T SF Zellen, Messignal [OD, %turb, CDU] in Abhängigkeit der Gesamtzellkonzentration [Z/mL], Zellviabilität > 90 % (A): Durchlichtsonde 2, (B): Rückstreusonde 3

Toxizitätsstudien

In Zytotoxizitätsstudien wurden unterschiedliche Polymere von mehreren Herstellern für die Fertigung der Single-Use Sonde getestet. In **Abbildung 5** sind die Ergebnisse des MTT-Assays nach ISO 10993-5 Annex C dargestellt. Ein schädlicher Einfluss der Polymere würde die metabolische Aktivität der Zellen beeinflussen, wodurch sich eine geringe

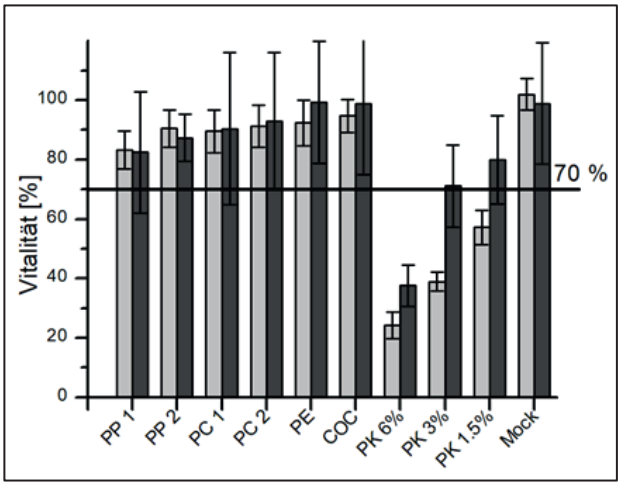


Abbildung 5: Vitalität der Zelllinien L929 (n = 5) (Hellgrau) und HEK293T (n = 10) (Dunkelgrau) bestimmt durch MTT-Assay für unterschiedliche Polymere mit Positivkontrolle DMSO (PK) und Mockkontrolle als frisches Medium

Vitalität im Assay ergibt. Eine Vitalität unter 70 % ist ein Indikator für zytotoxische Einflüsse, erkennbar an der Positivkontrolle mit DMSO 6 % (**Abbildung 5**).

Bei diesen Testungen wurde deutlich, dass Kunststoffe wie Polyethylen (PE), die nach USP Klasse VI Zertifizierung als biokompatibel eingestuft werden, unterschiedlich starke Einflüsse auf das Wachstum und den Metabolismus verschiedener Zelllinien zeigten. Des Weiteren erwiesen sich gleichartige Kunststoffe verschiedener Hersteller ebenfalls als unterschiedlich biokompatibel. Aus

diesen Gründen ist für die Sicherheit und Produktqualität eine Testung potenziell vorgesehener Kunststoffe mit unterschiedlichen Zelllinien nötig. Eine Reduktion der Unsicherheit kann durch mindestens zwei orthogonale Testmethoden erfolgen. Anhand der zuvor beschriebenen Testmethoden konnten erfolgreich Polymere für die Fertigung unterschiedlicher Bauteile eingegrenzt werden.

Bioreaktorkultivierung

Kultivierungen im Bioreaktor dienten der Charakterisierung und dem Verständnisgewinn der beiden Prozesse. Das Monitoring der Zellkonzentration als *CPP* ist neben den etablierten *inline*-Parametern wie pH und O_2 unerlässlich für das Prozessverständnis. Die zuvor aufgenommenen Korrelationsdaten wurden nach Einbindung der Sonden im realen Prozess überprüft, um den Einfluss weiterer Störgrößen zu beobachten. Im ersten Prozess wurde die Insektenzelllinie im Satzbetrieb zur Produktion von antimikrobiellen Peptiden kultiviert. **Abbildung 6** zeigt die Daten der Satzkultivierung.

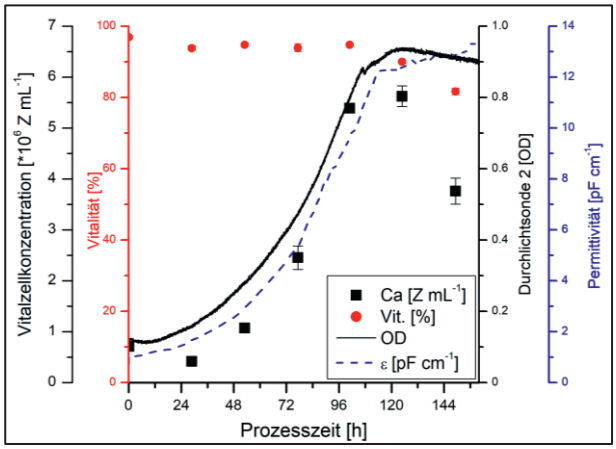


Abbildung 6: Batch-Kultivierung *Sf*-9, (schwarze Rechtecke): Offline-Zellkonzentration [Z mL^{-1}], (schwarze Linie): Trübung der Durchlichtsonde 2 [OD], (blaue Linie): Online-Permittivität [pF cm^{-1}] und (Rot): Vitalität [%] während der Kultivierung über der Prozesszeit [h]

Sowohl das Trübungssignal als auch die Daten der Permittivitätsmessung folgen den Offline-Referenzwerten der Zellzählung und spiegeln das Wachstum der Zellen wider. Ab Tag 5 trennten sich die Signale der Trübung und Permittivität. Dies ist mit dem Übergang der Zellen in die stationäre Wachstumsphase zu erklären. Das Anschwellen von Insektenzellen am Ende einer Satzkultivierung führt zu einer Erhöhung des Zellvolumens, welches gut mit der gemessenen Permittivität korreliert. Demgegenüber wird die Trübung durch die Gesamtzellkonzentration bestimmt, die während des Übergangs zur stationären Wachstumsphase konstant bleibt und in der nachfolgenden Absterbephase durch Zelllyse sinkt. Die in der ersten Kultivierung eingesetzte Durchlichtsonde bestätigt die in den Korrelationsversuchen ermittelte Empfindlichkeit im relevanten Konzentrationsbereich von 0,5 bis 7*10^6 Z mL^{-1}. Die Verwendung von Nahinfrarot-Trübungssonden (NIR) wird in der Literatur für unterschiedliche Zellkulturprozesse einschließlich Insektenzellkultur beschrieben [1, 8, 14]. Die Begasung durch den verwendeten Ringsparger zeigte keinen erheblichen Einfluss auf die Stabilität des Messsignals. Im Gegensatz zur dielektrischen Spektroskopie kann die Trübungsmessung durch jegliche Partikel und dispergierte Blasen aufgrund von Streueffekten beeinflusst werden [9, 15]. Eine geeignete Dämpfung des Messwertes wurde durch die Bildung des gleitenden Durchschnitts (n=5) mit dynamischem Fenster durchgeführt. Des Weiteren kann Rauschen, das z.B. durch die Interaktion einer Gasblase am Messfenster durch digitale Unterdrückung herausgefiltert werden. Sowohl die Parameter der Dämpfung als auch der Rauschunterdrückung sind abhängig von dem eingesetzten Kultivierungssystem und vorhandenen Störgrößen und erfordern eine Parametrierung unter realen Prozessbedingungen. So bedarf der Einsatz der Trübungssonden in mikrobiellen Fermentationen aufgrund der hohen Anzahl kleiner dispergierter Blasen eine erheblich höhere Glättung des Messwertes, die wiederum zu Verzögerungen im Ansprechverhalten führt. (Daten nicht gezeigt)

In einer Kultivierung von HEK-Zellen wurde ein Prototyp der Rückstreusonde 3 mit erhöhter Auflösung im unteren Konzentrationsbereich erfolgreich eingesetzt. In **Abbildung 7** sind die Kultivierungsdaten einer HEK-Zelllinie dargestellt.

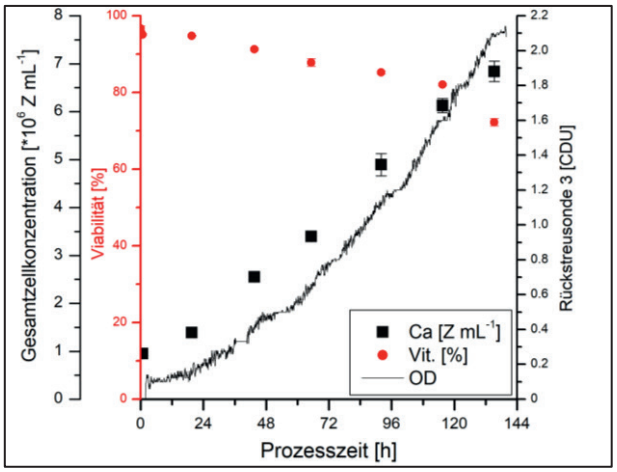


Abbildung 7: Fed-Batch-Kultivierung von HEK-Zellen in 5 L Kulturmedium, (Schwarz): Offline-Zellkonzentration [Z mL^{-1}], (Rot): Vitalität [%], (schwarze Linie): Trübung der Rückstreusonde 3 [CDU] während der Kultivierung über der Prozesszeit [h].

Im untersuchten Konzentrationsbereich wiesen die Trübungsdaten ein Rauschen auf. Das Trübungssignal wurde daher im Anschluss an die Kultivierung mittels eines gleitenden Durchschnitts (n=10) geglättet. Zur Implementierung der Sonde für die zeitliche Abstimmung von Schlüsselereignissen wie Transfektion und Ernte werden derzeit weitere Reaktorkultivierungen durchgeführt. Mittels kombinierter *PAT*-Technologie wie dielektrischer Spektroskopie und Turbidimetrie wird in etablierten Kultivierungssystemen Prozessverständnis generiert, das den Transfer des Prozesses in *Single-use* Systeme ermöglicht.

Literatur

1. Käßer L, Zitzmann J, Grein T, Weidner T, Salzig D, Czermak P. Turbidimetry and Dielectric Spectroscopy as Process Analytical Technologies for Mammalian and Insect Cell Cultures. In: GmbH T, editor. Balearen. 2014th ed. Bielefeld: Delius Klasing; 2015. p. 335–364. doi:10.1007/978-1-0716-0191-4_20.
2. Wu P, Ozturk SS, Blackie JD, Thrift JC, Figueroa C, Naveh D. Evaluation and applications of optical cell density probes in mammalian cell bioreactors. Biotechnology and Bioengineering. 1995;45:495–502. doi:10.1002/bit.260450606.
3. Junker BH, Reddy J, Gbewonyo K, Greasham R. On-line and in-situ monitoring technology for cell density measurement in microbial and animal cell cultures. Bioprocess and Biosystems Engineering. 1994;10:195–207. doi:10.1007/BF00369530.
4. Konstantinov K, Chuppa S, Sajan E, Tsai Y, Yoon S, Golini F. Real-time biomass-concentration monitoring in animal-cell cultures. Trends in Biotechnology. 1994;12:324–33. doi:10.1016/0167-7799(94)90049-3.
5. International Organization for Standardization. DIN EN ISO 10993-5: 2009-06-01 Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity.
6. The United States Pharmacopeial Convention. <87> Biological Reactivity Tests, In Vitro.
7. Harnischfeger J, Käßer L, Zitzmann J, Salzig D, Czermak P. Bioreactor-Based Antigen Production Process Using the Baculovirus Expression Vector System. In: Pfeifer BA, Hill A, editors. Vaccine Delivery Technology: Methods and Protocols. 1st ed. New York, NY: Springer US; Imprint Humana; 2021. p. 95–118. doi:10.1007/978-1-0716-0795-4_8.
8. Cervera AE, Petersen N, Lantz AE, Larsen A, Gernaey KV. Application of near-infrared spectroscopy for monitoring and control of cell culture and fermentation. Biotechnology Progress. 2009;25:1561–81. doi:10.1002/btpr.280.
9. Biechele P, Busse C, Solle D, Scheper T, Reardon K. Sensor systems for bioprocess monitoring. Eng. Life Sci. 2015;15:469–88. doi:10.1002/elsc.201500014.
10. Liste-Calleja L, Lecina M, Cairó JJ. HEK293 cell culture media study: increasing cell density for different bioprocess applications. BMC Proc 2013. doi:10.1186/1753-6561-7-S6-P51.
11. Liste-Calleja L, López-Repullo J, Lecina M, Cairó JJ. Preliminary studies of cell culture strategies for bioprocess development based on HEK293 cells. BMC Proc 2013. doi:10.1186/1753-6561-7-S6-P52.
12. Cao W, Cao H, Yi X, Zhuang Y. Development of a simple and high-yielding fed-batch process for the production of porcine circovirus type 2 virus-like particle subunit vaccine. AMB Expr. 2019;9:164. doi:10.1186/s13568-019-0880-8.
13. Gorenflo VM, Pfeifer TA, Lesnicki G, Kwan EM, Grigliatti TA, Kilburn DG, Piret JM. Production of a self-activating CBM-factor X fusion protein in a stable transformed Sf9 insect cell line using high cell density perfusion culture. Cytotechnology. 2004;44:93–102. doi:10.1007/s10616-005-0703-4.
14. Qiu J, Arnold MA, Murhammer DW. On-line near infrared bioreactor monitoring of cell density and concentrations of glucose and lactate during insect cell cultivation. Journal of Biotechnology. 2014;173:106–11. doi:10.1016/j.jbiotec.2014.01.009.
15. Zitzmann J, Weidner T, Eichner G, Salzig D, Czermak P. Dielectric Spectroscopy and Optical Density Measurement for the Online Monitoring and Control of Recombinant Protein Production in Stably Transformed Drosophila melanogaster S2 Cells. Sensors. 2018;18:900. doi:10.3390/s18030900.

Danksagung

Wir danken Ralf Amann (Department of Immunology, University of Tuebingen, Tuebingen, Germany + PRiME Vector Technologies, Tuebingen, Germany) und Felix Pagallies (Department of Immunology, University of Tuebingen, Tuebingen, Germany) für die Bereitstellung der Zelllinie und Michael W Wolff (Institut für Bioverfahrenstechnik und Pharmazeutische Technologie & Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie IME, Gießen, Deutschland) für die Supervision der HEK-Kultivierung.

DOI 10.5162/15dss2021/P2.4

RuO_2-basierte pH-Sensoren zur kontinuierlichen Überwachung chemischer Bäder

F. Bauer[1], D. Wett[2], C. Boinski[2], Y. Joseph[1], F. Güth[1]
[1]Institut für Elektronik- und Sensormaterialien, TU Bergakademie Freiberg
[2]Institut für Korrosionsschutz Dresden GmbH, Dresden
Kontakt: Felix.Bauer@esm.tu-freiberg.de

Einleitung

In verschiedenen Bereichen der Industrie ist es wichtig, dass die Oberflächen zu verarbeitender Werk- und Rohstoffe von unerwünschten Partikeln gereinigt bzw. für folgende Prozesse vorbehandelt werden. Dies findet unter anderem mithilfe chemischer Bäder statt, in denen die Bauteile unter bestimmten Bedingungen, wie Temperatur, pH-Wert oder Stoffkonzentration reagierender Ionen, behandelt werden. Dabei ist es von großer Bedeutung, dass diese Badparameter exakt eingestellt und frei von Verunreinigungen sind, da sonst Gefahr besteht, dass die gewünschten Eigenschaften der Werkstücke verfälscht werden. Daher ist eine kontinuierliche Überwachung der entscheidenden Badparameter mittels spezieller Sensoren für eine erfolgreiche Behandlung essenziell. Die hierbei erwähnten Prozesse werden nicht selten in erhöhten Temperatur- bzw. extremen pH-Wertbereichen durchgeführt. Die Sensoren müssen aus diesem Grund eine gute thermische sowie chemische Beständigkeit aufweisen, um auch über längere Zeiträume zuverlässig genutzt werden zu können.
Aktuelle kommerzielle Lösungen bieten zwar ein reiches Spektrum an messbaren Parametern und zeigen auch die nötige Stabilität gegenüber den verwendeten Chemikalien, jedoch werden diese meist preisintensiv angeboten und sind daher für kleinere und mittelständige Unternehmen nicht erschwinglich. Aus diesem Grund wird meist auf Alternativkonzepte für die Prozesskontrolle zurückgegriffen, die aus einer Kombination aus Erfahrungswerten zu den „Lebensdauern“ der chemischen Bäder und vereinzelten Messungen bestehen. Bei diesen Methoden besteht aber ein erhöhtes Fehlerrisiko, wodurch wirtschaftliche Schäden der Unternehmen durch verunreinigte Bäder und somit falsch behandelte Werkstücke entstehen können. Um dieses Problem zu minimieren, besteht eine erhöhte Nachfrage nach kostengünstigen und robusten Sensoren, die eine solche Prozessführung unterstützen können.

Eine wichtige Kenngröße bei der Badüberwachung ist der pH-Wert. Dieser kann im einfachsten Fall kolorimetrisch festgestellt werden. Um aber eine genauere, quantitative Aussage zu treffen, werden heutzutage meist pH-Elektroden verwendet. Diese bestehen aus einer Referenzelektrode, die ein konstantes, von der Messlösung unabhängiges elektrisches Potential besitzt und der Indikatorelektrode, deren elektrisches Potential von dem pH-Wert der Messlösung abhängt. Aus der so entstehenden Potentialdifferenz kann der pH-Wert bestimmt werden.
Aus den verschiedenen Materialien, die einen solchen pH-sensitiven Charakter aufweisen, stechen einige Vertreter der Metalloxide hervor. Diese besitzen eine vergleichsweise hohe Robustheit auch unter schwierigen Einsatzbedingungen, wie erhöhter Temperatur oder in aggressiven Chemikalien. Sensoren auf Basis dieser Materialien können zudem in einem sehr einfachen Schichtstapel aufgebaut werden, der mittels konventioneller Dünnschichtprozesse hergestellt werden kann. Dies ermöglicht eine Miniaturisierung und Kostenreduktion gegenüber den kommerziellen Lösungen, die in der Regel aus Glaselektroden bestehen. Um zu verstehen, welche Mechanismen dafür sorgen, dass Metalloxide ein pH-sensitives Verhalten zeigen, muss man die Prozesse an deren Oberfläche näher betrachten. Diese sind in Abb.1 dargestellt. Befindet sich das Metalloxid im Analyt, so lagern sich aus der wässrigen Lösung durch Chemisorption Wassermoleküle an der Oberfläche an. Die so gebildeten Hydroxidgruppen interagieren mit den im Analyten befindlichen Protonen bzw. Hydronium-Ionen. Diese bewegen sich dann über den „Grotthuss-Mechanismus“, der auch als „Protonenhüpfen“ bezeichnet wird, entlang der Oberfläche und verteilen sich. Die Menge, der sich so anlagernden Protonen, ist abhängig von der Konzentration der Hydronium-Ionen innerhalb der Flüssigkeit, welche durch den pH-Wert definiert ist. Durch die Anhäufung positiver Ladungsträger an der Oberfläche des Metalloxids lädt sich diese positiv elektrisch auf. Diese Potentialänderung kann detektiert werden. So wird der pH-Wert des Analyten über das elektrische Potential des Metalloxids bestimmt. Wendet man an den stattfindenden Reaktionen die

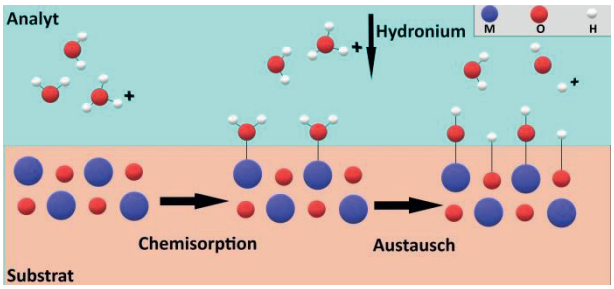


Abbildung 1: Mechanismus pH-sensitiver Metalloxide

Nernst-Gleichung an, so kommt man auf eine theoretische maximale Sensitivität von ca. 59 mV/pH bei 20 °C [1]. Unter den Metalloxiden gehört RuO_2 zu den vielversprechendsten Materialien, die als pH-sensitive Komponente genutzt werden können. Dies zeigt sich anhand einer sehr guten chemischen Beständigkeit und dem quasi-Nernst'schen Verhalten in pH-Bereichen zwischen pH2 und pH12, was in mehreren Arbeiten nachgewiesen werden konnte [2, 3].
Aber nicht nur Protonen beeinflussen das Oberflächenpotential der RuO_2-Schicht, sondern auch redox-aktive Substanzen, die sich innerhalb der Messlösung befinden. Diese können sich ebenfalls an der Oberfläche anlagern und somit die Messung verfälschen. Um diese Querempfindlichkeiten zu minimieren, kann auf die pH-sensitiven Komponente noch eine zusätzliche Schicht abgeschieden werden. Diese dient als Protonenleiter, also als eine Art Filter, der vorrangig Protonen durchdiffundieren lässt und somit den Sensor selektiver macht. In diesem Fall wird dafür Ta_2O_5 verwendet. [4]

Methoden und Materialien

Wie bereits erwähnt, eignen sich zur Herstellung von Metalloxid-basierten Sensoren Dünnschichtprozesse, welche im Reinraum durchgeführt werden. Als Substrat werden hierfür 6'-Wafer aus n-dotierten Silizium verwendet. Da die spätere Kontaktierung

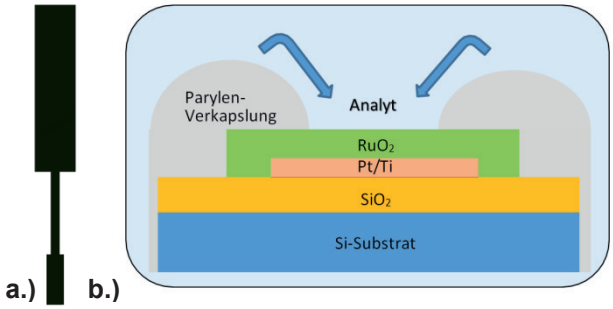


Abbildung 2: a.) Form und b.) Querschnittsschema der pH-Indikatorelektrode

vorderseitig stattfindet und somit das Silizium explizit nur als Unterlage dient, wird dieses nach einer ersten Reinigung durch Trockenoxidation mit einer 50 nm dicken SiO_2-Schicht elektrisch isoliert. Für die Herstellung der Elektroden wird zuerst Fotolack aufgebracht und strukturiert. Da anfangs noch verschiedene Elektrodengeometrien getestet werden, findet die Strukturierung mittels Laserlithografie statt. Nach der Lackentwicklung werden zuerst 5 nm Titan, welches als Haftvermittler dient und danach 50 nm Platin aufgedampft. Anschließend wird der restliche Lack entfernt und somit die Elektrode (s. Abbildung 2a), durch das sogenannte Lift-Off-Verfahren, strukturiert. Dabei bildet die große Fläche (10 x 2,4 mm) die sensitive Komponente auf der das RuO_2 abgeschieden wird. Die unter Fläche dient als Kontakt für die Messelektronik. Nun wird erneut der Lift-Off-Prozess für die sensitive Schicht durchgeführt. Das RuO_2 bzw. der RuO_2/Ta_2O_5-Stapel wird dabei mittels RF-Sputterns auf die Proben gebracht. Die Abscheidung findet unter Argon-Atmosphäre bei $5*10^{-3}$ mbar und einer Probenrotation von 5 rpm statt. Es werden dabei rund 100 nm dicke Schicht erzeugt. Diese gehen leicht über die Elektrodenränder hinaus, damit auch die Flanken beschichtet werden und kein blankes Platin später Kontakt zu den Analyten hat. Einige Proben werden im Anschluss unter Stickstoff- bzw. Sauerstoffatmosphäre bei 150 – 400 °C bis zu 90 min getempert. Abschließend werden die Sensoren (Querschnitt s. Abb. 2b) mit Ausnahme der sensorischen Komponente verkapselt, um das Silizium-Substrat und andere freistehende Komponenten nicht in direkten Kontakt mit den Chemiebädern kommen zu lassen. Die fertigen Sensoren werden schließlich mit Steckern versehen, um den Anschluss an die Messelektronik zu ermöglichen (s. Abb. 3).

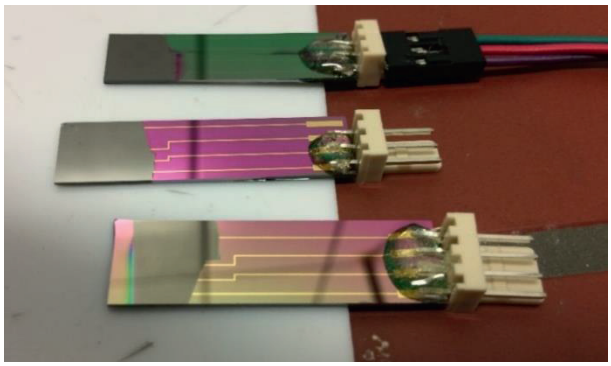


Abbildung 3: Kontaktierte Ti-Elektroden mit RuO_2 bzw. RuO_2/Ta_2O_5-Schichten

Um die optimalen Abscheide- und Nachbehandlungsparameter zu finden, werden die unterschiedlich prozessierten RuO_2-Schichten vielfältig charakterisiert. Um die Schichtdicken zu bestimmen, kann leider nicht auf optische Methoden, wie die Ellipsometrie, zurückgegriffen werden, weil RuO_2 eine gute elektrische Leitfähigkeit besitzt und daher eine zu große Absorption im genutzten Spektralbereich besitzt. Als alternatives Verfahren werden Querschnitte im Rasterelektronenmikroskop (REM) aufgenommen und ausgemessen. Dafür werden die Proben mit einem Diamantritzer angeritzt und in flüssigen Stickstoff getaucht. Die erhöhte Sprödigkeit erzeugt beim anschließenden Brechen definierte Kanten, wodurch die einzelnen Schichten besser zu erkennen sind. Zusätzlich wird eine Elementanalyse mittels EDX an den Bruchflächen durchgeführt, um die Schichten besser voneinander unterscheiden zu können. Durch licht- und elektronenmikroskopische Aufnahmen können die Oberflächen zudem auf Defekte untersucht werden.

Eine weitere wichtige Eigenschaft ist die Beständigkeit in verschiedenen flüssigen Medien. Für diese Versuche werden Proben (ca. 1x1 cm^2) in Kunststoffdosen gegeben und mit verschiedenen Säuren, Laugen und anderen Chemikalien, die in der Industrie Anwendung finden, gegeben (Übersicht s. Ergebnisse) und für 7 Tage bei 50 – 80 °C in einem Trockenschrank gelagert. Anschließend werden diese auf Schäden und Defekte durch chemische Reaktionen mit den Reagenzien lichtmikroskopisch untersucht.

Für die Charakterisierung der sensorischen Eigenschaften werden die Proben (s. Abb. 3) mit einen Potentiostaten (*PalmSens 4, PalmSens)* und zugehöriger Software potentiometrisch ausgewertet. Die Messungen wurden mit der „Open Circuit" – Methode durchgeführt, dabei wird das Potential an der sensitiven Komponente mit der Analytflüssigkeit im Bezug zum Potential einer zusätzlich angeschlossenen Referenzelektrode gemessen ohne, dass dabei ein Strom fließt. Als Messlösungen werden Pufferlösungen mit pH-Werten zwischen pH2 und pH10 genutzt. Die verwendete Referenzelektrode besteht aus einem Ag/AgCl-Bezugssystem mit 3M KCl-Lösung als Referenzelektrolyt und einem Keramikdiaphragma. Für die ersten Tests werden die Sensoren mit DI-Wasser gereinigt und dann für 30 s in die jeweilige Lösung getaucht und das Potential gemessen. Anhand der Abhängigkeit der Potentiale zu den jeweiligen pH-Werten können Aussagen zur Sensitivität im Hinblick auf ein Nernst'sches Verhalten getroffen werden. Zudem können aus dem Zeitverhalten der Sensorsignale auch das Drift- und Hystereseverhalten ermittelt werden.

Ergebnisse

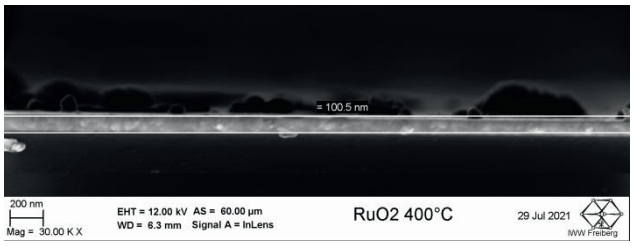


Abbildung 4: REM-Querschnittsaufnahme RuO_2 auf Si

In Abbildung 4 ist beispielhaft eine REM-Querschnittsaufnahme gezeigt. Es ist gut zu erkennen, dass die RuO_2-Schichten homogen abgeschieden wurden. Die Schichtdicken liegen zwischen 90 und 110 nm und entsprechen den erwarteten Dimensionen. Die darüber liegenden Ta_2O_5-Schichten sind mit 45 – 60 nm dünner als die angestrebten 70 nm, was vermutlich an einer verringerten Haftung auf dem RuO_2 im Vergleich zu dem bei der Bestimmung der Sputterrate genutzten Si-Substrat liegt. Für die ersten Aufnahmen wurden die Proben nicht in flüssigem Stickstoff gebrochen, sondern kaltein-

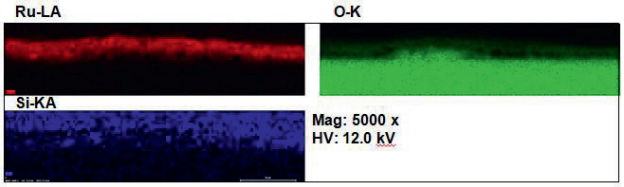


Abbildung 5: EDX-Analyse Querschnittsprobe RuO_2 auf Si

gebettete Querschliffe präpariert. Dabei platzen, wie in den energiedispersiven Röntgenspektroskopischen (EDX)-Aufnahmen in Abbildung 5 zu sehen, die abgeschiedenen Schichten ab und eine Schichtdickenbestimmung wird unmöglich. Trotzdem kann man in diesen Bildern gut erkennen, dass die Elemente Ruthenium und Sauerstoff in der Schicht vorhanden sind, was das Vorliegen einer Rutheniumoxidverbindung bestätigt. Was genau das stöchiometrische Verhältnis und die Oxidationszustände sind, wird zukünftig noch mittels Röntgenphotoelektronenspektroskopischer (XPS)-Messungen bestimmt. Diese Messungen werden für die weiteren Untersuchungen eine essentielle Rolle spielen, da in einem nächsten Schritt RuO_2-Proben unter Sauerstoff-Atmosphäre aufgesputtert und/oder getempert werden, um Rückschlüsse auf die Qualität der sensorischen Eigenschaften im Hinblick auf den Oxidationszustand des Rutheniums und die Stöchiometrie des Oxids zu ziehen Für Auslagerversuche wurden acht Chemikalien mit unterschiedlichen pH-Werten auf 80 °C temperiert, wovon es sich bei einer um einen kommerziell genutzten Kühlschmierstoff handelt. Die zu testenden Schichten aus RuO_2 und Ta_2O_5 bzw. Schichtstapel RuO_2/Ta_2O_5 wurden jeweils bei 150 °C für 90 min oder 400 °C für 60 min

Tabelle 1: Übersicht der Ergebnisse für Auslagerversuche

Chemikalie	pH-Wert	Beständigkeit (bei 150 °C/400 °C getempert)		
		RuO_2	Ta_2O_5	RuO_2/Ta_2O_5
Salzsäure	pH0	+/+	+/+	+/+
Phosphorsäure	pH0	+/+	+/+	+/+
Schwefelsäure	pH0	+/+	+/+	+/+
Salpetersäure	pH0	+/+	+/+	+/+
Oxalsäure	pH1	+/+	+/+	+/+
Methyldiethanolamin (MDEA)	pH11	+/+	-/-	-/-
Natronlauge	pH12	+/+	+/+	+/+
Kühlschmierstoff mit MDEA	-	+/-	+/-	+/-
„+" = beständig		„-" = löst sich auf		

getempert. Dabei wurde feststellt, wie in Tabelle 1 zu sehen, dass alle Proben im sauren pH-Bereich beständig sind. In MDEA haben sich nur die reinen RuO_2-Proben nicht aufgelöst. Dieses Verhalten wirft die Frage auf, wieso das RuO_2 im Schichtstapel mit Ta_2O_5 nicht auch beständig ist. Ein möglicher Grund könnte eine Reaktion der beiden Schichten beim Tempern sein, wodurch das RuO_2 anfälliger für ein basisches Milieu wird. In dem Kühlschmierstoff, wel-

cher ebenfalls das Amin MDEA beinhaltet aber in einer niedrigeren Konzentration als der Reinststoff, lösen sich nur die höher getemperten Proben aller drei Schichtstapel auf. Dies könnte damit zusammenhängen, dass die Schichten im Bereich um 400°C beginnen zu kristallisieren. Die in diesen polykristallinen Systemen gebildeten Korngrenzen sind Angriffszonen für die Ätzangriffe, wodurch die Schichten unbeständiger werden und aufgelöst werden. Der genaue Einfluss der Ausheiztemperatur und des Kristallisationsgrades auf die chemische Beständigkeit muss noch in weiteren Tests analysiert werden. Außerdem werden in den nächsten Schritten weitere Verkapselungsansätze evaluiert. Auch werden noch für spezielle Auslagerversuche Chemikalien und Prozessbäder von Industriepartnern getestet, um möglichst realistische Versuchsbedingungen zu erzeugen.

Wie beispielhaft in Abbildung 6 gezeigt, wurden die pH-abhängigen, potentiometrischen Messungen jeweils im neutralen Milieu gestartet und dann erst in den leicht sauren Bereich von pH4 und danach ins Basische von pH10 gewechselt. Dabei wurde zwischen jedem Schritt eine Zwischenmessung bei pH7 durchgeführt, um eventuelle Potentialverschiebungen, die durch Reaktionen der Pufferlösungen mit der sensitiven Schicht bzw. den nicht sensitiven Komponenten hervorgerufen werden, entdecken zu können. Abgeschlossen wurde jede Messreihe bei pH2. Aus den Daten geht hervor, dass das Sensorsignal im neutralen und sauren Milieu konstant ist. Zudem entspricht die Sensitivität in diesen Bereich mit 59 – 60 mV/pH einem Nernst'schen Verhalten und somit kann von einer optimalen Sensitivität des Sensors gesprochen werden. Bei den Messungen im basischen pH-Bereich driftet das Messsignal über mehrere Minuten. Zudem beeinflusst die Messung bei pH10 das Ansprechverhalten bei der anschließenden Messung im neutralen Milieu. Eine permanente Verschiebung des Potentials wird dadurch aber nicht erzeugt. Dieses Verhalten zeigt sich sowohl bei den sensitiven Schichten, welche nur aus RuO_2 bestehen, aber auch bei Schichtstapeln mit Ta_2O_5. Mögliche Gründe für das inkonstante Potential bei pH10 können chemische Reaktionen am RuO_2 bzw. Ta_2O_5 oder an den Elektroden sein, welche durch Angriff der basischen Lösung an Defekten in den Schichten ausgelöst werden. Um dies auszuschließen, können dickere Schichten abgeschieden oder aber durch veränderte Reinigungs- und Temperschritte der Schichten die Defektdichte verringert werden. Eine weitere Erklärung ist, dass das abgeschiedene RuO_2 nicht stöchiometrisch abgeschieden und zu wenig Sauerstoff eingebaut ist, wodurch in basischen Lösungen möglicherweise Austauschprozesse ablaufen, die das Potential beeinflussen. Um dies genauer zu untersuchen, sind, wie bereits erläutert, Prozessierungsschritte mit zusätzlichem Sauerstoff und XPS-Analysen geplant. Durch diese Methoden soll schließlich ein konstantes Sensorsignal in allen relevanten pH-Wertbereichen erzielt werden.

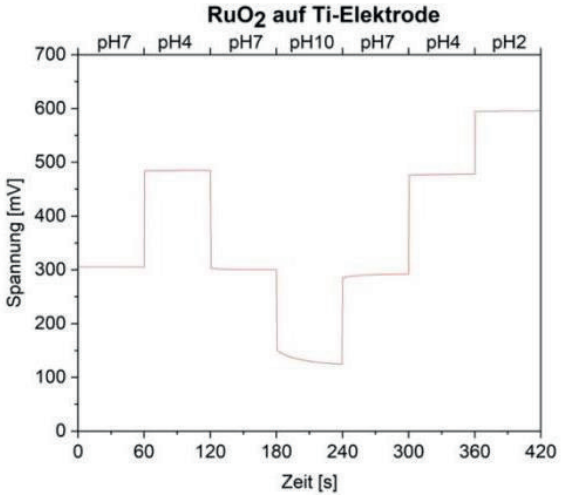


Abbildung 6: pH-abhängige Potentialkurve von RuO_2 auf Ti-Elektroden

Diskussion

Die hier präsentierten Ergebnisse zeigen, dass RuO_2 sich aufgrund seiner guten chemischen Beständigkeit für den Einsatz als pH-sensitive Elektrode in Bädern zur Reinigung und Vorbehandlung von Werkstücken eignet. Zudem sind die konventionellen Abscheide- und Nachbehandlungsprozesse gut auf dieses Material anwendbar, wodurch eine zügige Herstellung möglich wird. Durch Variation der Prozessparameter sind die Schichteigenschaften beeinflussbar, was einen großen Raum für Optimierungsmöglichkeiten gibt. Auch zeigen die ersten elektrochemischen Ergebnisse, dass RuO_2 gute sensorische Eigenschaften in der pH-Messung zeigt. Mit einer Nernst'schen Sensitivität von ca. 59 mV/pH erfüllen die ersten Sensormessungen die Erwartungen. Für die Drift-Problematik im basischen Bereich gibt es vielversprechende Lösungsansätze, welche auf zeitnahe Optimierungen in diesem Feld hoffen lassen. An einer dem Sensor zugeschnittenen Verkapslung wird gearbeitet, sodass Messfehler oder Systemausfälle durch angegriffene, nicht sensitive Komponenten verhindert werden. Weiterhin wird an der Integration der pH-Sensoren in einen angestrebten Triple-Sensor zur Messung des pH-Werts, der elektrischen Leitfähigkeit und der Temperatur gearbeitet. Mit ersten Sensordesigns und Prozessierungsplänen sind Konzepte vorhanden, welche ein vollständiges Sensorsystem abbilden, sobald die Optimierungen der einzelnen Komponenten weit genug fortgeschritten ist.

Literatur

[1] W. Lonsdale, S. Paul Shylendra, S. Brouwer, M. Wajrak, K. Alameh: *Iridium and Ruthenium oxide miniature pH sensors: long-term performance*, Sensors and Actuators B Chemical 297 (2019)

[2] W. Lonsdale, S. Paul Shylendra, S. Brouwer, M. Wajrak, K. Alameh: *Application of ruthenium oxide pH sensitive electrode to samples with high redox interference,* Sensors and Actuators B Chemical 273 (2018), 1222-1225

[3] X. Yao, M. Vepsäläinen, F. Isa, P. Martin, P. Munroe, A. Bendavid: *Advanced RuO2 Thin Films for pH Sensing Application*, Sensors 2020, 20(22), 6432

[4] L. Kuo, Y. Chou, K. Chen, C. Lu, S. Chao (2013): *A precise pH microsensor using RF-sputtering IrO2 and Ta2O5 films on Pt-electrode*, Sensors and Actuators B 193 (2014), 687 - 691

Danksagung

Das durchgeführte Projekt mit der IGF-Vorhaben-Nr. 21418 BR wird unter dem Titel „Triple-Sensoren zur Inline-Überwachung von Prozessbädern in der chemischen Oberflächenvorbehandlung (TIPO)“ über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung und –entwicklung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert. Für die Förderung und Unterstützung sei an dieser Stelle gedankt.

DOI 10.5162/15dss2021/P2.6

Charakterisierung von Filtermedien durch den Einsatz von Photozentrifugalfiltration (PZF)

Sebastian Boldt[1], Philipp Lösch[2], Daniel Krause[1], Christian Weibel[2], Dietmar Lerche[1], Sergiy Antonyuk[2]

[1]LUM GmbH, Berlin
[2]Lehrstuhl für Mechanische Verfahrenstechnik, Technische Universität Kaiserslautern
Kontakt: info@lum-gmbh.de

Einleitung

Für die Herstellung oder Weiterverarbeitung von Wertstoffen werden Dispersionen in vielen Industriezweigen filtriert. Die hierzu notwendigen Anlagen werden meist auf Basis aufwendiger und zeitintensiver Versuche im Labor- und/oder Technikumsmaßstab unter Berücksichtigung von Sicherheitsfaktoren ausgelegt. Für die Versuche werden häufig klassische Filternutschen in Form einer Druck- oder Vakuumfiltration eingesetzt [1 - 3]. Im Zuge der Entwicklung von Bio- und Nanotechnologie ergeben sich neue Herausforderungen, da in diesen Bereichen oft nur kleine und meist auch sehr teure Probenmengen zur Verfügung stehen. Weiterhin ist eine sorgfältige Auswahl des Filtermittels (FM) notwendig, da neben den hohen Anforderungen an die Stofftrennung auch die Wechselwirkungen der Inhaltsstoffe der zu filtrierenden Flüssigkeiten mit dem FM berücksichtigt werden müssen. Letztere beeinflussen auch die Haftung von Partikeln sowie die Adsorption von Inhaltsstoffen am FM, wodurch auch die Durchlässigkeit des FM und der Reinigungsaufwand beeinflusst werden. Insbesondere beim Einsatz von Membranen zur Filtration von Dispersionen (Suspensionen, Emulsionen sowie kolloidalen Lösungen) sind aufwendige Untersuchungsserien mit mehreren unterschiedlichen FM notwendig und üblich.

Ein Filtrationsexperiment unter Verwendung standardisierter Filternutschen (vgl. [3]) erfordert eine große Menge an Versuchssuspension (300 ml pro Versuch) und große Flächen an FM (45 mm bis 50 mm im Durchmesser). Der Einsatz solcher Probenmengen in der Bio- oder Nanotechnologie ist neben immensen Kosten auch mit hohem ökologischem Risiko verbunden, wenn Gefahrstoffe enthalten sind. Für die Entwicklung von FM sind kleine Filtermedienabmessungen ebenfalls von Vorteil.

Dieser Artikel berichtet über die Weiterentwicklung der analytischen Photozentrifugalfiltration (PZF), welches vorteilhaft eine geringe Menge an Filtrationsproben bzw. kleine Membrangrößen benötigt, um schnell eine Abschätzung/Optimierung für eine effektive Kombination Suspension-/Emulsion und Filtermedium in Anlehnung an konventionellen Methoden zu ermöglichen. Es können bis zu 12 Proben parallel in einem Zentrifugenlauf untersucht werden.

Methoden und Materialien

Als Basis der PZF dient eine analytische Photozentrifuge (LUMiSizer®, LUM GmbH).

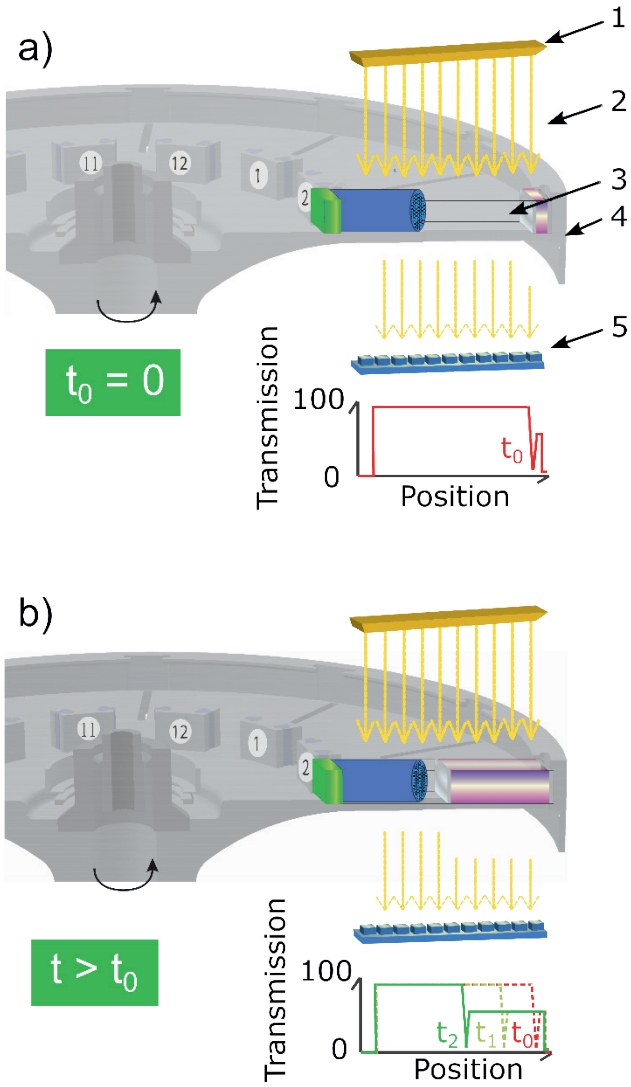


Abb. 1: Prinzip der orts- und zeitaufgelösten Extinktionsprofile in der analytischen Photozentrifuge (LUMiSizer®, LUM GmbH, Deutschland).
a) Transmissionsprofile zum Startzeitpunkt der Zentrifugation mit kleinem vorgelegten Filtratvolumen (rote Linie). b) Transmissionsprofile zu späteren Zentrifugationszeitpunkten (ocker-farbene und grüne Linie). (1) Lichtquelle; (2) paralleles NIR oder VIS Lichtbündel; (3) Filtrationsmesszelle; (4) Mehrprobenrotor; (5) Zeilendetektor

Mittels der STEP-Technologie® können in-situ orts- und zeitaufgelöste Extinktionsprofile automatisch aufgenommen werden. Abbildung 1 zeigt das Schema einer kommerziellen analytischen Photozentrifuge mit Mehrprobenrotor. Rotorgeschwindigkeiten bis zu 4000 Umdrehungen pro Minute und Temperierungen von 4 bis 60 °C sind möglich. Die analytische Photozentrifugation ist weit verbreitet für die Dispersionscharakterisierung [4].

Linear parallelisiertes Licht durchleuchtet das Filtratreservoir der Filtrationsmesszelle, welche horizontal auf den Mehrprobenrotor platziert wird. An der Grenzfläche Luft-Filtrat bildet sich ein Meniskus aus, dessen Geometrie im Wesentlichen von der Oberflächenspannung des Filtrates (und dem Küvettenmaterial) abhängt. Die optische Abbildung des Meniskus ist ein starker, lokaler Transmissionsabfall. Abhängig der Filtratmenge ändert dieses Minimum seine Position mit fortschreitender Filtrationszeit. Der Sensor detektiert die gesamte Höhe des Filtratreservoirs mit einer örtlichen Auflösung von etwa 14 Mikrometern. Die Zeitintervalle können vom Anwender vor dem Versuchsstart festgelegt werden. Dadurch wird eine orts- und zeitaufgelöste Bestimmung des Filtratfüllstandes ermöglicht. Mithilfe der Detektion des Meniskus mittels STEP-Technologie, auch unter Berücksichtigung der Oberflächenspannung und der verwendeten Rotordrehgeschwindigkeit kann das Filtrationsverhalten automatisiert über die Zeit in-situ bestimmt werden.

In der PZF kommen speziell entwickelten Filtrationsmesszellen zur Untersuchung des Filtrationsverhaltens von Dispersionen und FM zum Einsatz (Abb. 2). Diese sind aus Edelstahl oder PEEK (Polyetheretherketon) gefertigt und bestehen aus einem zweiteiligen

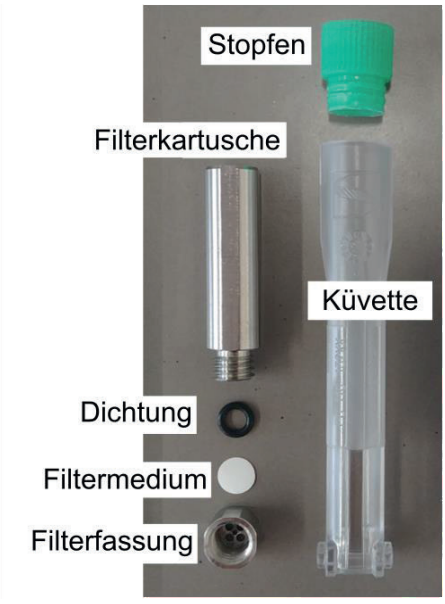


Abb. 3: PZF Messzelle bestehend aus einem zweiteiligen Filtrationsmodul und modifizierter Einwegküvette [5]

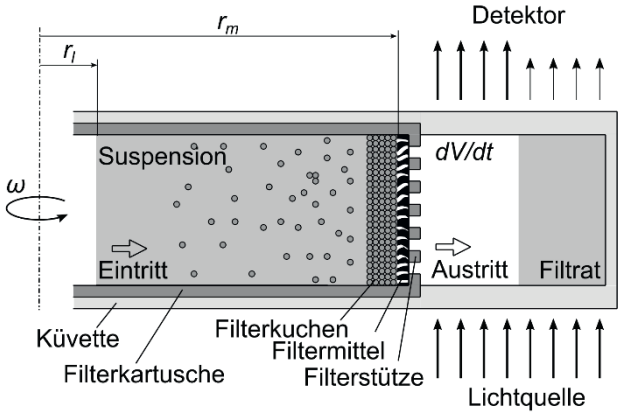


Abb. 2: Schema der Filterküvette im Zentrifugalfeld

Aufbau aus Kartusche und Filtermittelfassung. Das FM bzw. die Membran wird in der Fassung positioniert. Es können flache, kreisrunde FM von 7 Millimetern verwendet werden. Der Aufbau wird dann verschraubt und mittels eines Kautschukringes abgedichtet. Dieses Filtrationsmodul wird in einer modifizierte Einweg-Standardküvette (LUM GmbH, Deutschland) fixiert und mit einem Stopfen verschlossen. In dem Filtrationsmodul können Probenvolumina bis zu 1 ml gefüllt werden.

Bei der Filtration im Zentrifugalfeld wird der Druck maßgeblich durch die Fluidsäule oberhalb des Filtermittels und der Zentrifugalbeschleunigung gesteuert. Mit fortschreitender Filtration (Abnahme des Suspensionsvolumens oberhalb des Filtermittels) nimmt der resultierende Druck bei konstanter Rotordrehgeschwindigkeit kontinuierlich ab. Abbildung 3 zeigt den schematischen Aufbau des Filtrationsmoduls im Zentrifugalfeld. Mit fortlaufender Filtrationszeit nimmt der Abstand vom Rotationszentrum zur Oberfläche der Flüssigkeitssäule r_l oberhalb der Membran zu und die eigentliche Höhe (r_m - r_l) ab. Gemäß Gl. 1 nimmt somit der Druck bei konstanter Winkelgeschwindigkeit kontinuierlich ab.

$$p(r) = \int_{r_l}^{r_m} \rho_l \omega^2 r \, dr = \frac{\rho_l \omega^2}{2} ({r_m}^2 - {r_l}^2) \qquad (1)$$

Zur Bestimmung des Filtermittelleerwiderstandes wird das FM mit einer reinen Flüssigkeit, vorzugsweise mit der kontinuierlichen Phase der Suspension, durchströmt. Der Druck p ergibt sich aus dem radialen Abstand der Flüssigkeitssäule zum Rotationszentrum r_l, der Winkelgeschwindigkeit ω, der Dichte des Fluides ρ_l und dem radialen Abstand zum FM r_m. Zur Verwendung kommen sehr dünne FM, sodass deren Dicke vernachlässigt werden kann. Gl. 1 gilt nur bei Verwendung von reinen Flüssigkeiten. Die Filtration von Suspensionen führt zu einem Haufwerk aus abgelagerten Partikeln, dessen Gerüstdruck ebenfalls zu dem Druck aus Gl. 1 additiv hinzukommt,

bzw. die Geometrie des wirkenden Drucks beeinflusst.

Bei Filtration von Suspensionen werden dispergierte Partikel, welche meist größer sind als die Poren des FM auf dessen Oberfläche zurückgehalten. Die so entstandene Schicht wird als Filterkuchen (FK) bezeichnet. Der FK selbst baut sich mit fortschreitender Filtration zunehmend auf, sodass die kontinuierliche Phase einen stetig größer werdenden Widerstand überwinden muss.

Die Durchströmung poröser Medien wird durch die Darcy Gleichung beschrieben. Sie definiert den Volumenstrom *dV/dt* als Quotient der gesamten Druckdifferenz *Δp* und des gesamten Filterwiderstandes *R* normiert mit der Viskosität *η* der kontinuierlichen Phase der Dispersion (vgl. Gl. 2).

$$\frac{dV}{dt} = \frac{\Delta p}{\eta R} \tag{2}$$

Unter der Annahme eines inkompressiblen FK, ist der spezifische Filterkuchenwiderstand r_{FK} eine lineare Funktion der Filterkuchenhöhe h_{FK} und der Permeabilität K_{FK} und die Durchströmung kann durch Gl. 3 beschrieben werden:

$$\frac{dV_{FK}}{dt} = \frac{K_{FK}\Delta p_{FK}}{\eta h_{FK}} \tag{3}$$

Eine direkte Bestimmung von r_{FK} ist durch PZF, wie in konventionellen Filternutschenversuchen, nicht möglich. Alternativ wird auf dem Gesamtwiderstand *R* zurückgegriffen und lässt sich mit Gleichung 4 beschreiben. Der Filtermittelleerwiderstand und der spezifische Kuchenwiderstand sind additiv.

$$\frac{dV}{dt} = \frac{\Delta p_{ges}(t)}{\eta(r_{FK}h_{FK}(t) + R_{FM})} \tag{4}$$

Mithilfe der Gleichungen (2 – 4) lässt sich r_{FK} bestimmen. Dafür wird zunächst der Filtermittelleerwiderstand mit der reinen Flüssigkeit bestimmt. In einem zweiten Experiment wird die Suspension filtriert. Im letzten Experiment wird dann erneut mit der kontinuierlichen Phase filtriert, wo hierbei sowohl der Filtermittelwiderstand als auch der Filterkuchenwiderstand überwunden werden muss (siehe Abschnitt Ergebnisse).

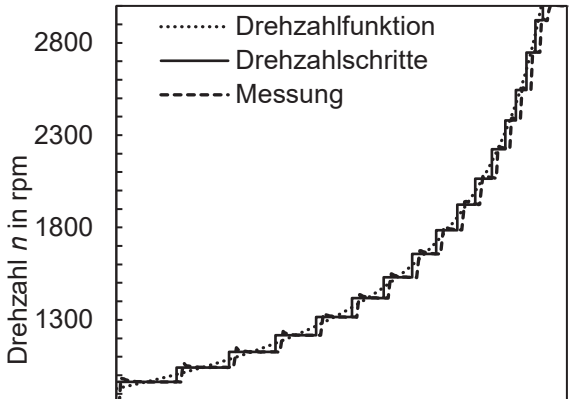


Abb. 4: Exemplarische Darstellung einer Drehzahlrampe für den Betrieb der PZF mit konstantem Druck

Für Vergleichsmessungen wird eine konventionelle Filternutsche, für Fluidvolumina von etwa 250 Milliliter, verwendet. Die Filtermittelauflagefläche beträgt 20 Quadratzentimeter. Das Filtratvolumen wird gravimetrisch bestimmt.

Als FM dienen Polymer-Flachmembranen (Polypropylen) mit einem nominellen Porendurchmesser von 100 Nanometer. Aufgrund der Hydrophobizität werden diese vor den Versuchen mit Ethanol benetzt. Aufgrund der sehr dünnen (etwa 90 Mikrometer Dicke) FM wird das Filter zusätzlich von einem Supportmaterial (Maschenweite 105 Mikrometer) gestützt.

Als kontinuierliche Phase wird vollentsalztes Wasser verwendet. Die disperse Phase sind Vollglaskugeln mit einem mittleren Durchmesser von etwa 11 Mikrometer.

Um eine Vergleichbarkeit mit konventioneller Nutschenfiltration nach VDI 2762 zu erreichen, wird die

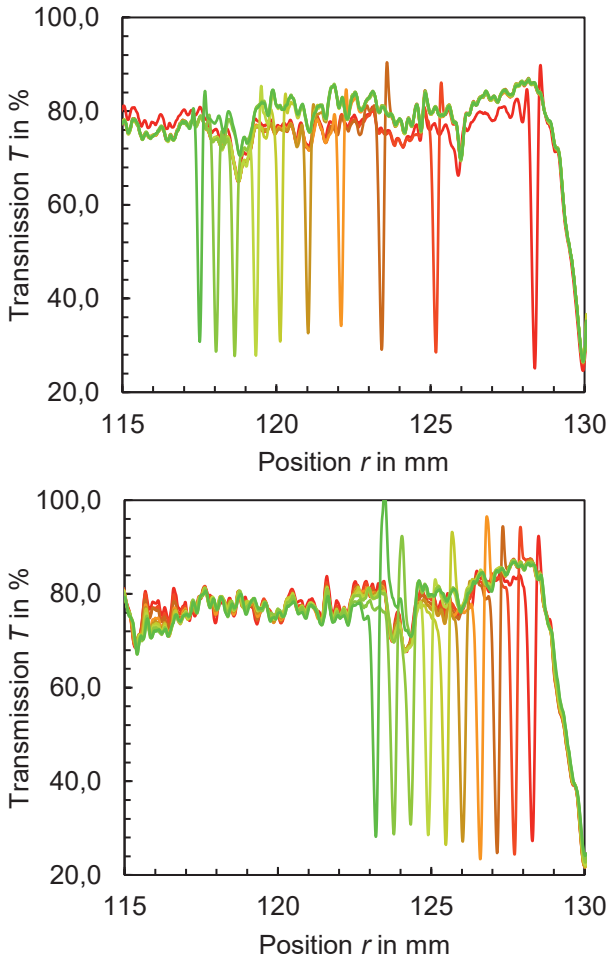


Abb. 5: Filtrationsfingerprints der PZF; zeitliche Profilentwicklung von Rot nach Grün; oben: konstante Rotordrehzahl; unten: konstanten Druck

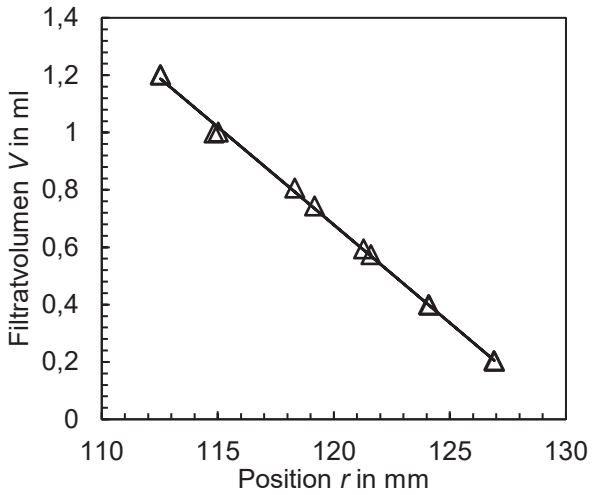


Abb. 4: Funktion zur Bestimmung des Filtratvolumens aus der Position des Meniskus

PZF mit einer kontinuierlich steigender Drehzahlrampe programmiert, um einen konstanten Überdruck einzustellen (Abb.4).

Abbildung 5 zeigt den Vergleich der Transmissionskurven bei Verwendung einer konstanten Drehzahl (oben) und eine stetig nachregelnde Drehzahl (unten). Die zeitliche Transmissionsprofilentwicklung ist von Rot (erstens Profil, Beginn der Zentrifugation) nach Grün (letztes Profil, Ende der Filtration). Die zeitlichen Abstände zwischen den Profilen sind identisch. Die örtlichen Abstände der lokalen Transmissionsminima jedes Profils in Abb. 5 oben nehmen mit zunehmender Filtrationszeit ab, gleichbedeutend mit einem Fluss und Druckabnahme. In der unteren Abbildung wurde der Druck konstant gehalten, die Abstände der Minima sind nahezu identisch, was auf einen über der Zeit konstanten Filtratstrom schließen lässt.

Zur Bestimmung des Filtratvolumens aus den Meniskuspositionen wurde eine Funktion erstellt, welche den Zusammenhang zwischen absoluter (Rotor-)Radiusposition des Meniskus und der entsprechenden Filtratmenge herstellt (Abb. 6).

Abbildung 7 zeigt das Filtratvolumen über der Filtrationszeit für eine konstante Drehzahl (oben) und einer in-situ korrigierten Drehzahl (unten). Während bei der Verwendung von konstanter Rotordrehzahl (Abb. 7 oben) der Filtratfluss *dV/dt* stetig über der Zeit (vgl. Gl. 1) abnimmt, wird durch in-situ Drehzahlanpassung (Abb. 7 unten) ein nahezu konstantes *dV/dt* erreicht und somit ein zeitlich quasi-konstanten Druckverlauf. Zum zeitlichen Ende des Experimentes fällt der Druck ab, da die Drehzahl nicht weiter erhöht und konstant gehalten wird.

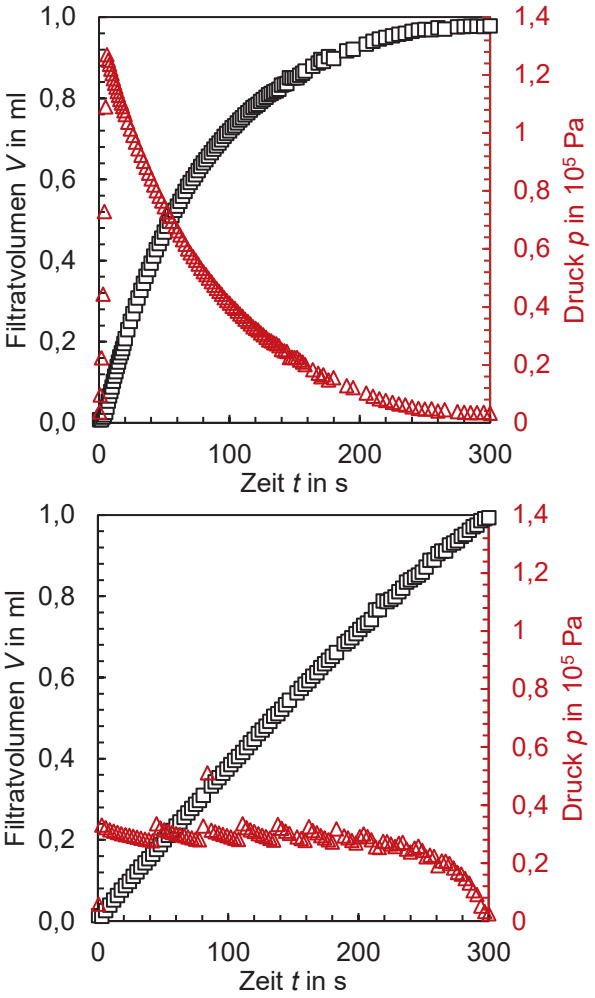


Abb. 5: Filtratvolumen (schwarz) und Druckverlauf (rot) über der Filtrationszeit in der PZF; oben: Betrieb mit konstanter Drehzahl; unten: Betrieb mit Drehzahlrampe

Ergebnisse

Zunächst wurde in der PZF der Filtermittelwiderstand bestimmt. Für die Versuche zur Bestimmung des Filtermittelwiderstandes mit konstanter Rotordrehzahl wurden Maximaldrücke von 2 bar realisiert. Für die Experimente mit konstantem Druck wurde ein durchschnittlicher Druck von 1,2 bar realisiert.

Die Ergebnisse durch Verwendung von konstantem Druck, sowie konstanter Drehzahl werden mit den Resultaten der Filternutsche verglichen. Der Vergleich zwischen den mit der Filternutsche und der PZF ermittelten Werten zeigt eine gute Übereinstimmung (Abb. 8). Je größer der quasikonstante Filtrationsdruck, desto größer werden die Streuungen der Messwerte in einer Messreihe.

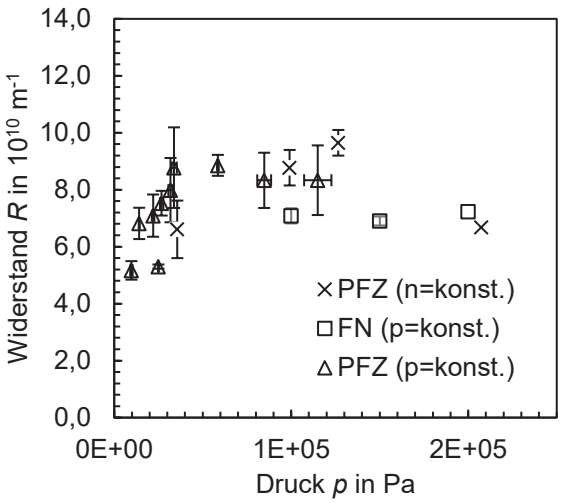


Abb. 6: Vergleich der Filtermittelwiderstände der verwendeten Methoden

Zur Bestimmung des Filtermittel- und Kuchenwiderstandes wurde das Experiment in drei aufeinander folgende Filtrationsteilprozesse in der PZF unterteilt. Der erste Teil des Experiments beinhaltet die Durchströmung des FM mit der kontinuierlichen Phase (Reinstwasser) zur Bestimmung des Filtermittelwiderstandes gemäß Gl. 2. Im zweiten Schritt wurde die Filtration mit der Suspension durchgeführt. Dabei bildet sich der FK sukzessive auf und lässt den Gesamtwiderstand (vgl. Gl. 4) stetig steigen, bis sich alle Partikeln abgelagert haben und der FK voll ausgebildet ist. Der Durchströmungswiderstand erreicht einen konstanten Wert. In einem dritten Schritt wird erneut die kontinuierliche Phase durch das FM und den zuvor gebildeten (nun statischen) FK gefiltert. Daraus kann dann der spez. Filterkuchenwiderstand gemäß Gl. 3 bestimmt werden.

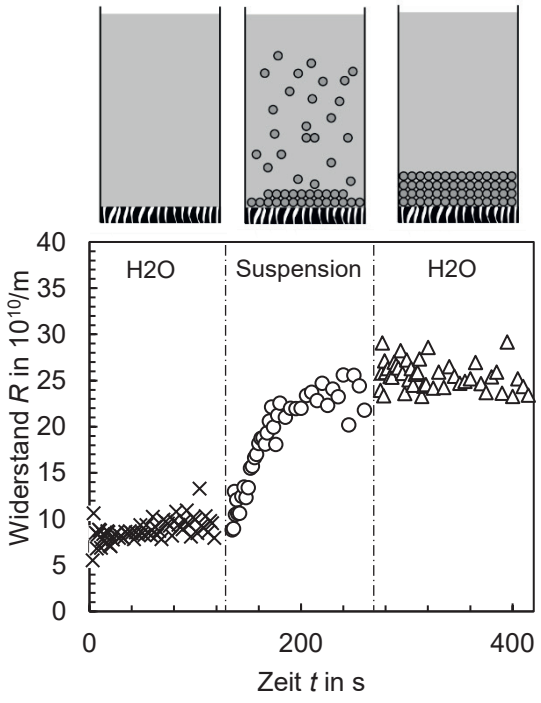


Abb. 9: Versuchsreihe zur Bestimmung des Filtermittel- und Kuchenwiderstandes

Abbildung 9 zeigt den Gesamtwiderstand in Abhängigkeit der Zeit bei den drei aufeinander folgenden Prozessschritten für ein Experiment mit Glaskugeln.

Bei der Durchströmung mit reinem Fluid im ersten Schritt zeigt sich der erwartete zeitlich konstante Verlauf des Widerstands. Hier wird nur der Durchströmungswiderstand des FM erfasst. Nach dem Befüllen mit Suspension steigt der Gesamtwiderstand mit der Zeit linear an, was die Bildung eines inkompressiblen FK charakterisiert. In der zweiten Hälfte der Durchströmung mit der Suspension ist der FK schon fast vollständig ausgebildet und eine reine Durchströmung des gebildeten Haufwerks erzeugt einen konstanten Durchströmungswiderstand. Dies wird bei der Betrachtung des dritten Prozessschritts bestätigt, hier ergibt sich der gleiche konstante Durchströmungswiderstand.

Trotz der Entnahme der Küvetten und erneutes Befüllen mit Fluid/Suspension zeigt sich im Übergang zwischen den Prozessschritten eine sehr gute Übereinstimmung des reinen Filtermittel- bzw. kuchenwiderstands.

Abbildung 10 zeigt die nach der vorgestellten Methode ermittelten Filterkuchenwiderstände im Vergleich mit denen der Filternutsche. Hierbei wurde bei der Filternutsche ebenfalls eine Durchströmung des Filterkuchens mit reinem Fluid im Anschluss an die Kuchenfiltration durchgeführt.

Die Ergebnisse liegen alle in der gleichen Potenz, die bei den mit der Filternutsche ermittelten Widerstände aufgetretenen Messschwankungen deuten auf die Schwierigkeit der Bestimmung hin. Während die bei konstanter Drehzahl ermittelten Werte eher dazu neigen, den FK zu unterschätzen, können die bei konstantem Filtrationsdruck erzielten Ergebnisse bessere Übereinstimmungen liefern.

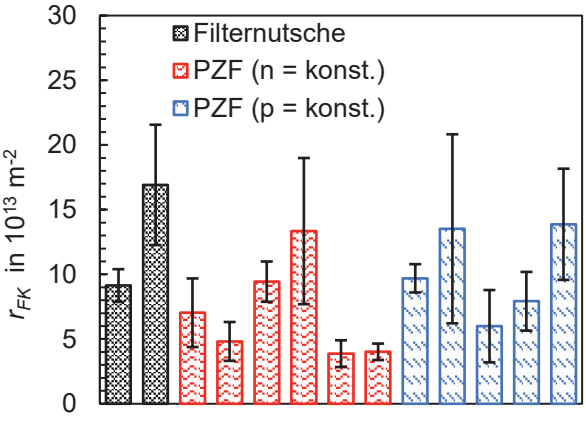


Abb. 10: Spezifischer Filterkuchenwiderstand der Glaskugel-Suspension bestimmt mit den verwendeten Methoden

Zusammenfassung

Es wird ein neues miniaturisiertes Mehrproben-Photozentrifugalfiltrationsverfahren zur Bestimmung von Filtermittel- und Membranwiderständen mit und ohne Filterkuchenbildung beschrieben.

Die im Rahmen dieser Untersuchungen vorgestellten Ergebnisse mit konventioneller Nutschenfiltration und der analytischen Zentrifugalfiltration zeigen gute Übereinstimmungen. Die PZF liefert Ergebnisse in den gleichen Größenordnungen. Wird der Filtermittelwiderstand bei konstanter Drehzahl, also abnehmendem Filtrationsdruck bestimmt, ergeben sich gute Übereinstimmungen mit den aus den Filternutschenexperimenten erhaltenen Werten. Bei Kenntnis des Filtermittelwiderstands kann eine Drehzahlrampe erstellt werden, welche einen konstanten Filtrationsdruck erzeugt. Somit können die ermittelten Gesamtwiderstände mit den Ergebnissen der Filternutsche gut verglichen werden. Mithilfe einer erneuten Durchströmung des Filterkuchens mit der kontinuierlichen Phase konnte gezeigt werden, dass selbst bei den geringen Suspensionsmengen der Filterkuchenaufbau während der Versuchszeit vollständig abläuft.

Die PZF ist eine geeignete Methode zur schnellen, ökologischen und -nomischen Quantifizierung der Filtermedien bzw. -membranen sowie der Filtrierbarkeit von Dispersionen. Gerade für die Zielapplikationen (wertige Materialien, Gefahrstoffe) bietet dies deutliche Vorteile zur effizienten Entwicklung von neuen Materialien oder Prozessoptimierungen.

Literatur

[1] S. Ripperger, in *Handbuch der Mechanischen Verfahrenstechnik* (Ed: H. Schubert), John Wiley & Sons, Hoboken **2003**.

[2] Verein Deutscher Ingenieure, *Mechanische Fest-Flüssig-Trennung durch Kuchenfiltration: Übersicht*, Beuth Verlag GmbH, Berlin 71.04.40, 2006.

[3] Verein Deutscher Ingenieure, *Filtrierbarkeit von Suspensionen: Bestimmung des Filterkuchenwiderstands*, Vol.71.040.40 *(2762 Blatt 2)*, Beuth Verlag GmbH, Berlin **2010**.

[4] D. Lerche, *Comprehensive characterization of nano- and microparticles by in-situ visualization of particle movement using advanced sedimentation techniques*, KONA **2019**, *36*, 156–186. DOI: 10.14356/kona.2019012.

[5] S. Boldt, D. Lerche, M. Loginov, *Analytical Photo-Centrifugal Filtration (ACF): Membrane Resistance and Filterability*, F&S International Edition **2019**, 15–21.

Danksagung

Die Autoren danken dem Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (KK5048402CM0 – Prä-Lab - Entwicklung eines Verfahrens zur Prädiktion und Auslegung von industriellen Filtrationsprozessen basierend auf experimentellen Laboruntersuchungen mit analytischen multi-sample Photofiltrationszentrifugen) für die finanzielle Unterstützung.

DOI 10.5162/15dss2021/P3.1

P3.1
Application of hybrid CeO2/Au nanoparticles for photoelectrochemical sensing schemes

F. Lisdat, M. Riedel, Technical University of Applied Sciences Wildau, Wildau/D; S. Zhao, W. Parak, Hamburg University, Hamburg/D; Z. Yue, Nankai University, Tianjin/China

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/P3.2

P3.2
Entwicklung eines optischen Sensors basierend auf Reflektometrischer Interferenzspektroskopie zur Charakterisierung von Proteinkinasenhemmung

V. Wurster, P. Fechner, G. Proll, C. Huhn, Eberhard Karls Universität Tübingen, Tübingen/D

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/P3.3

Smarte Hydrogele als sensorische Elemente in der Atemgas-Analyse

Sitao Wang[1], Gerald Gerlach[1], Julia Körner[2]

[1]Institut für Festkörperelektronik, TU Dresden, Dresden, Deutschland
[2]Leibniz Universität Hannover, Hannover, Deutschland
Kontakt: sitao.wang@tu-dresden.de

Einleitung

Flüchtige organische Verbindungen (engl. Volatile Organic Compounds - VOCs) in der menschlichen Atemluft sind in den Fokus der biomedizinischen Analytik gerückt, da diese eine kontinuierliche, präzise und nicht-invasive Beobachtung des Gesundheitszustandes ermöglichen [1]. Bisher stehen dabei chemoresistive Ansätze, basierend auf Halbleitermetalloxiden, im Fokus. Deren Anwendung ist jedoch aufgrund der hohen Betriebstemperatur und Feuchtigkeitsempfindlichkeit eingeschränkt [2,3]. Eine Alternative versprechen smarte Hydrogele als sensorische Elemente.

Smarte Hydrogele sind Polymere, die auf eine Veränderung der Umgebungsbedingungen, wie beispielsweise Temperatur, pH-Wert, Ionenstärke und Lösungsmittel, mit einer reversiblen Volumenänderung reagieren können [4-6]. Dieses Verhalten macht sie zu interessanten Kandidaten für Sensor-Elemente. Allerdings werden responsive Hydrogele bisher meistens in wässriger Umgebung angewendet. Um smarte Hydrogele für die Atemgas-Diagnostik nutzen zu können, müssen deshalb grundlegende Untersuchungen zum Quellverhalten in gasförmigen Umgebungsmedien durchgeführt sowie die Analyt-Sensitivität eruiert werden.

Nachfolgend werden erste experimentelle Ergebnisse zur Reaktion eines Poly(N-Isopropylacrylamid)-basierten smarten Hydrogels auf Aceton vorgestellt. Aceton wurde als Ziel-Analyt gewählt, da es ein relevanter biomedizinischer Parameter ist, der z.B. für die Diabetes-Früherkennung herangezogen werden kann [2]. An Diabetes erkrankte Personen haben im Vergleich zu Gesunden eine viel höhere Aceton-Konzentration in der Ausatemluft, die von einem Durchschnittswert von weniger als 0,9 ppm (engl. parts per million) auf mehr als 1,8 ppm ansteigen kann [7,8].

Materialien und experimenteller Aufbau

Für die vorgestellten Untersuchungen wurde das PNIPAAm-Hydrogel mittels Photopolymerisation aus einer Pregel-Lösung auf einem piezoresistiven Druck-Sensor erzeugt. Eine Volumenänderung des Hydrogels durch den Analyten führt zu einer Kraftwirkung und damit Biegung der Sensormembran, welche in eine elektrische Ausgangsspannung umgewandelt wird.

Vorbereitung der Pregel-Lösung

Für die Pregel-Lösung wurden 10 Vol.-% N-Isopropylacrylamid (NIPAAm) und 1,5 mol% N,N'-Methylenbis(acrylamid) (MBA) in destilliertem Wasser gelöst. Nach fünf Minuten Entgasung mit Stickstoff wurde 1 mol% Lithium-Phenyl-2,4,6-trimethylbenzoylphosphinat (LAP) als Photoinitiator zugegeben. Die Polymerisation wird nach Aufbringen der Pregel-Lösung auf dem gewünschten Substrat durch Belichtung mit einer UV-Lampe erreicht.

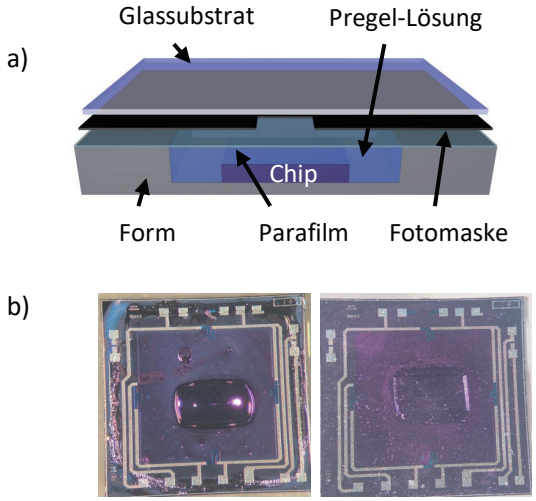


Abb. 1: (a) Schematische Darstellung der Hydrogel-Herstellung mittels maskenbasierter Photopolymerisation (Querschnitt). (b) PNIPAAm-Hydrogel auf einem piezoresistiven Drucksensor (links: wässeriges Gel mit Dicke 150 μm; rechts: getrocknetes Gel mit Dicke 2 μm).

Sensoraufbau

Um das Quellverhalten des Hydrogels zuverlässig zu detektieren, wird dieses mittels einer maskenbasierten Photopolymerisation auf einem piezoresistiven Drucksensor [9] hergestellt (vgl. Abb. 1). Dazu wird der Sensorchip zunächst in die Pregel-Lösung eingetaucht und anschließend durch 20 s UV-Belichtung durch eine Fotomaske das Hydrogel in

gewünschter Form polymerisiert. Die Dicke des Hydrogels ist durch Verwendung unterschiedlich tiefer Kavitäten in der Form einstellbar. Nach dem Trocknen wird der Chip auf einer Leiterplatte fixiert und mittels Bonden elektrisch kontaktiert. Die Messung der elektrischen Spannung erfolgt mit einem Fluke 45 Multimeter.

Um eine bessere Haftung des Hydrogels auf der Chipoberfläche zu erreichen, wird dessen Oberfläche zunächst mit organischen Lösungsmitteln und Sauerstoff-Plasma gereinigt und anschließend mit (3-Aminopropyl)triethoxysilan (APTES) behandelt. Spezifische chemische Gruppen, die nach der Silanisierung mit APTES an den Oberflächen vorhanden sind, ermöglichen die kovalente Bindung mit Polymermolekülen [10,11]. In der hier vorgestellten Arbeit wird das APTES in Ethanol gelöst und anschließend direkt auf dem Chip bei 90 ºC für 10 min aktiviert.

Erzeugung einer gasförmigen Umgebung

Um die Reaktion des Hydrogels auf verschiedene Aceton-Konzentrationen zu untersuchen, wird der Chip in einer abgeschlossenen Kammer platziert, in welcher die gewünschten Umgebungsbedingungen durch Injektion von flüssigem organischem Lösungsmittel eingestellt werden können (Abb. 2).

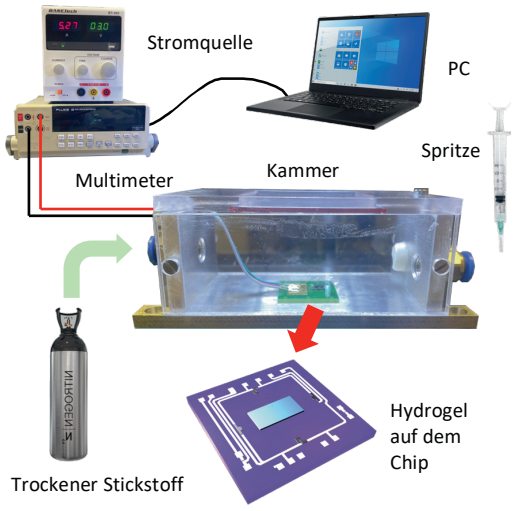


Abb. 2: Schematische Darstellung des experimentellen Aufbaus.

Die Konzentration des organischen Gases in der Kammer wurde in Abhängigkeit des eingespritzten flüssigen Lösungsmittels folgendermaßen berechnet (1):

$$\frac{c}{\mathrm{ppm}} = \frac{\frac{24{,}22}{\mathrm{l/mol}} \cdot \frac{T}{\mathrm{K}} \cdot \frac{\rho_f}{\mathrm{g/ml}} \cdot \frac{V_f}{\mathrm{ml}}}{\frac{273}{\mathrm{K}} \cdot \frac{M}{\mathrm{g/mol}} \cdot \frac{V}{\mathrm{l}}} \cdot 10^3, \qquad (1)$$

wobei 24,22 l/mol das Volumen des idealen Gases bei 22 °C (295 K) und Normaldruck (101,325 kPa; 760 mm Hg) ist, 273 K entspricht der Temperatur von 0 °C in der Kelvin-Skala. c bezeichnet die gasförmige Analyt-Konzentration in ppm, T die Arbeitstemperatur in Kelvin, ρ_f die Dichte des flüssigen organischen Lösungsmittels in g/ml, V_f das Volumen des flüssigen Lösungsmittels in ml, M das Molekulargewicht des Analyten in g/mol und V das Volumen der Kammer in Liter [12].

Für die hier vorgestellte Untersuchung mit Aceton betragen die Werte M = 58,08 g/mol, ρ_f = 0,791 g/ml und T = 295 K (stabile Raumtemperatur im Reinraum).

Die durch Volumenänderung des Hydrogels erzeugte Sensorausgangsspannung wird für verschiedene Aceton-Konzentrationen von 20 ppm bis 100 ppm gemessen. Der Lösungsaustausch erfolgte alle 10 min, wobei die Kammer zwischen jedem Schritt mit trockenem Stickstoff gespült wurde.

Ergebnisse und Diskussion

In Abb. 3 sind jeweils die gemessenen Ausgangsspannungen in Abhängigkeit der Aceton-Konzentration für verschiedene Dicken (2 µm, 9 µm und 12 µm) eines PNIPAAm-Hydrogels dargestellt.

In allen Fällen ist eine deutliche Abhängigkeit der Kurvenform sowie Magnitude der Ausgangsspannung von der Aceton-Konzentration erkennbar. Jedoch fällt auf, dass das Signal für dickere Gele zum einen eine zeitabhängige Drift aufweist und zum anderen verrauschter wird (insbesondere bei 12 µm Dicke).

Weiterhin zeigen das 2 µm und das 12 µm dicke Hydrogel vergleichbare Ausgangsspannungen, während diese für das Gel mittlerer Dicke (9 µm) deutlich größer ausfällt.

Dies lässt sich durch die dickenabhängige Quellzeit sowie unterschiedliche Haftung der Hydrogele auf der Sensoroberfläche erklären.

Je dicker das Polymer ist, desto länger dauert es, bis in Abhängigkeit von der Analyt-Konzentration ein Gleichgewichtszustand (keine weitere Veränderung der Ausgangsspannung) erreicht wird. Da in allen Messungen dasselbe Austauschintervall von 10 min eingehalten wurde, kann die dünnste Hydrogelschicht in dieser Zeit das Gleichgewicht erreichen, während dies bei größeren Dicken nicht möglich ist.

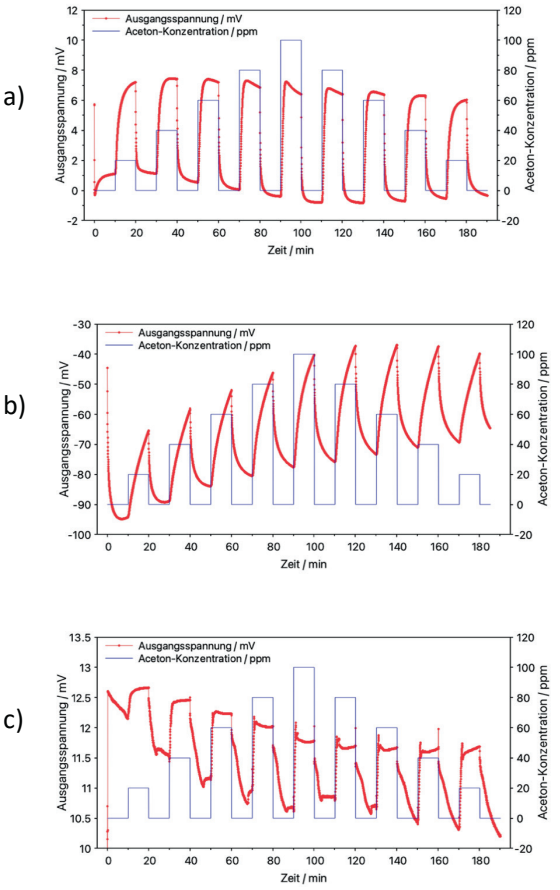


Abb. 3: Drucksensor-Ausgangssignal für ein PNIPAAm-Hydrogel mit Dicke a) 2 μm, b) 9 μm, c) 12 μm (luftgetrocknet) bei verschiedenen Aceton-Konzentrationen, Testintervall: 10 min, Spülgas: trockener Stickstoff.

Weiterhin ist bei einigen Aceton-Konzentrationen nach Erreichen des Plateaus eine Reduzierung der Ausgangsspannung erkennbar. Dies lässt sich durch das Kriechverhalten und die Relaxation des Polymers erklären [17], muss jedoch noch genauer untersucht werden.

Der zweite Grund für die deutlichen Unterschiede der Ausgangsspannungen in Abhängigkeit von der Hydrogeldicke ist die Haftung auf der Chipoberfläche. Ein dickes Hydrogel kann durch sein vergleichsweise höheres Volumen und damit verbundene Kraftwirkung auf die Silizium-Membran dazu führen, dass die Haftung während des Experimentes verloren geht. Dies kann bereits in den ersten Sekunden während des Stickstoff-Spülens auftreten. Daraus folgt einerseits ein verringerter Wertebereich der Ausgangsspannung und andererseits eine instabile und diskontinuierliche Ausgangskurve, wie sie in Abb. 3c gezeigt ist.

Darüber hinaus sollte bei relativ dickem Hydrogel der absorbierte organische Gasrückstand berücksichtigt werden. Das heißt, dass sich die Reversibilität des Materials mit zunehmender Dicke der Hydrogelschicht verschlechtert, da aufgenommene Gasmoleküle innerhalb des Austauschintervalls nicht vollständig desorbiert werden können [18].

Zusammenfassung

Diese ersten Ergebnisse zeigen, dass es im Prinzip möglich ist, mittels smarter Hydrogele organische Moleküle im gasförmigen Zustand zu detektieren.

In weiteren Untersuchungen soll die Aceton-Detektion für verschiedene Luftfeuchten und Möglichkeiten zur Verstärkung der Quellungsreaktion durch Verwendung andere Hydrogel-Materialien sowie Zusätze (z.B. Nanopartikel) genauer betrachtet werden. Ein vielversprechender Kandidat insbesondere für die Aceton-Detektion ist MXene, ein 2D-Material, welches vollständig durch Hydroxyl- (-OH), Sauerstoff- (-O) sowie Fluor- (-F) Gruppen auf der Oberfläche terminiert ist, die als zusätzliche physikalische Bindungsstelle für die Gasmoleküle wirken können.

Literatur

[1] Lourenço, C.; Turner, C. Breath Analysis in Disease Diagnosis: Methodological Considerations and Applications. Metabolites 2014, 4 (2), 465–498.

[2] Saasa, V.; Malwela, T.; Beukes, M.; Mokgotho, M.; Liu, C.-P.; Mwakikunga, B. Sensing Technologies for Detection of Acetone in Human Breath for Diabetes Diagnosis and Monitoring. Diagnostics 2018, 8 (1), 12.

[3] Baharuddin, A. A. Advances in Chemiresistive Sensors for Acetone Gas Detection. Materials Science in Semiconductor Processing 2019, 19.

[4] Dai, H.; Chen, Q.; Qin, H.; Guan, Y.; Shen, D.; Hua, Y.; Tang, Y.; Xu, J. A Temperature-Responsive Copolymer Hydrogel in Controlled Drug Delivery. Macromolecules 2006, 39 (19), 6584–6589.

[5] He, L.; Fullenkamp, D. E.; Rivera, J. G.; Messersmith, P. B. pH Responsive Self-Healing Hydrogels Formed by Boronate-Catechol Complexation. Chem. Commun. 2011, 47 (26), 7497.

[6] Zhang, K.; Luo, Y.; Li, Z. Synthesis and Characterization of a pH- and Ionic Strength-Responsive Hydrogel. Soft Materials 2007, 5

[7] Fan, G.-T.; Yang, C.-L.; Lin, C.-H.; Chen, C.-C.; Shih, C.-H. Applications of Hadamard Transform-Gas Chromatography/Mass Spectrometry to the Detection of Acetone in Healthy Human and Diabetes Mellitus Patient Breath. Talanta 2014, 120, 386–390.

[8] Smart Sensors for Health and Environment Monitoring; Kyung, C.-M., Ed.; KAIST Research Se-ries; Springer Netherlands: Dordrecht, 2015

[9] Hydrogel Sensors and Actuators; Gerlach, G., Arndt, K.-F., Eds.; Springer: Heidelberg ; New York, 2009.

[10] Awsiuk, K.; Budkowski, A.; Psarouli, A.; Petrou, P.; Bernasik, A.; Kakabakos, S.; Rysz, J.; Raptis, I. Protein Adsorption and Covalent Bonding to Silicon Nitride Surfaces Modified with Organo-Silanes: Comparison Using AFM, Angle-Resolved XPS and Multivariate ToF-SIMS Analysis. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 2013, 110, 217–224.

[11] Martin, H. J.; Schulz, K. H.; Bumgardner, J. D.; Walters, K. B. XPS Study on the Use of 3-Aminopropyltriethoxysilane to Bond Chitosan to a Titanium Surface. Langmuir 2007, 23 (12), 6645–6651.

[12] Zhang, D.; Liu, A.; Chang, H.; Xia, B. Room-Temperature High-Performance Acetone Gas Sensor Based on Hydrothermal Synthesized SnO2-Reduced Graphene Oxide Hybrid Composite. RSC Adv. 2015, 5 (4), 3016–3022.

[13] Franke, D.; Gerlach, G. Swelling Studies of Porous and Nonporous Semi-IPN Hydrogels for Sensor and Actuator Applications. Micromachines 2020, 11 (4), 425.

[14] Xu, Z.; Li, J.; Zhou, H.; Jiang, X.; Yang, C.; Wang, F.; Pan, Y.; Li, N.; Li, X.; Shi, L.; Shi, X. Morphological and Swelling Behavior of Cellulose Nanofiber (CNF)/Poly(Vinyl Alcohol) (PVA) Hydrogels: Poly(Ethylene Glycol) (PEG) as Porogen. RSC Adv. 2016, 6 (49), 43626–43633.

[15] Lee, E.; VahidMohammadi, A.; Prorok, B. C.; Yoon, Y. S.; Beidaghi, M.; Kim, D.-J. Room Temperature Gas Sensing of Two-Dimensional Titanium Carbide (MXene). ACS Appl. Mater. Interfaces 2017, 9 (42), 37184–37190.

[16] Kim, S. J.; Koh, H.-J.; Ren, C. E.; Kwon, O.; Maleski, K.; Cho, S.-Y.; Anasori, B.; Kim, C.-K.; Choi, Y.-K.; Kim, J.; Gogotsi, Y.; Jung, H.-T. Metallic $Ti_3C_2T_x$ MXene Gas Sensors with Ultrahigh Signal-to-Noise Ratio. ACS Nano 2018, 12 (2), 986–993.

[17] Karobi, S. N.; Sun, T. L.; Kurokawa, T.; Luo, F.; Nakajima, T.; Nonoyama, T.; Gong, J. P. Creep Behavior and Delayed Fracture of Tough Polyampholyte Hydrogels by Tensile Test. Macromolecules 2016, 49 (15), 5630–5636.

[18] Matsuguchi, M.; Harada, N.; Omori, S. Poly(N-Isopropylacrylamide) Nanoparticles for QCM-Based Gas Sensing of HCl. Sensors and Actuators B: Chemical 2014, 190, 446–450.

Danksagung

Die Autoren danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) für die Finanzierung des Promotionsprojektes im Rahmen des Graduiertenkollegs „Hydrogel-basierte Mikrosysteme“ (GRK 1865).

DOI 10.5162/15dss2021/P3.4

Anwendung von silanisiertem Graphenoxid als Plattform für die Immobilisierung von Sonden-Oligonukleotiden für den kabellosen elektrochemischen miRNA-Nachweis

Sedigheh Falahi, Parvaneh Rahimi und Yvonne Joseph

Sedigheh Falahi, Parvaneh Rahimi, Yvonne Joseph, Instituts für Elektronik- und Sensormaterialien, Fakultät für Werkstoffwissenschaft und Werkstofftechnologie, TU Bergakademie Freiberg, Freiberg/Deutschland; Kontakt: sedigheh.falahi@doktorand.tu-freiberg.de

Einleitung

Krebs ist weltweit die häufigste Todesursache. Laut den globalen Krebsdaten von 2018 ist die weltweite Belastung des Gesundheitssystems durch Krebs auf 18,1 Millionen neue Fälle und 9,6 Millionen krebsbedingte Todesfälle gestiegen [1]. In den letzten Jahren haben sich der Nachweis und die Analyse von Krebs-Biomarkern als wirksames Instrument zur Krebsvorsorge, Diagnose, Prognose und Behandlung etabliert. Biomarker sind Biomoleküle in den Geweben und Körperflüssigkeiten des Menschen, deren Werte sich bei der Entwicklung abnormaler Zustände und verschiedener Krankheiten wie Krebs verändern [2]. MicroRNAs (miRNAs) sind eine Klasse von nicht-kodierenden Genen, die als RNA-Sequenzen von etwa 22 Nukleotiden Länge transkribiert werden [3]. Das abnorme Expressionsmuster der miRNA trägt zur Krebsentstehung und -progression bei [4, 5]. Sie können entweder als Onkogene oder als Tumorsuppressoren wirken [6] und lassen sich leicht aus Geweben, Plasma, Serum, Urin und Fäkalien extrahieren. Bisher wurden viele verschiedene Methoden für den Nachweis von micRNA entwickelt, z. B. Northern Blotting [7], Microarray [8] und quantitative Polymerasekettenreaktion mit reverser Transkriptase (RT-qPCR) [9]. Trotz der akzeptablen analytischen Leistung dieser Techniken weisen sie kritische Nachteile auf, wie z. B. den hohen Zeitaufwand, das große Probenvolumen und die teure Instrumentierung. Daher ist die Entwicklung neuer Plattformen, die das miRNA-Screening in die routinemäßige Point-of-Care-Diagnostik integrieren, von entscheidender Bedeutung. In den letzten Jahren wurden mehrere biosensorbasierte Techniken zum Nachweis spezifischer Biomarker wie nicht codierende RNAs entwickelt [10, 11]. Elektrochemische, optische und elektromechanische Biosensoren wurden ausgiebig für den Nachweis krebsbezogener micRNAs eingesetzt, um den Krebs in einem frühen Stadium zu diagnostizieren [12]. Unter den verschiedenen DNA-basierten Biosensoren bieten elektrochemische Biosensoren aufgrund ihrer Einfachheit, Schnelligkeit, niedrigen Kosten und der Möglichkeit der Miniaturisierung eine hervorragende Möglichkeit für den Nachweis von Biomarkern [13, 14].

Die elektrochemische Messung von miRNA ist empfindlich, schnell, einfach und kostengünstig. Die Immobilisierung der einzelsträngigen (ss-DNA) Sondenmoleküle auf der Wandleroberfläche ist dabei ein entscheidender Schritt bei der Herstellung dieser DNA-Biosensoren [15]. Um einen guten Immobilisierungseffekt und eine hervorragende Nachweisleistung der Biosensoren zu erreichen, werden viele neue funktionale Materialien wie Polymere, ionische Flüssigkeiten und Nanopartikel [16-18] als Biosensorschnittstelle verwendet. Unter diesen sind kohlenstoffbasierte Nanomaterialien aufgrund ihres ultrahohen Oberflächen-Volumen-Verhältnisses, ihrer hervorragenden Leitfähigkeit und ihrer guten biologischen Verträglichkeit besonders vielversprechend. Nanomaterialien auf Graphenbasis haben nachweislich einzigartige Eigenschaften wie ultradünne Dicke, große Oberfläche, hohe Leitfähigkeit und gute Biokompatibilität, was zu Oligonukleotidnachweisen mit verbesserter Leistung führen kann [3]. Graphen selbst kann jedoch aufgrund einiger inhärenter Nachteile wie Hydrophobie, Null-Bandlücke und chemischer Stabilität nicht direkt für den DNA-Nachweis verwendet werden, so dass es modifiziert werden muss, um Verwendung finden zu können.

Zu diesem Zweck wurde Graphenoxid mit Hilfe einer neuartigen Methode unter Verwendung von 5,6-Epoxyhexyltriethoxysilan (EHTES) als Silanisierungsmittel erfolgreich funktionalisiert. Silane werden häufig als Vernetzungsreagenzien für die Immobilisierung von Biomolekülen auf Oxidoberflächen verwendet. Anschließend wurde eine kommerzielle Graphit-Siebdruckelektrode mit dem silanisiertem Graphenoxid beschichtet, so dass jetzt aminomodifizierte ss-DNA-Sondenmoleküle über eine starke kovalente Bindung direkt auf die Epoxid-Terminierung zu angebunden werden können. Anschließend wurde die zum Sondenmolekül komplementäre miRNA mit Hilfe der elektrochemsichen Impedanzspektroskopie (EIS) und der Differentialpulsvoltammetrie (DPV) nachgewiesen. Der Biosensor zeigte eine hohe sub-nanomolare Empfindlichkeit und auch eine große Spezifität, die in der Lage ist, zwischen komplementärer Ziel-miRNA und nicht-komplementärer miRNA zu unterscheiden. Folglich kann das entwickelte Assay als vielversprechende tragbare Plattform für eine schnelle, empfindliche und spezifische markierungsfreie mi-RNA Detektion z.B. für die Krebsfrüherkennung verwendet werden. Das grundlegende Funktionsprinzip des elektrochemischen DNA-Biosensors ist in Abbildung 1 dargestellt.

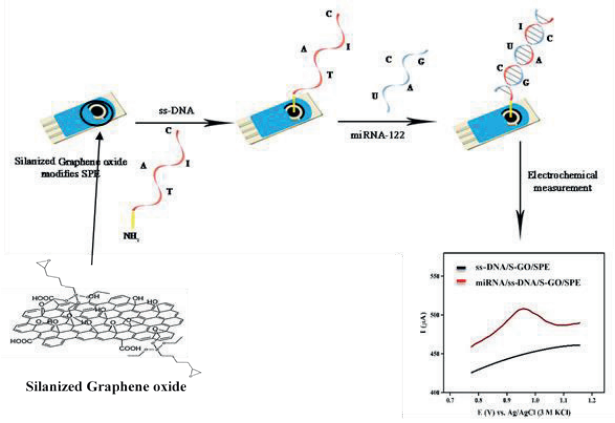


Abb. 1: Illustration eines markierungsfreien elektrochemischen Biosensors zum Nachweis von miRNA-122 auf der Grundlage einer mit ss-DNA modifizierten silanisierten Graphenoxid-Siebdruckelektrode

Methoden und Materialien

Silanisierung von Graphenoxid

In einer typischen Reaktion wurden 40 mg GO in einen Dreihalskolben mit 240 ml Toluol gegeben und 30 Minuten lang mit Ultraschall (im Wasserbad) dispergiert. Danach wurden etwa 5 ml EHTES tropfenweise in die Mischung gegeben. Dann wurde 12 Stunden lang bei 100°C unter Stickstoffatmosphäre gerührt, um die Silanisierung durchzuführen. Das umgesetzte GO wurde 2 bis 3 Mal mit Toluol und 4 bis 5 Mal mit Ethanol gewaschen und anschließend 24 Stunden lang im Vakuumofen bei 60 °C getrocknet. Das so erhaltene funktionalisierte GO-Material wird als S-GO bezeichnet.

Elektrodenvorbereitung

1 mg S-GO wurde in 1 ml Dimethylformamid (DMF) gelöst und 10 Minuten lang im Ultraschallbad suspendiert. 1,5 µl der Suspension von S-GO wurde auf die gereinigte Oberfläche der siebgedruckten Elektroden (SPE) getropft und bei Raumtemperatur getrocknet. Die resultierende funktionalisierte Siebdruckelektrode wird als S-GO/SPE bezeichnet.

Für die Immobilisierung einer inosinmodifizierter ss-DNA (CAAA CAC CAT TIT CAC ACT CCA), die am 3′-Ende mit einem C6-Aminolinker (Eurofins) versehen wurde, wurde eine 30 µM-Lösung der Probe-DNA (1µM) auf die S-GO/SPE-Oberfläche aufgebracht und 4 Stunden im Kühlschrank reagieren gelassen. Anschließend wurde die Elektrode 1 Minute lang mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) gewaschen, um alle nicht gebundenen ss-DNA-Sonden zu entfernen.

Für die Hybridisierung mit dem komplementären Target (UGG AGU GUG ACA AUG GUG UUUG) und dem nicht komplementären miRNA-Let-7-a-Target (UGA GGU AGU AGG UUG UAU AGUU) mit ss-DNA/S-GO/SPE wurde die Elektrode in 1,0x Saline Natriumcitrat (SSC)-Puffer mit 1 µM miRNA-122 90 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubiert (miRNA-122/ssDNA/S-GO/SPE). Anschließend wurde die Elektrode 1 Minute lang in 0,1x SSC-Puffer gewaschen, um unspezifische Bindungen zu entfernen, und anschließend wurden die impedimetrischen Messungen durchgeführt [19]. Das gleiche Verfahren wurde für die nicht-komplementäre Sequenz angewandt.

Der Guanin-Oxidationsstrom wurde mittels in 0,1 M PBS (pH 7,4) mit dem PalmSense4 Potentiostat/Galvanostat gemessen.

Impedimetrische Messungen wurden in Gegenwart von 0,1 M KCl mit 2,5 mM $K_3[Fe(CN)_6]$ und 2,5 mM $K_4[Fe(CN)_6]$ (1:1) als Redox-Sonde durchgeführt. Die Impedanz wurde im Frequenzbereich von 100 mHz bis 100 kHz bei einem Potential von +0,24 V mit einem sinusförmigen Signal von 5 mV gemessen. Das Frequenzintervall wurde in 78 logarithmisch äquidistante Messpunkte unterteilt. Die Randles-Schaltung wurde als Ersatzschaltungsmodell für die Anpassung der Impedanzdaten verwendet. Die Elemente der Randles-Schaltung wurden mit dem Anpassungsprogramm PSTrace 5.8 berechnet. Sie setzten sich aus dem Lösungswiderstand (Rs), der Kapazität (Q), dem Ladungstransferwiderstand (Rct) und der Warburg-Impedanz (W) zusammen. Der jeweilige Halbkreisdurchmesser entspricht dem Ladungstransferwiderstand Rct.

Ergebnisse

Abbildung 2 zeigt die elektrochemische Reaktion von ss-DNA/S-GO/SPE, miRNA-122/ss-DNA/S-GO/SPE und miRNA-Let7-a/ss-DNA/S-GO/SPE in 0,1 M PBS pH 7,4 und einer Scanrate von 0,5 vs^{-1}.

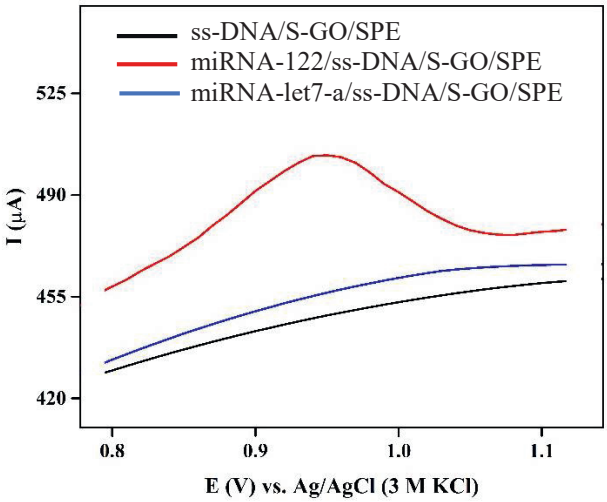


Abb 2: DPVs von ss-DNA/S-GO/SPE, miRNA-122/ss-DNA/S-GO/SPE und miRNA-let7-a/ss-DNA/S-GO/SPE in PBS 0,1 M pH 7,4. Scanrate: 50 mv/s

Im Vergleich zu anderen elektrochemischen Methoden kann die elektrochemische EIS mehr Informationen über die Grenzflächeneigenschaften von oberflächenmodifizierten Elektroden liefern [21]. Das Impedanzspektrum besteht aus zwei Teilen, der erste Teil

ist ein Halbkreis, der bei höheren Frequenzen aufgezeichnet wird und dem Elektronentransfer entspricht, der zweite Teil ist linear und wird bei niedrigen Frequenzen aufgezeichnet, was auf den Diffusions- und Begrenzungsschritt des elektrochemischen Prozesses zurückzuführen ist. Der Halbkreisdurchmesser entspricht dem R_{ct} und kann für die Oberflächencharakterisierung der Elektrode verwendet werden; sein zunehmender Wert zeigt die Immobilisierung von isolierenden Molekülen auf der Elektrodenoberfläche an.

Abbildung 3 zeigt die Nyquist-Diagramme, die nach jedem Schritt bei der Konstruktion des Biosensors (SPE, S-GO/SPE, ss-DNA/S-GO/SPE und miRNA/ss-DNA/S-GO/SPE) erhalten wurden.

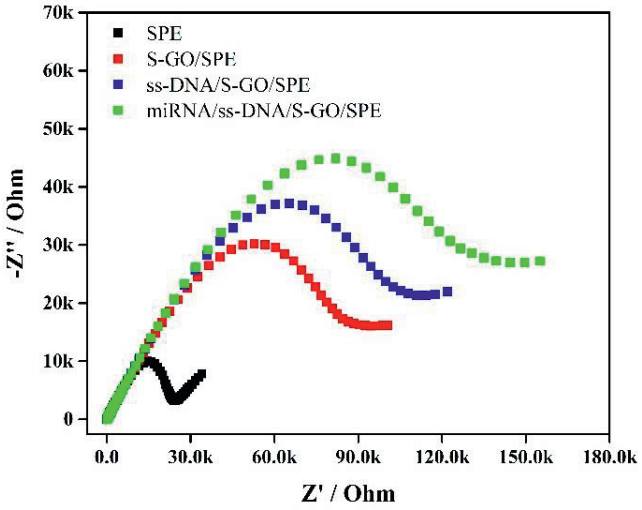


Abb 3: Nyquist-Plots während der Herstellung der Biosensorschicht und nach der Hybridisierung mit 1 µM miRNA-21. Redox-Marker: 2.5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ mit 0,1 M KCl; Frequenzbereich: 10 KHz bis 10 mHz; Potentialamplitude: 5 mV; Arbeitspotential: 0,24 V

Diskussion

In Abb. 2 zeigt Ss-DNA/S-GO/SPE keinen spezifischen Spitzenstrom. Nach der Hybridisierung mit miRNA-122 erschien der Spitzenstrom bei 0,95 v, was auf die Oxidation von Guanin auf miRNA-122/ss-DNA/S-GO/SPE zurückzuführen ist und die erfolgreiche Herstellung des Biosensors beweist [20]. Die Selektivität des vorgeschlagenen miRNA-Biosensors wurde durch eine Vergleichsstudie mit der nicht komplementären ZielmikroRNA-let7-a. MicroRNA-let7-a/ssDNA/S-GO/SPE zeigte keinen signifikanten Spitzenstrom in 0,1 M PBS pH 7. Dieses Ergebnis zeigt, dass der vorgeschlagene Biosensor selektiv für die Unterscheidung der komplementären miRNA-122 von anderen unspezifischen Sequenzen ist. Außerdem konnten unspezifische Sequenzen die genaue Bestimmung von miRNA-122 in realen Proben nicht beeinflussen.

Wie in Abbildung 3 gezeigt führte die Einführung von S-GO in SPE führte aufgrund der blockierenden Wirkung der Sauerstoffgruppen und der elektrostatischen Abstoßung mit dem Redoxmarker zu der erwarteten Erhöhung von R_{ct}.

Sobald das DNA-Sondenmolekül an S-GO/SPE immobilisiert ist, erhöht sich R_{ct} aufgrund der blockierenden Wirkung der nichtleitenden Nukleinsäureschicht und der elektrostatischen Abstoßung des Redox-Markers mit dem negativ geladenen Ribose-Phosphat-Grundgerüst der DNA. Bei der Hybridisierung mit 1 µM miRNA-122 kommt es zu einem erheblichen Anstieg von R_{ct} aufgrund der Zunahme der elektrostatischen Abstoßung zwischen der Redox-Sonde und der höheren negativen Ladungsdichte als Folge der Oberflächen-Heteroduplexbildung [22].

Zusammenfassend wurde ein chemisches GO-Silanisierungsprotokoll vorgestellt, das einfach zu handhaben und kostengünstig ist und eine Massenproduktion ermöglicht.. Außerdem wurde ein elektrochemischer Sensor zum Nachweis von miRNA entwickelt. In diesem Zusammenhang wurde ein aminierte ss-DNA-Sondenmolekül auf der Oberfläche einer mit S-GO modifizierten SPE immobilisiert. Die differentielle Pulsvoltammetrie (DPV)-Technik wurde als erfolgreiche Analysemethode zum Nachweis der Guanin-Oxidation infolge der Bildung eines Hybrids zwischen der miRNA und ihrer Inosin-Ersatz-Fangsonde verwendet, die auf der Oberfläche der ss-DNA/S-GO/SPE immobilisiert ist. Außerdem wurde eine zerstörungsfreie EIS-Technik entwickelt, die qualitativ hochwertige Daten auf der Grundlage des Elektronentransfers an der Biosensoroberfläche liefert und als zuverlässige Plattform für den miRNA-Nachweis mit hoher Selektivität und Empfindlichkeit eingesetzt wird.

Literatur

[1] Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R.L., Torre, L.A. and Jemal, A.: Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. In: *CA: a cancer journal for clinicians* 68 (2018), Nr. 6, S. 394–424.

[2] Strimbu, K.; Tavel, J. A.: What are biomarkers? In: *Current opinion in HIV and AIDS* 5 (2010), Nr. 6, S. 463–466.

[3] Wu, X.; Mu, F.; Wang, Y.; Zhao, H.: Graphene and Graphene-Based Nanomaterials for DNA Detection: A Review. In: *Molecules (Basel, Switzerland)* 23 (2018), Nr. 8.

[4] Gong, J.; He, X.-X.; Tian, D.-A.: Emerging role of microRNA in hepatocellular carcinoma (Review). In: *Oncology letters* 9 (2015), Nr. 3, S. 1027–1033.

[5] Bartel, D. P.: MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. In: *Cell* 136 (2009), Nr. 2, S. 215–233.

[6] Peng, Y. ; Croce, C. M.: The role of MicroRNAs in human cancer. In: *Signal Transduction and Targeted Therapy* 1 (2016), Nr. 1, S. 15004.

[7] Torres, A. G.; Fabani, M. M.; Vigorito, E.; Gait, M. J.: MicroRNA fate upon targeting with anti-miRNA oligonucleotides as revealed by an improved Northern-blot-based method for miRNA detection. In: *RNA (New York, N.Y.)* 17 (2011), Nr. 5, S. 933–943.

[8] Luo, X.; Shen, S.; Yi, S.; Hu, J.; Sun, Y. ; Gao, K. ; Zhu, L.: Screening of differentially expressed miRNAs in tensile strain-treated HepG2 cells by miRNA microarray analysis. In: *Molecular medicine reports* 21 (2020), Nr. 6, S. 2415–2426.

[9] Jung, S.; Kim, W. J.; Kim, B. K.; Kim, J.; Kim, M. J. ; Kim, K. P. ; Kim, S. K.: In-particle stem-loop RT-qPCR for specific and multiplex microRNA profiling. In: *Biosensors & bioelectronics* 163 (2020), S. 112301.

[10] Rafiee-Pour, H.-A.; Behpour, M.; Keshavarz, M.: A novel label-free electrochemical miRNA biosensor using methylene blue as redox indicator: application to breast cancer biomarker miRNA-21. In: *Biosensors & bioelectronics* 77 (2016), S. 202–207.

[11] Mujica, M. L. ; Gallay, P. A. ; Perrachione, F. ; Montemerlo, A. E. ; Tamborelli, L. A. ; Vaschetti, V. M. ; Reartes, D. F. ; Bollo, S. ; Rodríguez, M. C. ; Dalmasso, P. R. ; Rubianes, M. D. ; Rivas, G. A.: New trends in the development of electrochemical biosensors for the quantification of microRNAs. In: *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 189 (2020), S. 113478.

[12] Dai, Y. ; Han, B. ; Dong, L. ; Zhao, J. ; Cao, Y.: Recent advances in nanomaterial-enhanced biosensing methods for hepatocellular carcinoma diagnosis. In: *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 130 (2020), S. 115965.

[13] Bartosik, M. ; Jirakova, L.: Electrochemical analysis of nucleic acids as potential cancer biomarkers. In: *Current Opinion in Electrochemistry* 14 (2019), S. 96–103.

[14] Rashid, J. I. A. ; Yusof, N. A.: The strategies of DNA immobilization and hybridization detection mechanism in the construction of electrochemical DNA sensor: A review. In: *Sensing and Bio-Sensing Research* 16 (2017), S. 19–31.

[15] Hai, X. ; Li, Y. ; Zhu, Ch. ; Song, W. ; Cao, J. ; Bi, S.: DNA-based label-free electrochemical biosensors: From principles to applications. In: *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 133 (2020), S. 116098.

[16] Falahi, S. ; Rafiee-Pour, H.-A. ; Zarejousheghani, M. ; Rahimi, P. ; Joseph, Y.: Non-Coding RNA-Based Biosensors for Early Detection of Liver Cancer. In: *Biomedicines* 9 (2021), Nr. 8.

[17] El A., M. ; Yammouri, G. ; Mohammadi, H. ; Amine, A. ; Korri-Youssoufi, H.: Electrochemical Biosensors for Detection of MicroRNA as a Cancer Biomarker: Pros and Cons. In: *Biosensors* 10 (2020), Nr. 11.

[18] Fritea, L. ; Banica, F. ; Costea, T. O. ; Moldovan, L. ; Dobjanschi, L. ; Muresan, M. ; Cavalu, S.: Metal Nanoparticles and Carbon-Based Nanomaterials for Improved Performances of Electrochemical (Bio)Sensors with Biomedical Applications. In: *Materials* 14 (2021), Nr. 21, S. 6319.

[19] Suni, I. I.: Impedance methods for electrochemical sensors using nanomaterials. In: *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 27 (2008), Nr. 7, S. 604–611.

[20] Lusi, E. A. ; Passamano, M. ; Guarascio, P. ; Scarpa, A. ; Schiavo, L.: Innovative electrochemical approach for an early detection of microRNAs. In: *Analytical chemistry* 81 (2009), Nr. 7, S. 2819–2822.

[21] Canali, Ch.; Larsen, L. B.; Martinsen, Ø. G.; Heiskanen, A.: Conductometric analysis in bio-applications: A universal impedance spectroscopy-based approach using modified electrodes. In: *Sensors and Actuators B: Chemical* 212 (2015), S. 544–550.

[22] López M., M.; Zhang, Y.; Gutierrez, F.; Bédioui, F. ; Rivas, G.: Non-amplified impedimetric genosensor for quantification of miRNA-21 based on the use of reduced graphene oxide modified with chitosan. In: *Microchemical Journal* 160 (2021), S. 105596.

DOI 10.5162/15dss2021/P3.5

P3.5
Vergleich von Auswertemethoden für quantitative Biomolekulare Interaktionsanalyse

M. Conrad, P. Fechner, G. Proll, G. Gauglitz, Eberhard Karls Universität Tübingen, Tübingen/D

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/P3.6

Ultrasensitiver nicht-enzymatischer Glukosesensor auf der Basis eines nanostrukturierten 3D-Spongin-Atacamit-Komposits

*Sedigheh Falahi, Iaroslav Petrenko, Hermann Ehrlich, Yvonne Joseph, Parvaneh Rahimi**
Instituts für Elektronik- und Sensormaterialien, Fakultät für Werkstoffwissenschaft und Werkstofftechnologie, TU Bergakademie Freiberg, Freiberg/Deutschland
Kontakt: Parvaneh.Rahimi@esm.tu-freiberg.de

Einleitung

Diabetes mellitus ist ein chronisch fortschreitendes Stoffwechselsyndrom und verursacht viele weitere Gesundheitsprobleme. Auf der Grundlage der Daten der Weltgesundheitsorganisation (WHO) und der International Diabetes Federation wird erwartet, dass sich die Zahl der Diabetiker bis zum Jahr 2045 verdoppeln wird [1]. Daher kann eine sorgfältige Behandlung von Diabetes akute Probleme verhindern und das Fortschreiten verzögern. Unter den verschiedenen Verfahren zum Nachweis von Glukose haben elektrochemische (Bio-)Sensoren aufgrund ihrer Vorteile, wie z. B. geringe Kosten, einfache und leichte Bedienung, schnelles Ansprechen und Point-of-Care-Nachweisfähigkeit, große Aufmerksamkeit auf sich gezogen [2]. In den letzten Jahren besteht ein großes Interesse an der Entwicklung enzymfreier elektrochemischer Sensor-Assays, die auf verschiedenen biokompatiblen Metall-Nanostrukturen und deren Oxiden als Katalysatoren für die Elektrooxidation von Glukose basieren. Nicht-enzymatische Glukosesensoren überwinden die Nachteile enzymatischer Glukosesensoren wie schlechte Stabilität/Reproduzierbarkeit, Abbau der Enzymaktivität, komplizierter Immobilisierungsprozess und hohe Kosten [3,4].

Es ist auffällig, dass das Sensormaterial als Elektrokatalysator eine Schlüsselrolle bei der Entwicklung nicht-enzymatischer Glukosesensoren spielt. Daher ist die Entwicklung effizienter Elektrodenmaterialien mit hervorragender katalytischer Aktivität, großer Oberfläche, wünschenswerter Morphologie, Größe, Form und Komposition ein wichtiger Faktor für die Konstruktion nicht-enzymatischer Glukosesensoren [2,5]. Nanomaterialien aus Kohlenstoff (wie Graphen, Kohlenstoff-Nanoröhren) [6,7], Metallen (Au, Zn, Ni, Cu, Pd) [8,9-11], Metalloxiden (ZnO, CuO) [12,13], Legierungen [14,15] (PtPb, AuNi) und Kompositen wurden ausgiebig als Elektrokatalysatoren für die nicht-enzymatische Glukosesensorik genutzt. Nanomaterialien/Kompositen auf Cu-Basis wurden als vielversprechende Kandidaten für die Entwicklung elektrochemischer, nicht-enzymatischer Glukosesensoren anerkannt, da sie kostengünstig sind, eine hervorragende katalytische Aktivität aufweisen, stabil, ungiftig und biokompatibel sind. Unerwünschte elektronische Strukturen von Nanomaterialien/Kompositen auf Cu-Basis mit begrenzter Oberfläche können jedoch zu einem Verlust aktiver Stellen für die Adsorption und Reaktion von Glukose führen, was die elektro-katalytische Kinetik verringert [16]. Um diese Herausforderung zu überwinden und die effektive Oberfläche zu verbessern, können Cu-Nanostrukturen mit zweidimensionalen (2D) Materialien (z.B. Graphen) und der Herstellung von Nanokomplexen [16,17] oder mit dreidimensionalen (3D) Materialien (z.B. Schäumen) und der Entwicklung von nanoporösen Kompositen integriert werden. Im Vergleich zu den verschiedenen regulierten Nanostrukturen sind nanoporöse 3D-Materialien aufgrund ihrer größeren Oberfläche und ihrer einzigartigen elektrochemischen Eigenschaften in letzter Zeit zu attraktiven Elektrokatalysatoren geworden. Die Herstellung solcher mikro- oder nanoporöser Materialien ist jedoch komplex und teuer, um eine kostengünstige Plattform für die Glukose-sensorik zu entwickeln.

Natürliche Polymere bieten eine große Vielfalt an Matrizen für die Entwicklung von biokompatiblen 3D-Kompositen für Sensoranwendungen. In letzter Zeit hat das erneuerbare proteinartige Biopolymer Spongin, das die Hauptstruktur-komponente der Skelettfasern von Badeschwämmen (De-mospongiae: Porifera) darstellt, die Aufmerksamkeit der Gemeinschaft der Biomaterialien und Biomimetiker auf sich gezogen [18,19]. Unter bestimmten Bedingungen kann Spongin mit verschiedenen Metallionen wie Fe, Hg und Cu reagieren und erhält auf diese Weise neue Funktionen, ohne seine ursprüngliche Porosität und einzigartige 3D-Mikro- und Makroarchitektur zu verlieren [20].

Hierin wurde zum ersten Mal ein neuer enzymfreier Sensor für die direkte Messung von Glukose hergestellt und elektrochemisch charakterisiert, der auf der Verwendung eines 3D-Spongin-Atacamit-Komposits (Sp. A) als biokompatibler Katalysator basiert (Abb. 1).

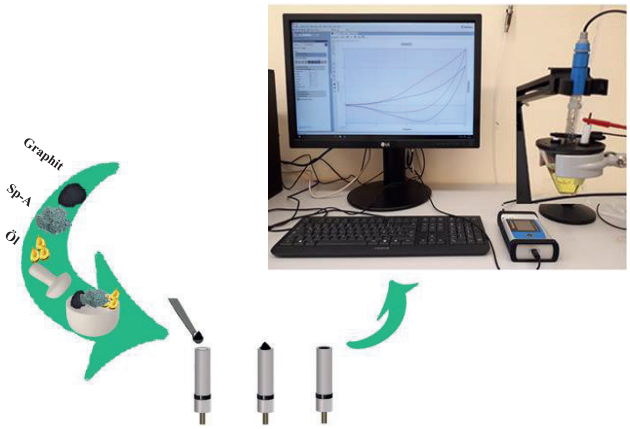


Abb. 1: Schematische Darstellung der Vorbereitung des enzymfreien Sensors und der elektrochemischen Messung.

Methoden und Materialien

Herstellung und Charakterisierung des Spongin-Atacamit-Komposits:

Das Sp. A sowie eine Modell-Kupfer-Ammonium-Lösung wurden nach dem in unserer neueren Arbeit beschriebenen Verfahren hergestellt [20]. Das entwickelte Sp. A wurde bereits mit Hilfe von Röntgenbeugung, Neutrondiffraktion, hochauflösender Transmissionselektronenmikroskopie, Röntgenabsorptions-Feinstrukturspektroskopie an der Nahkante, Röntgen-Photoelektronenspektroskopie und paramagnetischer Elektronenresonanzspektroskopie eingend charakterisiert. Die einzigartige Probe des Atacamit-Mineralstandards (St. A) wurde freundlicherweise von der Mineralogischen Sammlung der TU Bergakademie Freiberg, Deutschland, zur Verfügung gestellt.

Sensor-Herstellung:

Modifizierte Kohlenstoffpastenelektroden (CPEs) als Sensoren wurden durch Mischen von Graphit und Sp. A-Pulver als Modifikator und dann mit Paraffinöl als Binder in verschiedenen Verhältnissen und Mahldauer gründlich in einem Mörser zu einer homogenen Paste verarbeitet. Alle Komponenten wurden homogenisiert, um eine Mischung zu erhalten, die anschließend in einen Kohlenstoffpastenhalter mit einem Innendurchmesser von 2 mm gefüllt wurde. Zum Vergleich wurden eine nackte CPE (Bare CPE) und eine mit Standard-Atacamit-Pulver (St. A) modifizierter CPE auf die gleiche Weise hergestellt.

Elektrochemische Messung

Elektrochemische Untersuchungen wurden mit dem elektrochemischen Analysesystem Palmsens 4 und der herkömmlichen Drei-Elektroden-Konfiguration durchgeführt. Die hergestellten CPEs wurden als Arbeitselektroden verwendet. Eine Ag/AgCl (3 M KCl)-Elektrode und ein Platindraht dienten als Referenz- bzw. Gegenelektrode.

Ergebnisse

Um Informationen über den Elektronentransfer zwischen dem Elektrolyten und der Elektrodenoberfläche zu erhalten, wurden die Grenzflächeneigenschaften von blankem CPE und Sp. A/CPE durch elektrochemische Impedanzspektroskopie (EIS) in Gegenwart des Redoxpaars $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ als elektrochemische Sonde verglichen (Abb. 2).

Zyklische Voltammetriemessungen (CV) wurden zur Evaluierung der katalytischen Leistung der hergestellten Elektro-den für die Glukoseoxidation eingesetzt. Die CV-Kurven von Bare CPE, Sp.A/CPE und St.A/CPE wurden in 0,1 M NaOH-Lösung ohne und mit 2 mM Glukose aufgenommen (Abb. 3).

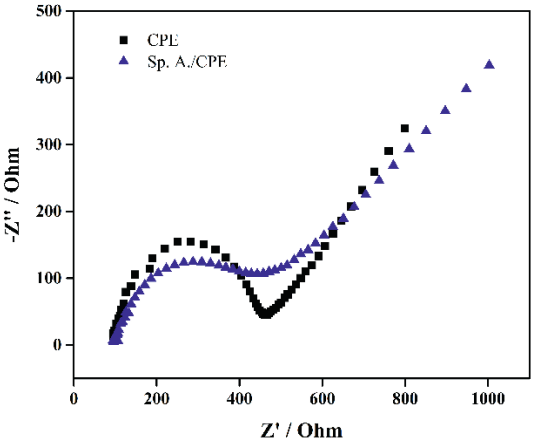


Abb. 2: EIS Ergebnisse von CPE und Sp. A./CPE in einer Lösung von 0.1 M KCl cmit 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$

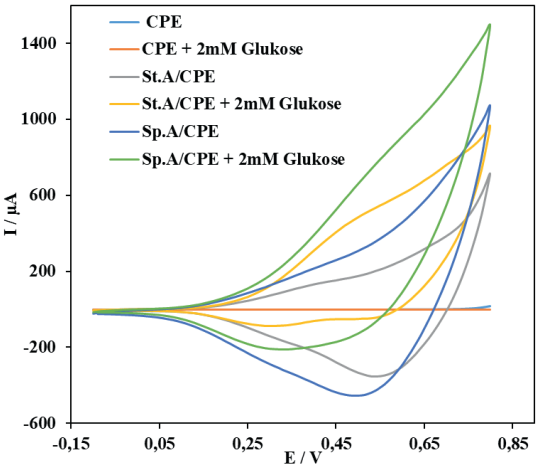


Abb. 3: CVs von CPE, St. A./CPE und Sp. A./CPE in 0,1 M NaOH-Lösung ohne und mit 2 mM Glukose.

Diskussion

Wie Abb. 2 zeigt, wies der Bare CPE im Hochfrequenzbereich einen großen Halbkreis mit einem hohen Elektronentransferwiderstand (470 Ω) auf, was auf das Vorhandensein von nichtleitendem Paraffinöl zurückzuführen ist. Aber die Sp.A/CPE zeigte einen viel kleineren Elektronenübergangswiderstand, was darauf hindeutet, dass Sp.A ein ausgezeichnetes elektrisch leitendes Material zur Beschleunigung des Elektronentransfers ist.

Wie in Abb. 3 gezeigt, wurde mit der unmodifizierten Eelektrode in Gegenwart von Glukose kein Oxidationsstrom erzielt. Im Vergleich dazu zeigten Sp.A/CPE und St.A/CPE ein deutlich verbessertes Stromverhalten bei der Glukoseoxidation. Wie ersichtlich, zeigte Sp.A/CPE eine ausgezeichnete elektrokatalytische Oxidation (ein breiter Oxidationspeak) von Glukose mit einer geeigneteren elektrochemischen Reaktion als St.A/CPE. Dieses Ergebnis

deutet darauf hin, dass das 3D-Spongin-Gerüst eine große Oberfläche für Atacamit-Kristalle bietet und so die schnelle Diffusion von Glukosemolekülen im 3D-Netzwerk und den schnellen Elektronentransfer zwischen Glukose und Atacamit fördert. Breite Reduktionspeaks zwischen +0,45 und 0,55 V wurden dem Cu(II)/Cu(III)-Redoxpaar am Sp.A/CPE bzw. St.A/CPE zugeordnet [13]. Basierend auf früheren Studien ist die Glukoseoxidation stark abhängig von dem Redoxpaar Cu(II)/Cu(III) im alkalischen Medium, das im Potentialbereich von 0,40-0,80 V auftritt, wo der Oxidationspeak für das Cu(II)/Cu(III)-Redoxpaar beobachtet wurde [21-23]. Es wurde vorgeschlagen, dass Cu(II) zu Cu(III) oxidiert und die erzeugten Cu(III)-Spezies (wie CuOOH oder $Cu(OH)^{4-}$) als aktives Oxidationsmittel für die Oxidation von Glukose zu Gluconolacton wirken und nach der Glukoseoxidation zu Cu(II) reduziert werden. Die Oxidationsstufe des Kupfers an der Oberfläche des Sp.A Komposits ist Cu^{2+} [20], so dass die Glucose-Elektrooxidation in NaOH wie folgt erklärt werden kann: während der CV-Messung würde Cu(II) in den Atacamitkristallen auf der Oberfläche des Sponginskeletts zunächst zu Cu(III) oxidiert. Dann oxidiert Cu(III) die Glukose zu Gluconolacton, das schließlich weiter zu Gluconsäure hydrolysiert wird.

Um die Reaktionskinetik der Glukoseoxidation auf der Oberfläche von Sp.A/CPE zu untersuchen, wurden CV-Messungen bei verschiedenen Scanraten in 0,1 M NaOH mit 2 mM Glukoselösung durchgeführt. Das Resultat zeigte, dass der Oxidationsstrom von Glukose linear proportional zur Quadratwurzel der Sweep-Geschwindigkeiten ansteigt, was darauf hinweist, dass die elektrochemische Oxidation von Glukose auf der Oberfläche von Sp.A/CPE diffusionskontrolliert ist [5,21].

Die amperometrische Antwort des Sp.A/CPE auf eine schrittweise Zugabe von Glucose in 0,1 M NaOH bei einem optimalen Potential von 0,60 V wurde ebenfalls untersucht. Das Sp.A/CPE zeigte eine ausgezeichnete Aktivität gegenüber Glukose in einem breiten Konzentrationsbereich mit hoher Empfindlichkeit und einer niedrigen Nachweisgrenze. Dies kann auf die große Oberfläche und die gute kristalline Struktur des porösen 3D-Sp.A-Gerüsts zurückgeführt werden, das eine sehr große Anzahl von Interaktionsstellen für elektrochemische Reaktionen bietet. Dies führt zu einer hohen Leistungsfähigkeit des Glukosesensors.

Darüber hinaus ist die Selektivität eines nicht-enzymatischen Glukosesensors aufgrund der Koexistenz verschiedener oxidierbarer Störfaktoren wie Saccharose, Ascorbinsäure, Harnsäure und Dopamin in realen Proben einer der wichtigsten Parameter für den genauen Nachweis von Glukose. Da die normale Glukosekonzentration im Blut oder Plasma höher ist (3,9 und 7,1 mM) als die störende Spezies (0,1 mM) [24,25], wurden die Selektivität und die Anti-Interferenz-Wirkung des vorbereiteten Sp.A/CPE durch sukzessive Zugabe von 1 mM Glukose und anschließende Zugabe von 0,1 mM der genannten störenden Spezies bewertet. Es wurde festgestellt, dass nach der Zugabe von Glukose in die NaOH-Lösung eine deutliche Stromänderung zu beobachten war, während der Strom der störenden Spezies im Vergleich zur Glukosereaktion ungefähr unwesentlich war.

Um die Leistung der hergestellten Elektrode auf der Basis von Sp.A als praktischer Glukosesensor weiter zu bewerten, wurden andere wichtige Faktoren wie Wiederholbarkeit, Reproduzierbarkeit und Stabilität des Sensors untersucht. Um die Reproduzierbarkeit zu testen, wurden fünf Sp-A/CPEs frisch hergestellt und ihre amperometrischen Reaktionen auf 2 mM Glukose bei +0,6 V untersucht. Die relative Standardabweichung (RSD) betrug 3,56 %, was darauf hindeutet, dass die hergestellten Elektroden sehr gut reproduzierbar sind. Die Wiederholbarkeit von fünf aufeinanderfolgenden Messungen von 2 mM Glukose an einem Sp.A/CPE ergab eine RSD von 2,91 %, was die gute Wiederholbarkeit des hergestellten Sensors bestätigt. Um die Funktionalität des Sensors weiter zu bestätigen, wurde der Langzeitstabilitätstest durch amperometrische Messungen des Sp.A/CPE in Gegenwart von 1 mM Glukose bewertet. Der Strom blieb nach einem Monat bei über 82 % seines ursprünglichen Wertes, was darauf hindeutet, dass der vorgeschlagene Sensor sehr stabil ist. Darüber hinaus wurde die Stromreaktion von Sp.A/CPE in Intervallen von 200 s nach Injektion von 1 mM Glukose aufgezeichnet. Dabei zeigte sich, dass der amperometrische Strom nach einer Testdauer von 2000 s immer noch 96 % seines ursprünglichen Wertes betrug.

Als Zusammenfassung haben wir einen hochleistungsfähigen 3D-Komposit auf der Basis des Biopolymers Spongin und Atacamit entwickelt, der erfolgreich als Sensormaterial für die Herstellung eines einfachen, billigen und zuverlässigen nicht-enzymatischen Glukosesensors verwendet werden kann. Es wurden eine hohe Empfindlichkeit, eine gute Selektivität unter verschiedenen Störfaktoren, eine niedrige Nachweisgrenze, breite Linienbereiche mit hervorragender Stabilität sowie eine günstige Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit erzielt. Diese hervorragende analytische Leistung des Sensors ist auf das einzigartige strukturelle Design des mikroporösen 3D-Spongingerüsts zurückzuführen, das die Aktivität des Atacamits als Elektrokatalysator effizient verbessert. Daher können Glukosemoleküle schnell und einfach in das poröse 3D-Netzwerk diffundieren, was zu einem erleichterten Elektronentransfer zwischen Glukose und Atacamit führt. Da Spongin biotechnologisch kultivierbar ist, kann dieser Sensor als vielversprechender Kandidat für die Entwicklung neuer kommerzieller nicht-enzymatischer Glukosesensoren in großem Maßstab zur Anwendung kommen.

Literatur

[1] Hassan, M.H., Vyas C., Grieve, B., Bartolo, P., *Recent Advances in Enzymatic and Non-Enzymatic Electrochemical Glucose Sensing*, Sensors (Basel, Switzerland) 21 (2021).

[2] He, W., Huang, Y., Wu, J., *Enzyme-Free Glucose Biosensors Based on MoS2 Nanocomposites*, Nanoscale research letters 15 (2020) 60.

[3] Mishra, A.K., Jarwal, D.K., Mukherjee, B., Kumar, A., Ratan, S., Tripathy, M.R., Jit, S., *Au nanoparticles modified CuO nanowire electrode based non-enzymatic glucose detection with improved linearity*, Scientific Reports, (2020) 10:11451.

[4] Wang, L., Jia, S., Wang, N., Cao, X., *Atom-diffusion enhanced electrocatalytic activity toward glucose oxidation on atacamite nanorods*, Int. J. Nanomanufacturing, (2016) 12:298.

[5] Xu, Z., Wang, Q., Li, R., Zhangsun, H., Dong, M., Wang, L., *Surface Selenylation Engineering for Construction of a Hierarchical NiSe2/Carbon Nanorod: A High-Performance Nonenzymatic Glucose Sensor*, ACS applied materials & interfaces 13 (2021) 22866–22873.

[6] Prabhakaran, A., Nayak, P., *Surface Engineering of Laser-Scribed Graphene Sensor Enables Non-Enzymatic Glucose Detection in Human Body Fluids*, ACS Appl. Nano Mater. 3 (2020) 391–398.

[7] Ye, J.-S., Wen, Y., de Zhang, W., Ming Gan, L., Xu, G.Q., Sheu, F.-S., *Nonenzymatic glucose detection using multi-walled carbon nanotube electrodes*, Electrochemistry Communications 6 (2004) 66–70.

[8] Chen, M., Cao, X., Chang, K., Xiang, H., Wang, R., *A novel electrochemical non-enzymatic glucose sensor based on Au nanoparticle-modified indium tin oxide electrode and boronate affinity*, Electrochimica Acta 368 (2021) 137603

[9] Ognjanović, M., Stanković, D.M., Ming, Y., Zhang, H., Jančar, B., Dojčinović, B., Prijović, Ž., Antić, B., *Bifunctional (Zn,Fe)3O4 nanoparticles: Tuning their efficiency for potential application in reagentless glucose biosensors and magnetic hyperthermia*, Journal of Alloys and Compounds 777 (2019) 454–462.

[10] Liu, Y., Teng, H., Hou, H., You, T., *Nonenzymatic glucose sensor based on renewable electrospun Ni nanoparticle-loaded carbon nanofiber paste electrode*, Biosensors & bioelectronics 24 (2009) 3329–3334.

[11] Lu, L.-M., Li, H.-B., Qu, F., Zhang, X.-B., Shen, G.-L., Yu, R.-Q., *In situ synthesis of palladium nanoparticle-graphene nanohybrids and their application in nonenzymatic glucose biosensors*, Biosensors & bioelectronics 26 (2011) 3500–3504.

[12] Ridhuan, N.S., Abdul Razak, K., Lockman, Z., *Fabrication and Characterization of Glucose Biosensors by Using Hydrothermally Grown ZnO Nanorods*, Scientific reports 8 (2018) 13722.

[13] Wang, J., Zhang, W.-D., *Fabrication of CuO nanoplatelets for highly sensitive enzyme-free determination of glucose*, Electrochimica Acta 56 (2011) 7510–7516.

[14] Wang, J., Thomas, D.F., Chen, A., *Nonenzymatic electrochemical glucose sensor based on nanoporous PtPb networks*, Anal. Chem. 80 (2008) 997–1004.

[15] Lee, W.-C., Kim, K.-B., Gurudatt, N.G., Hussain, K.K., Choi, C.S., Park, D.-S., Shim, Y.-B., *Comparison of enzymatic and non-enzymatic glucose sensors based on hierarchical Au-Ni alloy with conductive polymer*, Biosensors & bioelectronics 130 (2019) 48–54.

[16] Jiang, J., Zhang, P., Liu, Y., Luo, H., *A novel non-enzymatic glucose sensor based on a Cu-nanoparticle-modified graphene edge nanoelectrode*, Anal. Methods 9 (2017) 2205–2210.

[17] Phetsang, S., Kidkhunthod, P., Chanlek, N., Jakmunee, J., Mungkornasawakul, P., Ounnunkad, K., *Copper/reduced graphene oxide film modified electrode for non-enzymatic glucose sensing application*, Scientific reports 11 (2021) 9302.

[18] Ehrlich H., Wysokowski M., Żółtowska–Aksamitowska S., Petrenko I., Jesionowski T. *Collagens of poriferan origin.* Marine Drugs (2018),16:79.

[19] Jesionowski T., Norman M., Żółtowska–Aksamitowska S., Petrenko I., Yoseph Y., Ehrlich H., *Marine spongin: naturally prefabricated 3D scaffold–based biomaterial*. Marine Drugs; (2018) 16:88;

[20] Tsurkan D., Simon P., Schimpf C., Motylenko M., Rafaja D., Roth F., Inosov D., Makarova A. A., Stepniak I., Petrenko I., Springer A., Langer E., Kulbakov A., Avdeev M., Stefankiewicz A. R., Heimler K., Kononchuk O., Hippmann S., Kaiser D., Viehweger C., Rogoll A., Voronkina A., Kovalchuk V., Bazhenov V.V., Galli R., Rahimi-Nasrabadi M., Molodtsov S. L., Rahimi P., Falahi S., Joseph Y., Vogt C., Vyalikh D. V., Bertau M., Ehrlich H. *Extreme Biomimetics: Designing of the first nanostructured 3D spongin-atacamite composite and its application*. Advanced Materials, (2021) 33(30) 2101682.

[21] Sun, S., Sun, Y., Chen, A., Zhang, X., Yang, Z., *Nanoporous copper oxide ribbon assembly of free-standing nanoneedles as biosensors for glucose*, The Analyst 140 (2015) 5205–5215.

[22] Marioli, J.M., Kuwana, T., *Electrochemical characterization of carbohydrate oxidation at copper electrodes*, Electrochimica Acta 37 (1992) 1187–1197.

[23] Zhuang, Z., Su, X., Yuan, H., Sun, Q., Xiao, D., Choi, M.M.F., *An improved sensitivity non-enzymatic glucose sensor based on a CuO nanowire modified Cu electrode*, The Analyst 133 (2008) 126–132.

[24] Karikalan, N., Velmurugan, M., Chen, S.-M., Karuppiah, C., *Modern Approach to the Synthesis of Ni(OH)2 Decorated Sulfur Doped Carbon Nanoparticles for the Nonenzymatic Glucose Sensor*, ACS applied materials & interfaces 8 (2016) 22545–22553.

[25] Chen, Q., Chu, D., Yan, L., Lai, H., Chu, X.-Q., Ge, D., Chen, X., *Enhanced non-enzymatic glucose sensing based on porous ZIF-67 hollow nanoprisms*, New J. Chem. 45 (2021) 10031–10039.

DOI 10.5162/15dss2021/P3.7

P3.7
Photobioelectrochemical cells as potential energy source for low power consumers such as sensors

M. Riedel, G. Göbel, S. Morlock, F. Lisdat, Technical University Wildau, Wildau/D;
A. Zouni, Humboldt University Berlin, Berlin/D

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/P3.8

Novel electrochemical probes used to monitor structure-specific behaviour of oligonucleotides on charged electrode surface

Daniel Dobrovodský[1,2], Aleš Daňhel[1] and Miroslav Fojta[1]

[1]Institute of Biophysics of the CAS, Královopolská 135, 61265 Brno, Czech Republic
[2]Faculty of Science, Masaryk University, Kamenice 753/5, 62500 Brno, Czech Republic
Contact: danield@ibp.cz

Introduction

In the field of DNA structure study, a lot of interest is focused on the alternative DNA conformations known as G-quadruplexes (G4). These four-stranded structural motifs are present in cells as critical regulatory elements and are also of interest as potential targets in cancer therapy or nanotechnology building blocks. G4 are formed in nucleic acid sequences containing tracts of guanines that self-associate into square planar G-quartets stabilised by Hoogsteen hydrogen bonds. Individual G-quartets interact with each other via π-π stacking, and the final G4 structure is further stabilised by the presence of cations in its central cavity [1, 2].

The development of analytical tools for the recognition and study of G4 is of increasing relevance due to the growing interest in non-canonical DNA structures. Electroanalytical methods have been long established as practical tools for studying conformational changes of DNA molecules utilising intrinsic redox, as well as non-faradaic signals of DNA mainly obtained by voltammetry on mercury-based electrodes [3]. For example, the structural transition between double- and single-stranded DNA can be monitored by differential pulse or square wave voltammetry through a considerable increase of a cathodic peak corresponding to the reduction of nucleobases cytosine and adenine upon denaturation. This increase was attributed to better accessibility of reduction sites of these bases adsorbed at the electrode surface for the reduction in the denatured, single-stranded state.

However, direct electrochemical analysis of short G4-forming oligodeoxynucleotides (ODNs) using a similar approach has proven difficult due to complex electrode processes related to guanine reduction [4, 5].

In this contribution, an alternative methodological approach for the distinction of G4 structure is proposed, based on voltammetric signals of novel electrochemical probes, the cationic metalloporphyrin *meso*-5,10,15,20-tetrakis(4-(*N*-methyl-pyridinium-4-yl)phenyl)porphyrinato copper(II) (Cu-TMPy2PP, Fig. 1a) and 7-(3-nitrophenyl)-7-deazaguanosine triphosphate (dG^{NP}TP, Fig. 1b). on hanging mercury drop electrode (HMDE). Signals of these probes were used to monitor changes of accessible HMDE surface upon adsorption and/or selective desorption of various ODNs. It was shown that ODNs with the propensity to form G4 assemble into less dense layers at the electrode surface and are more prone to desorption by negative applied potential compared to single- and double-stranded ODNs, which can be used for their recognition.

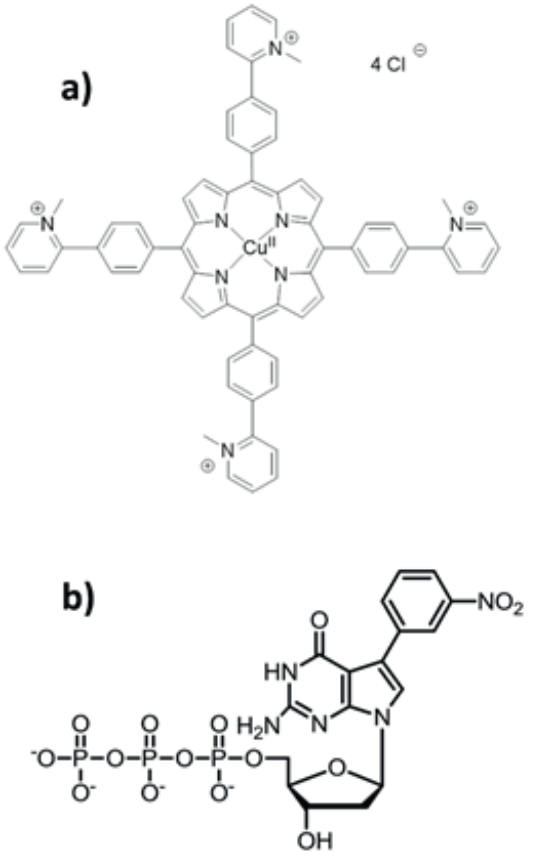


Fig. 1: Structures of the used electrochemical probes Cu-TMPy2PP (a) and dG^{NP}TP (b)

Experimental

Material

Cu-TMPy2PP was synthesised as chloride salt and stored as 100 µM stock solution in DMSO at room temperature. Synthetic ODNs used are listed in Tab. 1. and were purchased from Eurofins Genomics (Germany). T4 polynucleotide kinase was purchased from New England Biolabs (USA). All other chemicals were purchased from Sigma-Aldrich and were of

analytical grade. ODNs were prepared as 1 µM solution in 0.3 M KCl and were denatured at 95°C for 5 min and subsequently slowly cooled down to room temperature to facilitate the formation of possible secondary structures.

Electrochemical methods

Electrochemical measurements were carried out using potentiostat PGSTAT128N controlled by software NOVA 2.1. (Metrohm Autolab) in a standard three-electrode system using HMDE or mercury pool electrode (MPE) as working electrode, Ag/AgCl/3M KCl reference electrode and glassy carbon rod as the auxiliary electrode. Cyclic voltammetry (CV) was performed in the potential window (0.0 V; -1.85 V) unless stated otherwise at scan rate 1 V s^{-1}.

ODNs were adsorbed at HMDE surface from 3 µl of their solution for 60s. Such modified HMDE was then transferred to the solution of base electrolyte (0.05 M sodium phosphate/0.3 M ammonium formate (AFP) buffer pH 6.9) with or without the used electrochemical probe where the analytical CV was performed.

Tab. 1: Sequences of used oligodeoxynucleotides

Name	Length	Sequence
hut-T2	22	$AG_3T_2AG_3T_2AG_3T_2AG_3$
hut-com	22	$C_3TA_2C_3TA_2C_3TA_2C_3T$
odn15	15	$G_3TACG_2CG_3TAC$
odn15-com	15	$GTAC_3GC_2GTAC_3$
T30	30	T_{30}

Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)

PAGE was used to detect any ODNs present in the base electrolyte due to desorption from the electrode surface during the CV scan. The electrolyte solution was collected and desalted using QIAquick spin columns (QIAGEN, Germany). The volume of the samples was further reduced by water evaporation at 95°C. The samples were incubated with T4-polynucleotide kinase and γ-^{32}P-ATP for 30 min at 37°C, resulting in 5'-^{32}P labelling of the ODNs. The samples were loaded on 12.5% polyacrylamide gel in 1x TBE buffer, separated for 45 min at 150 V and visualised by autoradiography.

Results and discussion

Use of Cu-TMPy2PP as an electrochemical probe

Using cyclic voltammetry (CV) under present conditions, Cu-TMPy2PP produces two cathodic peaks at −0.95 V and −1.21 V at bare HMDE surface. When HMDE surface is first covered in adsorbed ODNs and left to incubate for 60 s in Cu-TMPy2PP solution in AFP buffer before the CV measurement, the peak at −0.95 V (labelled peak I) undergoes a potential shift by approximately 0.2 V towards more negative potentials. This shift reflects the change in charge transfer properties when Cu-TMPy2PP is reduced through the layer of adsorbed ODNs compared to the bare electrode surface. However, this shift was observed in the

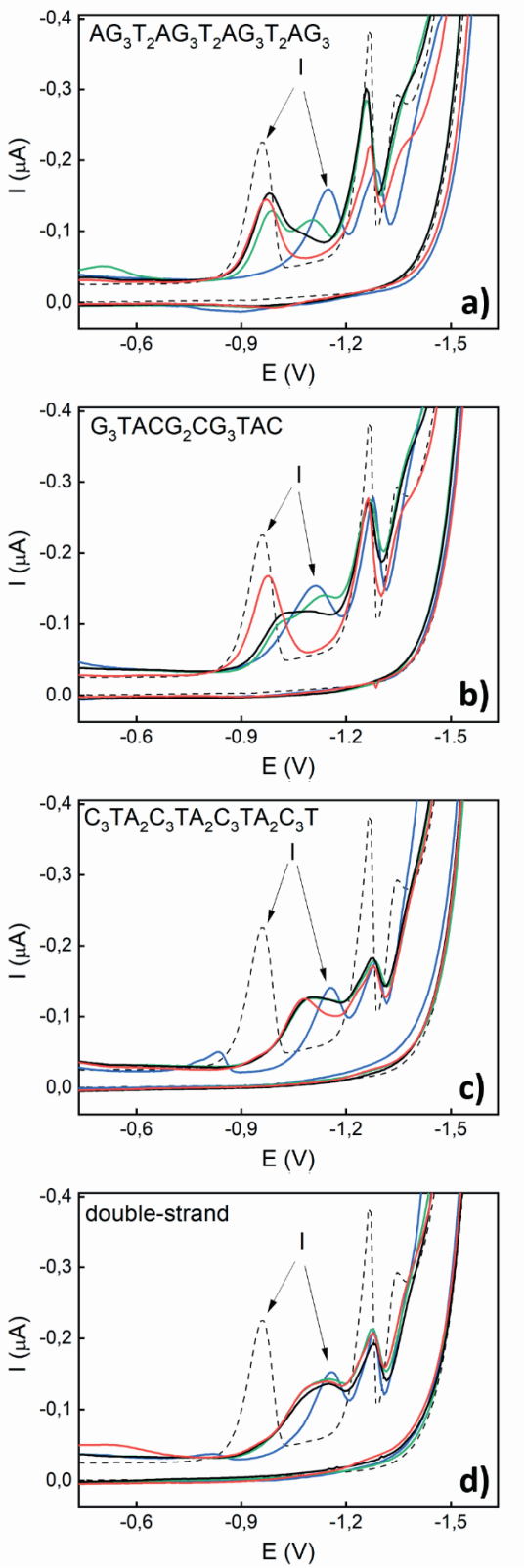


Fig. 2: CV of 0.4 µM Cu-TMPy2PP in AFP buffer measured at bare HMDE (dash line) or with adsorbed: hut-T2 (a), odn15 (b), hut-com (c) and hut-ds (d) after: 0 (blue), 0.5 (green), 1 (black) and 3 (red) potential cycles from 0.0 V to −1.85 V performed in clean AFP buffer before measurement.

same extent for all ODNs studied, and while the height of peak I differed for individual ODNs, it was found not to be structure-specific [6].

When the G4-forming ODNs hut-T2 and odn15 adsorbed on the HMDE surface are subjected to potential cycling in the potential window from 0.0 V to −1.85 V in clean AFP buffer before the transfer of thusly treated electrode to Cu-TMPy2PP solution, the peak I observed in the subsequent CV measurement gradually shifts with the increasing number of the applied potential cycles to the position corresponding to Cu-TMPy2PP reduction on bare HMDE (Fig. 2a). However, this effect was not observed when the described procedure was performed with single-stranded ODNs hut-com (Fig. 2c) or odn15-com (not shown). The double-stranded ODN hut-ds (obtained by mixing equimolar amounts of the complementary strands hut-T2 and hut-com) also did not exhibit the described behaviour (Fig. 2d). This behaviour appears to be characteristic for G4 and can be attributed to higher proneness of these structures to desorption in the highly negative potential region during the potential cycling. G4 are most likely adsorbed by the single-stranded regions in loops and overhangs [7]. Therefore, their adsorption is notably weaker compared to the linear structural forms. With the increasing number of potential cycles, more G4 ODNs are desorbed, and consequently, more space is exposed on the HMDE surface for direct reduction of Cu-TMPy2PP. This is reflected in the gradual shift of peak I.

Use of dG^{NP}TP as an electrochemical probe

The modified nucleotide dG^{NP}TP used as an electrochemical probe can provide higher sensitivity to changes of the ODN-modified surface of the HMDE compared to Cu-TMPy2PP due to its smaller size and minimal interaction with the adsorbed ODNs.

This compound offers a single reduction peak of the nitro group at −0.47 V. Coverage of HMDE with ODNs causes a decrease of this signal compared to bare HMDE since the access of dG^{NP}TP to the electrode surface is hindered (grey bars vs black bar in Fig. 3). The observed decrease is more significant for single-stranded ODNs hut-com and odn15-com compared to the G4-forming hut-T2. This suggests that a denser adsorbed layer is formed by the single-stranded ODNs. Exposure of ODN-modified HMDE to potential cycling before transfer to the solution of dG^{NP}TP causes an increase of the signal with increasing vertex potential of the cycling from −1.30 V to −1.90 V (white bars in Fig. 3). This increase is gradual for single-stranded ODNs through the whole studied range of vertex potentials. Still, in the case of G4-forming ODNs, a sharp increase was observed between vertex potentials −1.70 V and −1.80 V, suggesting extensive, structure-specific desorption of G4 at potentials more negative than −1.70 V and confirming the results obtained with Cu-TMPy2PP. Nevertheless, using the more sensitive probe dG^{NP}TP, it was shown that even the single-stranded ODNs are desorbed to a lesser degree. The described differences in surface behaviour of ODNs could not be detected by the commonly used redox probe $[Ru(NH_2)_6]Cl$, which due to its small size, was insensitive to the surface changes related to ODN adsorption and desorption.

Homo-ODN T30 behaves like G4 forming ODNs

The homothymidine 30-mer T30 is expected to be in an unstructured single-stranded state in solution, which was also confirmed by spectral data [8]. However, its behaviour on the electrode surface observed

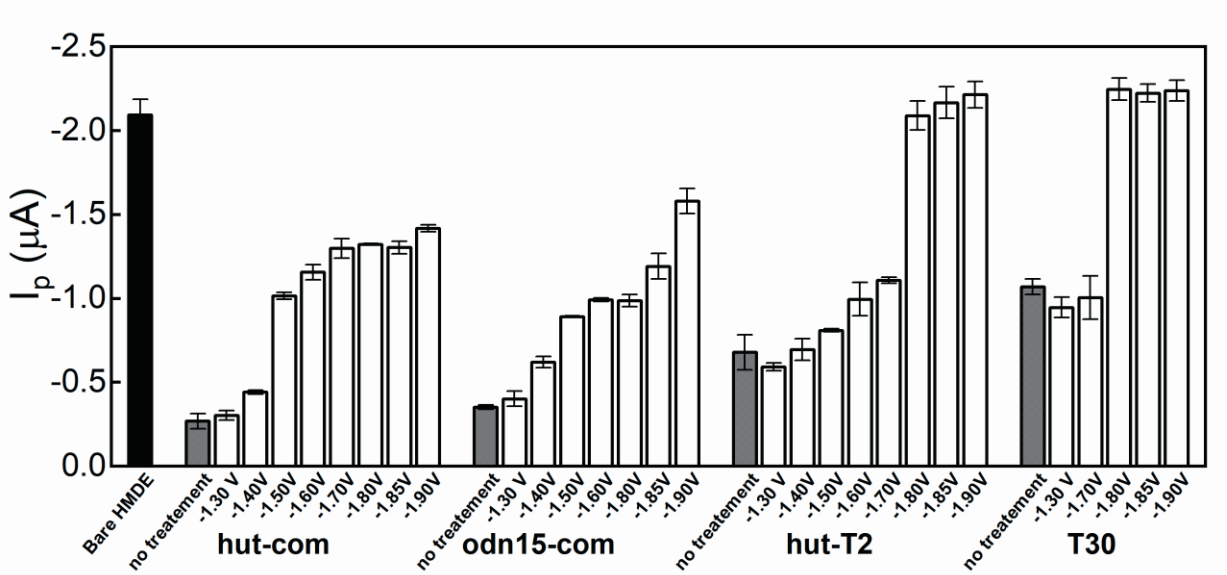


Fig. 3: Peak height of 50 µM dG^{NP}TP measured with bare HMDE (black), with HMDE modified with individual ODNs with no treatment (grey) or after three potential cycles with vertex potentials labelled on the x-axis (white) performed in clean AFP buffer before measurement.

in this work is unlike the other tested single-stranded sequences and is instead very similar to the G4-forming ODNs. An example of this is shown in Fig. 3, which indicates that T30, like the G4-forming hut-T2, forms more permeable layers than the single-stranded ODNs and undergoes significant desorption between −1.70 V and −1.80 V.

Since a formation of a folded conformation similar to G4 in T30 in solution is unlikely, the cause of this peculiar behaviour remains unclear. It is probably related to the interaction of T30 with HMDE surface, where the formation of covalently linked T-Hg-T base pairs is possible [9]. This possibility will be investigated more in the future.

Detection of desorbed ODNs in base electrolyte

In order to confirm that the above-described effects were caused by structure-specific desorption of ODNs from the electrode surface, the desorbed ODNs were successfully detected in the AFP buffer solution after potential cycling. The detection was done by the highly sensitive radioactive labelling of ODNs by ^{32}P in combination with native PAGE (Fig. 4). Because the amount of ODNs desorbed from a single HMDE was expected to be very low, a mercury pool electrode (MPE) with a significantly bigger surface on which a larger amount of ODNs can be adsorbed was used as the working electrode.

When three potential cycles were performed between −0.00 V and −1.85 V, even the single-stranded ODN hut-com was detected in the base electrolyte, although in considerably lesser quantity compared to hut-T2 and T30. These observations agree with the results obtained with the probe dG^{NP}TP, which also showed partial desorption of hut-com by potential cycling. Furthermore, from the selected ODNs, the highest quantity was determined for T30, which further demonstrate its curious G4-like behaviour in the adsorbed state.

Conclusion

In this contribution, a method for studying ODN structures in adsorbed state at HMDE was developed, based on their relative strength adsorption using selected electrochemical probes Cu-TMPy2PP and dG^{NP}TP. ODNs with the propensity to form the G4 structure were shown to be significantly more prone to desorption from the HMDE surface at highly negative potentials compared to single- or double-stranded ODNs. Additionally, unique behaviour of homo-ODN T30 was shown, similar to that of G4-forming ODNs and which will be studied more in the future. The obtained results confirmed the perspective application of novel electrochemical probes in the studies of ODN secondary structures (specifically G4 formation) in adsorbed state and can be utilised in the future development of analytical tools for the study of DNA structures.

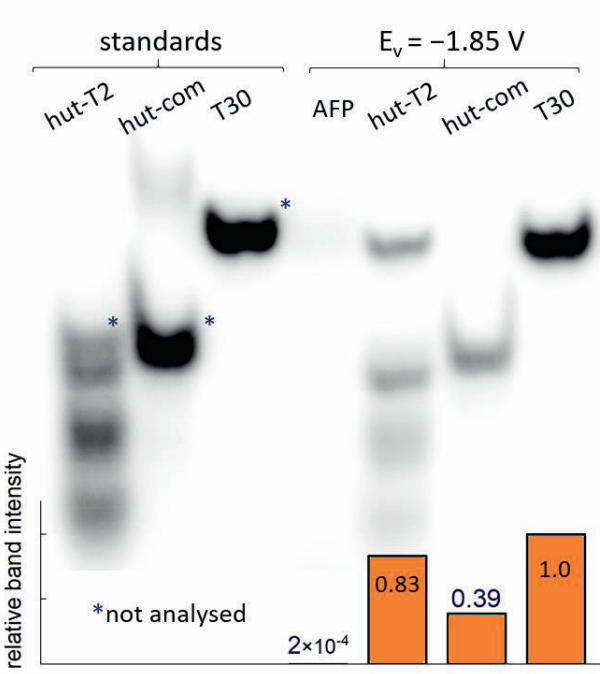


Fig. 4: Native PAGE of selected ODNs desorbed from MPE surface during three potential cycles with vertex potential (E_v) = −1.85 V, cycling with bare MPE in AFP buffer was used as negative control (lane AFP). Intensities of the analysed bands are evaluated below the autoradiogram normalised for the highest intensity (T30).

Acknowledgement

This work was supported by the project SYMBIT reg. no.:CZ.02.1.01/0.0/0.0/15_003/0000477 funded from European Regional Development Fund (EFRD). Cu-TMPy2PP used in this study was kindly donated by Prof. G. Pratviel (Laboratories of Coordination Chemistry, CNRS, Toulouse, France) and dG^{NP}TP by Prof. M. Hocek (Institute of Organic Chemistry and Biochemistry of the CAS, Prague, Czech Republic).

References

[1] SPIEGEL, J. ; ADHIKARI, S. ; BALASUBRAMANIAN, S.: The Structure and Function of DNA G-quadruplexes. In: *Trends Chem* 2 (2020), Nr. 2, S. 123–136

[2] NEIDLE, S. ; BALASUBRAMANIAN, S.: *Quadruplex Nucleic Acids.* Royal Society of Chemistry., 2006

[3] PALECEK, E. ; BARTOSIK, M.: Electrochemistry of Nucleic Acids. In: *Chem Rev* 112 (2012), Nr. 6, S. 3427–3481

[4] RIMANKOVA, L. ; HASON, S ; DANHEL, A. ; FOJTA, M. ; OSTATNA, V.: Catalytic and redox activity of nucleic acids at mercury electrodes: Roles of nucleobase residues. In: *J Electroanal Chem* 858 (2020), S. 113815

[5] DANHEL, A. ; HAVRAN, L ; TRNKOVA, L. ; FOJTA, M.: Hydrogen evolution facilitates reduction of DNA guanine residues at the hanging mercury drop electrode: Evidence for a chemical mechanism. In: *Electroanalysis* 28 (2016), Nr. 44, S. 2785-2790

[6] DOBROVODSKY, D. ; DANHEL, A. ; MOTHES-MARTIN, E. ; PRATVIEL, G. ; MERGNY, J.-L. ; FOJTA, M.:

Voltammetric studies of selected porphyrin G-quadruplex ligands and their interaction with DNA in solution and at the mercury electrode surface. In: *Electrochem Acta* 394 (2021), S. 139151

[7] VIDLAKOVA, P. ; PIVONKOVA, H. ; KEJNOVSKA. I. ; TRNKOVA, L. ; VORLICKOVA, M. ; FOJTA, M. ; HAVRAN, L.: G-quadruplex-based structural transitions in 15-mer DNA oligonucleotides varying in lengths of internal oligo(dG) stretches detected by voltammetric techniques. In: *Anal Bioanal Chem* 407 (2015), Nr. 19, S. 5817-5826

[8] KEJNOVSKA, I. ; KYPR, J. ; VORLICKOVA M.: Oligo(dT) is not a correct native PAGE marker for single-stranded DNA. In: *Biochem Biophys Res Commun* 353 (2007), Nr. 3, S. 776-779

[9] MIYACHI, H. ; MATSUI, T. ; SHIGETA, Y. ; KIMIHIKO, H.: Effects of mercury(II) on structural properties, electronic structure and UV absorption spectra of a duplex containing thymine-mercury(II)-thymine nucleobase pairs. In: *Phys Chem Chem Phys* 12 (2010), Nr. 4, S. 909-917

DOI 10.5162/15dss2021/P3.9

Flexibler, amperometrischer Biosensor basierend auf der Seide des Seidenspinners *Bombyx mori*

Denise Molinnus[1,2], Kevin A. Janus[1], Aleksander Drinic[3], Heiko Iken[1], Nadja Kröger[4], Max Zinser[4], Ralf Smeet[5], Marius Köpf[3], Alexander Kopp[3], Michael Keusgen[6], Michael J. Schöning[1,7]

[1]Institut für Nano- und Biotechnologien (INB), FH Aachen, Jülich, Deutschland
[2]Klinik für Operative Intensivmedizin und Intermediate Care, Innovationszentrum Digitale Medizin, Medizinische Fakultät RWTH Aachen, Aachen, Deutschland
[3]Fibrothelium GmbH, Aachen, Deutschland
[4]Abteilung für plastische, rekonstruktive und ästhetische Chirurgie, Universitätskrankenhaus Köln, Köln, Deutschland
[5]Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, Abteilung für regenerative orofaziale Medizin, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Deutschland
[6]Institut für Pharmazeutische Chemie, Philipps Universität Marburg, Marburg, Deutschland
[7]Institut für Biologische Informationsprozesse (IBI-3), Forschungszentrum Jülich, Jülich, Deutschland
Kontakt: molinnus@fh-aachen.de

Einleitung

Biokompatible und biodegradierbare Materialien haben ein enormes Einsatzpotential im Bereich der Medizintechnik, z.B. bei der Entwicklung von biomedizinischen Sensoren, Drug Delivery-Sytemen oder beim Tissue Engineering [1]. Auf Grund ihrer einzigartigen Charakteristika, d.h. insbesondere die gute mechanische Stabilität bei gleichzeitig geringem Risiko einer Auslösung von Entzündungsreaktionen im Körper, ist bei vielen medizinischen Fragestellungen die Verwendung eines solchen Materials von hohem Interesse.
Ein vielversprechender Ansatz für die Entwicklung eines Biosensors für den Einsatz in der Medizin ist die Verwendung von Seide des Seidenwurms *Bombyx mori*. Seide ist eine altbekannte tierische Naturfaser, die durch ihre einstellbare biologische Abbaubarkeit und ihre herausragenden mechanischen Eigenschaften eine Renaissance in der modernen Technik erfahren hat [2]. Das Fibroinprotein ist wasserlöslich und kann daher in verschiedenen Strukturen (z.B. als Schwamm, Membran, Gel, Pulver) hergestellt werden [3]. Der Degradationsprozess der Seide ist unter anderem von der Architektur und der Morphologie der regenerierten Proteinstrukturen abhängig und wird über proteolytische Enzyme wie Kollagenase, Keratinase und Elastase gesteuert [4–6].
In der Literatur werden bereits verschiedene Sensoren basierend auf Seidenfibroin beschrieben. Mittels Graphen-Elektrode, aufgebracht auf einem Zahn, konnten beispielsweise *Staphilococcus aureus*-Infektionen und andere Bakterien nachgewiesen werden [2].
In dieser Arbeit wurde ein „Proof-of-Concept"-Biosensorexperiment erarbeitet, um das zukünftige Potential der seidenbasierten Sensorik zu verdeutlichen: Durch die geschickte Kombination von Dünnschicht- und Dickschichttechnologien, zur Herstellung von Platin-Arbeits- und Platin-Gegenelektroden bzw. Ag/AgCl-Quasi-Referenzelektroden, wurden flexible Biosensoren auf Basis von biologisch abbaubarem Seidenfibroin entwickelt. Die Sensoren, verkapselt in biokompatiblem Silikon, wurden am Beispiel eines Glukosebiosensors mit dem Enzym Glukose-Oxidase untersucht. Die Funktionsfähigkeit des Sensors konnte durch erfolgreiche Glukosemessungen in Puffer- und in Ringerlösung demonstriert werden. Degradationstests des Fibroinsubstrats mit Platin-Elektroden wurden ebenfalls durchgeführt.

Methoden und Materialien

Für die Herstellung des Fibroinsubstrats wurden Seiden-Kokons (*Bombyx mori*) zur Proteinextraktion (Cantiere della Provvidenza, Italy) genutzt. Glycerin und Ethanol wurden von VWR International (Belgien) gekauft. Natriumcarbonat wurde von AppliChem GmbH (Deutschland) erworben und Calciumchlorid von Merck KGaA (Deutschland).
Zur Herstellung der Enzymmembran mittels Quervernetzer wurde Glutaraldehyd, Rinderserum-Albumin (BSA), Glycerin, das Enzym Glukose-Oxidase (GOX, EC 1.4.4., von *Aspergillus niger*) sowie die Pufferkomponenten (Mononatriumphosphat und Dinatriumphosphat) von Sigma-Aldrich (USA) bestellt. Ringerlösung (8,6 g/L NaCl, 0,3 g/L KCl, 0,33 g/L $CaCl_2 \cdot 2H_2O$) wurde von Bernburg (Deutschland) gekauft. Zur Herstellung der Quasi-Referenzelektrode wurde eine Ag/AgCl-Paste der Firma DuPont (Großbritannien) erworben. Zur Verkapselung wurde das biokompatible Zweikomponenten-Silikon ECOFLEX 0030 von KauPo Plankenhorn e.K. (Deutschland) gekauft. Diese beiden Komponenten wurden in einem 1:1 Verhältnis gemischt und für 3 min vor Nutzung entgast.
Die detaillierte Herstellung des Fibroinsubstrats kann in [7] nachgelesen werden. Zusammengefasst wurde die 4% (w/v) Fibroinlösung mit Glycerol/Ethanol (50:50 (v/v)) gemischt, um eine 50% Fibroinzusam-

mensetzung zu erhalten. Zur Herstellung der Substratstruktur wurde die Fibroinzusammensetzung auf einem Silizium-Wafer als Träger aufgegossen und für 24 h bei 21 °C getrocknet. Das finale Fibroinsubstrat hatte eine Dicke von 200 µm, auf das dann die Sensorstrukturen abgeschieden werden konnten.
Der Sensorchip, bestehend aus Arbeits-, Referenz- und Gegenelektrode, wurde mittels Dick- und Dünnschichttechnologien hergestellt. Die Platin-Arbeitselektrode und -Gegenelektrode wurden unter Reinraumbedingungen mittels Dünnschichttechnologie prozessiert. Zunächst wurde eine 20 nm Titanschicht mittels Elektronenstrahlverdampfung aufgebracht, gefolgt von einer 200 nm dicken Platinschicht mittels Schattenmaske. Der finale Wafer mit den 15 mm x 15 mm Chips ist in Abb. 1 a) dargestellt. Jeder Sensorchip besteht aus vier Platinelektroden, wobei zwei als Arbeits- und zwei als Gegenelektrode für die amperometrischen Messungen genutzt wurden. Die Platin-Arbeitselektrode wurde mit einer Enzymmembran zur Detektion von Glukose modifiziert. Der Enzymmembrancocktail bestand aus 20 µL Glukose-Oxidase (4 U/µL), 40 µL BSA (10%) und 40 µL Glutaraldehyd (2%)/Glycerin (10%). Alle Komponenten wurden unmittelbar vor Gebrauch zubereitet und in Phosphatpuffer (PBS, 10 mM, pH 7,4) gelöst. Der finale Enzymcocktail wurde mit den folgenden Volumenverhältnissen hergestellt: 1-2-2 (Enzym-BSA-Glutaraldehyd/Glycerin) [8]. Es wurden 4 µL mit 3,2 U GOX des Enzymmembrancocktails auf die Platin-Arbeitselektrode (Durchmesser von 2 mm) pipettiert und für 2 h bei Raumtemperatur getrocknet.

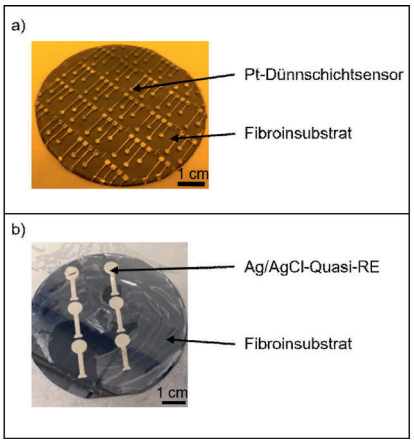


Abb. 1: Lichtmikroskopieaufnahmen a) des 4-Zoll Fibroinsubstrats mit den Platin (Pt)-Dünnschichtelektroden hergestellt mittels Dünnschichttechnologie und b) des 4-Zoll Fibroinsubstrats mit den Ag/AgCl-Quasi-Referenzelektroden hergestellt mittels Dickschichttechnologie.

Die Ag/AgCl-Quasi-Referenzelektrode wurde mittels Dickschichttechnologie hergestellt. Die Ag/AgCl-Paste wurde über eine Schablone auf das Fibroin mittels Dickschichtdrucker (Essemtec AG, Switzerland) gerakelt, wobei Strukturen mit einer Dicke von 20 µm entstanden sind (s. Abb. 1 b)). Die gedruckten Sensoren mussten für 2 h bei 60 °C in einem herkömmlichen Ofen ausgehärtet werden. Jede Quasi-Referenzelektrode (Durchmesser von 7 mm) wurde mittels Skalpell in eine Größe von 10 mm x 20 mm zurechtgeschnitten.
Sowohl die Pt-Arbeits- und -Gegenelektroden als auch die Ag/AgCl-Quasi-Referenzelektroden wurden mittels Kontaktierdrähten mit Silberleitlack (Ferrero GmbH, Deutschland) kontaktiert. Beide Chip-Komponenten, Sensor mit integrierter Arbeits- und Gegenelektrode, sowie die Quasi-Referenzelektrode, wurden mit den jeweiligen Rückseiten aufeinander geklebt (siehe Abb. 2). Hierzu wurde das biokompatible Silikon verwendet. Um die Biokompatibilität des ganzen Biosensorchips zu gewährleisten, wurde, bis auf die Messflächen, der Sensorchip mit dem gleichen biokompatiblen Silikon verkapselt.

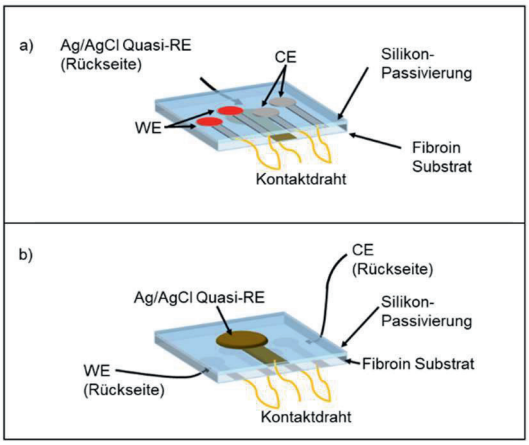


Abb. 2: Schematische Darstellung des biokompatiblen Glukosebiosensors, hergestellt mittels Dünn- und Dickschichttechnologien mit Pt-Arbeits (WE)- und -Gegenelektroden (CE) auf der einen Seite und einer Ag/AgCl-Quasi-Referenzelektrode (RE) auf der anderen Seite.

Zur Charakterisierung des hergestellten Glukosebiosensors mit der Dreielektrodenanordnung, unter der Verwendung von Fibroin als Substrat, wurde der Sensorchip an einen Potentiostaten (PalmSens, Palm Instruments, Niederlande) angeschlossen. Bevor verschiedene Glukosekonzentrationen gemessen wurden, wurde ein Voltammogramm aufgenommen, um das Arbeitspotential im Plateau zu bestimmen. Zur Glukosemessung wurde eine Spannung von +600 mV an die Arbeitselektrode vs. die Ag/AgCl-Referenzelektrode angelegt. Der generierte Strom bei Veränderung der Glukosekonzentrationen wurde in Abhängigkeit von der Zeit aufgenommen. Jede Glukosekonzentration im Bereich von 0,5 mM bis 3 mM wurde unter ständigem Rühren der Substratlösung für 10 min gemessen.

Der Degradationsprozess des Sensorchips wurde unter laminaren Strömungsbedingungen beurteilt. Zunächst wurde jeder Chip unter UV-Licht sterilisiert und jeweils in eine Einzelkammer einer Mikrotiterplatte gelegt. 0,01 g des Enzyms Protease (*Streptomyces griseus*, Type XIV, ≥3,5 U/mg Pulver, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) wurde in 10 mL PBS Puffer (phosphatgepufferte Salzlösungstablette, Biotechnology Grade, VWR International, Radnor, USA) gelöst. Die einzelnen Kammern der Mikrotiterplatte wurden jeweils mit Enzymlösung gefüllt, bis jeder Sensorchip komplett mit Lösung bedeckt war. Die Mikrotiterplatte wurde verschlossen, mit 70%-Ethanol von außen gereinigt und in einen Inkubator (Heracell 150i CO_2 incubator, Thermo Scientific, Waltham, USA) bei 37 °C gelegt. Nach 2, 4 und 10 Tagen wurde die Mikrotiterplatte vorsichtig herausgenommen.

Ergebnisse

Morphologische Charakterisierung der Platinelektrode auf dem Fibroinsubstrat

Die mittels Dünnschichttechnologie hergestellten Pt-Elektroden auf dem Fibroinsubstrat wurden mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM, JEOL JSM-7800 F, Deutschland) charakterisiert. Dabei wurde eine Beschleunigungsspannung von 50 kV angelegt. Abb. 3 a) zeigt die homogene Platinschicht ohne Risse auf dem Fibroinsubstrat. Die Platinstruktur wird zudem bei den EDS-Messungen (Energiedispersive Röntgenspektroskopie, JEOL JSM-7800 F, Deutschland) in Abb. 3 b) sichtbar. Platin ist hier in Magenta eingefärbt und der Kohlenstoff des Fibroinsubstrats in Gelb.

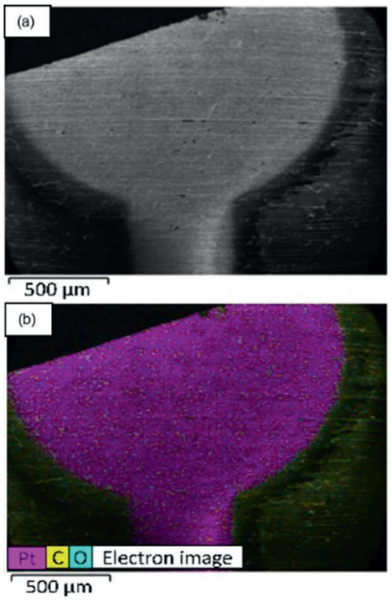


Abb. 3: REM-Aufnahmen der Pt-Arbeitselektrode auf dem Fibroinsubstrat bei einer Vergrößerung von 1000x (a) und das entsprechende EDS-Bild (b).

Elektrochemische Charakterisierung des biokompatiblen Glukosebiosensors

Die Sensitivität des hergestellten biokompatiblen Glukosebiosensors wurde amperometrisch untersucht. Dazu wurden verschiedene Glukosekonzentrationen zwischen 0,5 mM und 3 mM in Phosphatpuffer bei einem pH Wert von 7,4 nacheinander gemessen. Zur statistischen Auswertung wurden diese Messungen drei Mal wiederholt. In Abb. 4 ist exemplarisch eine entsprechende Kalibiergerade in Blau dargestellt. Es konnte eine Sensitivität von 0,2 ± 0,01 µA/mM über den gesamten gemessenen Konzentrationsbereich erreicht werden.
Zusätzlich wurden die Eigenschaften des Sensors überprüft, inwiefern blutähnliche Komponenten einen Einfluss auf die Sensorcharakteristika haben. Dazu wurden die gleichen Glukosekonzentrationen in Ringerlösung (pH 7,4) gemessen, welche analoge Elektrolytkonzentrationen wie Blut enthält. Die entsprechende beispielhafte Kalibiergerade ist ebenfalls in Abb. 4 (schwarze Kurve) zu sehen. Es konnte eine vergleichbare Sensitivität mit 0,16 ± 0,01 µA/mM über den gesamten Messbereich erzielt werden. Die beiden Experimente zeigen, dass der hergestellte biokompatible Glukosebiosensor erfolgreich verschiedene Glukosekonzentrationen messen kann und großes Potential hat, um in realen Proben angewendet zu werden.

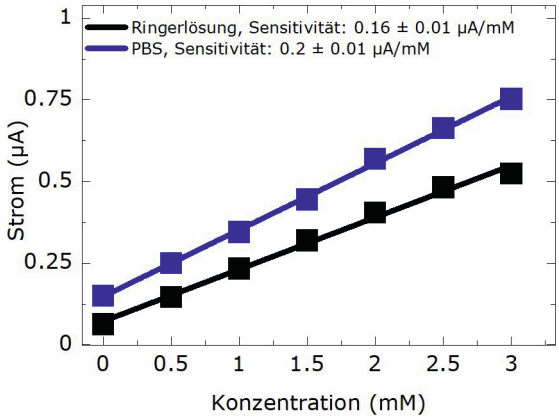


Abb. 4: Kalibiergeraden des biokompatiblen Glukosebiosensors mit dem immobilisierten Enzym GOX gemessen in PBS (blau) und in Ringerlösung (schwarz) mit verschiedenen Glukosekonzentrationen zwischen 0,5 mM und 3 mM. PBS: Phosphatgepufferte Salzlösung.

Beurteilung der Degradation der Platinelektrode abgeschieden auf dem Fibroinsubstrat

Die Degradationstests der Pt-Elektroden (abgeschieden auf dem Fibroinsubstrat) ergaben, dass beide Materialien über einen Zeitraum von 10 Tagen, gelagert in einer Enzym-Pufferlösung, fast vollständig degradieren. In Abb. 5 wird eine lichtmikroskopische

Aufnahme an Tag 0 gezeigt, bei der deutlich die vier Pt-Elektroden auf dem Fibroinsubstrat zu erkennen sind. Die Aufnahme an Tag 10 zeigt hingegen nur noch staubähnliche Partikel.

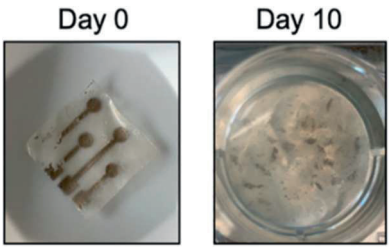


Abb. 5: Degradationstests des Fibroinsubstrats mit den abgeschiedenen Pt-Dünnschichtelektroden über einen Zeitraum von 10 Tagen.

Diskussion

Es wurde ein flexibler biokompatibler Glukosebiosensorchip mit integrierter Pt-Arbeits-, Pt-Gegen- und Ag/AgCl-Quasi-Referenzelektrode beschrieben. Zur Herstellung der Elektrodenstrukturen wurde die Kombination aus Dickschicht- und Dünnschichttechnologien angewendet.

Die Besonderheit des Biosensorchips lag in der Substratstruktur, die aus dem Seidenfibroin des *Bombyx mori* hergestellt wurde. Dieses biokompatible und biodegradierbare tierische Naturprodukt kann künstliche Materialien ersetzen und hat damit ein hohes Potential bei der Herstellung von „Green Electronics“ zur Anwendung beispielsweise in der Lebensmittelindustrie oder bei biomedizinischen Implantaten.

Der entwickelte Glukosebiosensorchip wurde elektrochemisch hinsichtlich seiner Sensitivität charakterisiert. Dazu wurden Glukosekonzentrationen im Bereich von 0,5 mM bis 3 mM in Pufferlösung bei einem pH Wert von pH 7,4, entsprechend dem pH-Wert von Blut, gemessen. Die gleichen Messungen wurden in Ringerlösung wiederholt. Die Sensitivitätswerte zeigen, dass der Biosensorchip gute Voraussetzungen besitzt, um zukünftig in realen Proben, wie zum Beispiel in Blut oder Urin getestet zu werden. Im nächsten Schritt muss der entwickelte Glukosebiosensor weiter verbessert werden, um Glukosekonzentrationen im medizinisch relevanten Bereich nachweisen zu können. Ein Ansatz ist hier die Verbesserung der Enzymmembran, sowie die Immobilisierungsmethode.

Die Degradationstests des Fibroinsubstrats mit integrierten Pt-Dünnschichtelektroden zeigen, dass sich der Sensor nach 10 Tagen fast vollständig aufgelöst hat. Damit schafft der Biosensor gute Voraussetzungen, um im Körper eingesetzt werden zu können.

Zukünftig soll dieser Ansatz weiterentwickelt werden, so dass der Biosensorchip gezielt zu einem bestimmten Zeitpunkt degradiert. Dies wäre bei einem *in-vivo* Einsatz von Vorteil, so dass der verwendete Biosensor nicht zu einem späteren Zeitpunkt wieder operativ entfernt werden müsste.

Literatur

[1] MOHANKUMAR, P., AJAYAN, J., MOHANRAJ, T., YASODHARAN, R., *Recent developments in biosensors for healthcare and biomedical applications: A review.* Measurement, 167 (2021), 108293

[2] ZHU, B., WANG, H., LEOW, W.R., CAI, Y., LOH, X.J., HAN, M.-Y., CHEN, X., *Silk fibroin for flexible electronic devices.* Adv. Mater., 28 (2016), Nr. 22, S. 4250-4265

[3] VEPARI, C., KAPLAN, D.L., *Silk as a biomaterial*. Prog. Polym. Sci., 32 (2007), Nr. 8-9, S. 991-1007

[4] SEVES, A., ROMANO, M., MAIFRENI, T., SORA, S., CIFERRI, O., *The microbial degradation of silk: A laboratory investigation.* Int. Biodeterior., 42 (1998), Nr. 4, S. 203-211

[5] LUCAS, F., SHAW, J.T.B., SMITH, S.G., *The amino acid sequence in a fraction of the fibroin of Bombyx mori. Biochem. J.*, 3 (1957), Nr. 66, S. 468-479

[6] ARAI, T., FREDDI, G., INNOCENTI, R., TSUKADA, M., *Biodegradation of Bombyx mori silk fibroin fibers and films*. J. Appl. Polym. Sci., 91 (2004), Nr. 4, S. 2383-2390

[7] MOLINNUS, D., DRINIC, A., IKEN, H., KRÖGER, N., ZINSER, M., SMEETS, R., KÖPF, M., KOPP, A., SCHÖNING, M.J., *Towards a flexible electrochemical biosensor fabricated from biocompatible Bombyx mori silk*. Biosens. Bioelectron., 183 (2021), 113204

[8] MOLINNUS, D., BÄCKER, M., IKEN, H., POGHOSSIAN, A., KEUSGEN, M., SCHÖNING, M.J., *Concept for a biomolecular logic chip with an integrated sensor and actuator function.* Phys. Status Solidi A, 2012 (2015), Nr. 6, S. 1382-1388

Danksagung

Die Autoren danken D. Rolka für die REM- und EDS-Aufnahmen, sowie S. Fuest, A. Baranowsky, J. Kiesel und S. Woege für deren Unterstützung bei der Durchführung von einzelnen Experimenten.

DOI 10.5162/15dss2021/P3.10

Immobilisierung, physikalische und elektrochemische Charakterisierung von Gold-Nanopartikeln auf kapazitiven Feldeffekt-Sensoren

Tobias Karschuck[1], Corinna Kaulen[1], Arshak Poghossian[2], Patrick Wagner[3], Michael J. Schöning[1,4]

[1]Institut für Nano- und Biotechnologien (INB), FH Aachen, Jülich, Deutschland
[2]MicroNanoBio, Düsseldorf, Deutschland
[3]Laboratory for Soft Matter and Biophysics, KU Leuven, Leuven, Belgien
[4]Institut für Biologische Informationsprozesse (IBI-3), Forschungszentrum Jülich GmbH, Jülich, Deutschland
Kontakt: karschuck@fh-aachen.de

Einleitung

Gold-Nanopartikel (AuNP) sind durch ihre Biokompatibilität, Stabilität, vielseitige Oberflächenchemie, sowie ihr hohes Verhältnis von Oberfläche zu Volumen für viele biomedizinische Anwendungen attraktiv [1]. Ein aktuelles Beispiel dafür ist ihr Einsatz als optische Marker in Covid-19 Antikörper-Schnelltests [2]. Negativ geladene Citrat-stabilisierte AuNP auf der Oberfläche von kapazitiven Feldeffekt-Strukturen wurden u.a. bereits für die markierungsfreie Detektion von positiv geladenen Makromolekülen, als Nanoträger für Desoxyribonukleinsäure (DNA), die schichtweise Abscheidung von Polymeren und die Immobilisierung von Enzymen verwendet [3].

In dieser Arbeit wird die Immobilisierung von positiv geladenen Aminooctanthiol-stabilisierten Gold-Nanopartikeln (AuAOT) auf der Oberfläche von kapazitiven Feldeffekt-Sensoren vorgestellt [4]. Die terminale Aminogruppe der eingesetzten Partikel ist sehr gut für die spätere Funktionalisierung mit Biomolekülen geeignet. Die Anbindung der positiv geladenen AuAOTs auf der Sensoroberfläche konnte durch eine signifikante Verschiebung des Sensorsignals nachgewiesen werden. Bei einer höheren Partikeldichte auf der Sensoroberfläche war die gemessene Signaländerung entsprechend ausgeprägter. Zusätzlich konnte die elektrostatische Anbindung des Polyanions Polystyrolsulfonat an der AuAOT-modifizierten Sensoroberfläche gemessen werden.

Methoden und Materialien

Materialien

Tetrachlorogold(III)-säure-Trihydrat ($HAuCl_4 \cdot 3H_2O$, Thermo Fisher), Trinatriumcitrat-Dihydrat ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$, Merck), Salzsäure (HCl, 37%, Merck), Natriumchlorid (NaCl, Merck), Di-Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$, Merck), Natriumhydroxid (NaOH, Merck), Kaliumchlorid (KCl, Merck), Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4, Merck), 8-Amino-1-octanthiolhydrochlorid ($C_8H_{19}NS \cdot HCl$, AOT, Merck), Salpetersäure (HNO_3, 68%, Carl Roth), reines Ethanol (99,8%, Carl Roth) und 4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinethansulfonsäure ($C_8H_{18}N_2O_4S$, HEPES, Carl Roth) und Fluorwasserstoffsäure (HF, 5%, AppliChem, Poly(natrium-4-styrolsulfonat) (PSS, Sigma Aldrich) wurden, wie geliefert, verwendet. Alle Glasgeräte wurden vor der Verwendung mit Königswasser gereinigt und mit reichlich Wasser gespült. Ultrareines Wasser (UPW) mit einem spezifischen Widerstand von 14 MΩ·cm wurde für alle Experimente verwendet. Siliziumwafer (p-Si, 380 µm Dicke, 100 mm Durchmesser, <100> Orientierung) mit einer 30 nm dicken Siliziumdioxidschicht (SiO_2, trockene thermische Oxidation) wurden von Siegert Wafer gekauft.

Synthese der AuNPs

Citrat-stabilisierte Gold-Nanopartikel (AuCts) mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 25 nm wurden mit der Turkevich-Methode synthetisiert [4–6]. AuAOTs wurden aus AuCts durch den Ligandenaustausch von Citrat zu Aminooctanthiol hergestellt [4, 7]. Nach mindestens 12 Stunden wurde die AuAOT-Lösung in 1 mL-Eppendorf-Röhrchen aufgeteilt und durch 15-minütiges Zentrifugieren bei 5000g gereinigt, um überschüssiges AOT in der Lösung zu entfernen. Während der Überstand entfernt wurde, blieb das Pellet ungestört und die AuAOTs wurden bei 4 °C gelagert. Für die Immobilisierungsexperimente wurden die AuAOT-Pellets mit 250 µL eines 20 mM HEPES-Puffers mit 20 mM NaCl bei pH 3,0 (im Folgenden als Immobilisierungspuffer bezeichnet) redispergiert, um AuAOT-Lösungen mit einer Konzentration von c = 0,8 nM zu erhalten. Die Partikelkonzentration wurde anhand optischer Extinktionsspektroskopie ermittelt (Jasco-Spektrophotometer V-550, Jasco Labor- und Datentechnik).

Herstellung der kapazitiven Feldeffekt-Strukturen

Die Sensorchips wurden aus handelsüblichen p-Si-Wafern hergestellt, die mit einer 30 nm dicken

thermisch gewachsenen SiO_2-Schicht bedeckt waren. Auf der mit Flusssäure geätzten Rückseite des p-Si/SiO_2-Wafers wurde durch Elektronenstrahlverdampfung eine Aluminiumschicht (Al, 300 nm) abgeschieden. Für eine bessere Haftung zwischen Al und p-Si wurde der Wafer für 10 min unter Stickstoffatmosphäre bei 400 °C getempert. Die Al/p-Si/SiO_2-Wafer wurden in 10 mm x 10 mm große Chips vereinzelt und anschließend in einem Ultraschallbad mit Aceton, Isopropanol, Ethanol und deionisiertem Wasser jeweils für 3 min gereinigt und danach mit N_2-Gas bei Raumtemperatur getrocknet.

Die Sensorchips wurden in eine selbstgebaute Messzelle eingebaut, die 1 mL Elektrolytlösung fasst und eine 0,5 cm^2 große Kontaktfläche des Sensorchips mit der Lösung bietet.

Immobilisierung von AuCt- und AuAOT-Nanopartikeln auf der Sensoroberfläche

Zur Immobilisierung der AuCt-Partikel wurden 40 µL AuCt-Lösung auf die SiO_2-Oberfläche der gereinigten Sensorchips getropft und bei Raumtemperatur getrocknet. Hinweis: Die AuCt-Nanopartikel wurden nur zur physikalischen Charakterisierung auf den Chipoberflächen immobilisiert.

Die AuAOT-Nanopartikel wurden auf bereits in der Messzelle installierten Sensorchips immobilisiert. Dazu wurden jeweils 40 µL der AuAOT-Lösung auf die Sensorchips getropft.

Nach der Immobilisierung von AuCt- oder AuAOT-Nanopartikeln wurden die Chips mit UPW gespült, in einem sanften N_2-Strom getrocknet und mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) untersucht. Jedes Immobilisierungsexperiment wurde mit drei Sensorchips wiederholt.

REM-Bilder der AuNP-modifizierten Sensoroberfläche wurden mit dem JSM-7800F, Jeol, aufgenommen. Der durchschnittliche Partikeldurchmesser wurde an Stellen auf den Chips bestimmt, die eine hohe Anzahl an einzelnen AuNPs aufwiesen. Um die Belegungsdichte der immobilisierten Partikel zu bestimmen wurden 15 Bilder (50.000-fache Vergrößerung) pro modifiziertem Chip aufgenommen. Ein ImageJ-Makro (Version 1.53a, siehe auch [8]) ermöglichte die Analyse der Anzahl und Größe aller Nanopartikel auf jedem REM-Bild.

Elektrochemische Charakterisierung von unmodifizierten und AuAOT-modifizierten Sensorchips

Abbildung 1 zeigt den schematischen Messaufbau eines AuNP-modifizierten kapazitiven Feldeffekt-Sensors [4]. Für die elektrochemische Charakterisierung wurde der Aluminium-Rückseitenkontakt des Sensorchips und eine in die Elektrolytlösung eingetauchte Referenzelektrode (Ag/AgCl, 3 M KCl-Innenelektrolyt; Metrohm) mit einem Impedanzanalysator (Zahner Zennium, Zahner Elektrik) verbunden, um den elektrischen Stromkreis zu schließen.

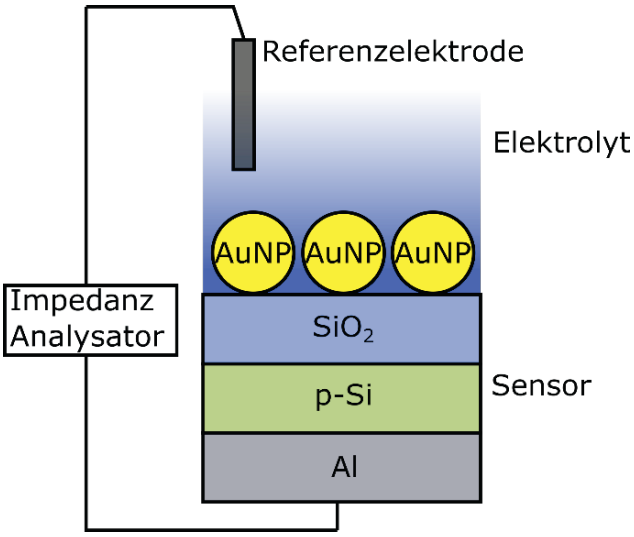


Abb. 1: Schematischer Aufbau eines AuNP-modifizierten kapazitiven Feldeffekt-Sensors. Die Referenzelektrode und der Aluminium-Rückseitenkontakt sind elektrisch mit einem Impedanzanalysator verbunden. (Adaptiert von [4])

Eine ausführliche Erläuterung des Funktionsprinzips des kapazitiven Feldeffekt-Sensors ist an anderer Stelle zu finden [3]. Vereinfacht lässt sich der Sensor als eine Reihenschaltung aus einer konstanten Kapazität (Isolator-SiO_2-Schicht) und einer variablen Kapazität der Raumladungszone an der Halbleiter/Isolator-Grenzfläche darstellen. Im Falle einer Al/p-Si/SiO_2-Struktur vergrößert sich durch die Immobilisierung der positiv geladenen Nanopartikel die Breite der Raumladungszone, so dass die Gesamtkapazität des Sensors abnimmt. Im ConCap-Modus wird die Kapazität am Arbeitspunkt durch Anlegen einer Regel-Spannung, mit entgegengesetzter Polarität zur Oberflächenpotenzialverschiebung, konstant gehalten. Dies ermöglicht die kontinuierliche Überwachung des Sensorsignals, um Änderungen des Oberflächenpotenzials nachzuweisen. Der Arbeitspunkt wird normalerweise bei etwa 60% der maximalen Sensorkapazität in der Kapazitäts-Spannungs- (C-V) Kurve ermittelt.

Für die Aufnahme der C-V-Kurve wurde die Kapazität des Sensors in einem Spannungsbereich von -2 V bis 2 V in 100 mV-Schritten gemessen. Eine kleine Wechselspannung (Amplitude 20 mV, Frequenz 120 Hz) wurde für die C-V- und ConCap-Messungen überlagert [3]. Alle elektrochemischen Charakterisierungen wurden in einem Faraday'schen Käfig bei Raumtemperatur durchgeführt.

Ergebnisse

Die kapazitiven Feldeffekt-Sensoren wurden vor und nach der Immobilisierung der AuAOT-Nanopartikel für 0,5, 1 und 2 Stunden elektrochemisch charakterisiert. Um Störeinflüsse durch Gegenionen zu reduzieren und somit das Sensorsignal zu verstärken, wurden die ConCap-Messungen in einer Pufferlösung mit geringer Ionenstärke durchgeführt (0,33 mM PBS (phosphatgepufferte Salzlösung), pH 4, Ionenstärke: 5 mM) [9–12]. Der pH-Wert 4 des Messpuffers wurde gewählt, um sicherzustellen, dass die terminalen Aminogruppen der AuAOT-Nanopartikel vollständig protoniert sind [7]. Vor der elektrochemischen Charakterisierung wurden die Feldeffekt-Sensoren mindestens 12 Stunden lang in dem Messpuffer konditioniert.

Abbildung 2 zeigt normalisierte ConCap-Messungen von einem unbehandelten Sensor (schwarz), einem AuAOT-modifizierten Sensor (blau) und einem AuAOT-PSS-modifizierten Sensor (rot). In diesem Experiment wurde zunächst die ConCap-Antwort des unbehandelten Sensors als Referenzmessung aufgezeichnet. Dann wurden die AuAOT-Nanopartikel aus einer 0,8 nM AuAOT-Lösung für 0,5 Stunden immobilisiert, gefolgt von einem Spülschritt mit dem Messpuffer, einer Trocknung unter N_2-Atmosphäre und einer erneuten elektrochemischen Charakterisierung des AuAOT-modifizierten Sensors. Dieses Vorgehen wurde für weitere 0,5 h (Gesamtimmobilisierungszeit: 1 h) und 1 h (Gesamtimmobilisierungszeit: 2 h) wiederholt, um die Auswirkungen der Immobilisierungszeit auf das Sensorsignal zu untersuchen.

Wie aus Abbildung 2 ersichtlich ist, führt die Immobilisierung von positiv geladenen AuAOTs auf der Sensoroberfläche zu einer Verschiebung des normalisierten ConCap-Signals entlang der Spannungsachse in Richtung negativerer Potenzialwerte. Die Richtung der beobachteten Spannungsverschiebungen entspricht einer stärker positiv geladenen Sensoroberfläche [3, 10, 12]. Die Amplitude der Signalverschiebungen nimmt mit zunehmender AuAOT-Immobilisierungszeit zu und erreicht einen Wert von ca. -40 mV bei 2 h Immobilisierungszeit. Diese Signalentwicklung lässt sich durch die Zunahme der Oberflächendichte von AuAOT-Nanopartikeln bei längerer Immobilisierungszeit erklären, welche in Tabelle 1 der mittleren Signaländerung gegenübergestellt wird.

Um die Korrelation zwischen den Sensorsignalen und der AuAOT-Oberflächendichte zu quantifizieren, wurden in separaten Experimenten drei mit AuAOTs bedeckte Sensorchips für die REM-Charakterisierung vorbereitet. Dabei wurden die gleichen Immobilisierungsverfahren wie bei den Feldeffekt-Charakterisierungen verwendet.

Die Modifizierung von Feldeffekt-Sensoren mit AuNPs stellt eine vielversprechende Plattform für die markierungsfreie Detektion von Biomolekülen dar.

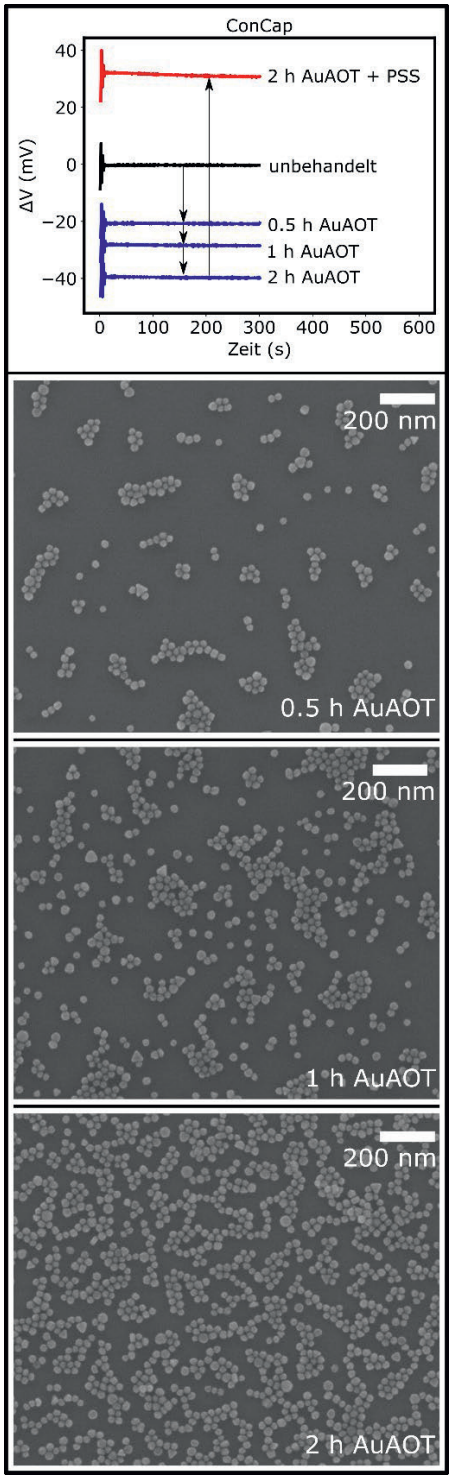


Abb. 2: Die ConCap-Kurve (oben) zeigt die Spannungsänderung aufgrund der Immobilisierung von Aminooctanthiol-stabilisierten (AuAOT) Nanopartikeln auf der Sensoroberfläche nach verschiedenen Immobilisierungszeiten (0,5 h, 1 h, 2 h) in Blau. Die Signaländerung der modifizierten Sensoroberfläche mit Polystyrenesulfonat nach einer zweistündigen AuAOT-Immobilisierung ist im Vergleich dazu in Rot dargestellt. Exemplarische REM-Bilder nach 0,5 h, 1 h und 2 h AuAOT-Immobilisierung zeigen die steigende Dichte von AuAOTs mit zunehmender Immobilisierungszeit.

Tab. 1: Mittlere Signaländerung (ΔV) mit Standardabweichung (n = 3) der Feldeffekt-Sensoren und Belegungsdichte (Γ) nach den unterschiedlichen Immobilisierungszeiten von AuAOTs.

Zeit	ΔV (mV)	Γ (1/μm²)
0,5 h	-20,3 ± 0,6	167 ± 25
1 h	-28,7 ± 1.2	272 ± 34
2 h	-39,7 ± 1.6	540 ± 86

In früheren Experimenten wurden beispielsweise mit negativ geladenen AuCts modifizierte Feldeffekt-Sensoren für den markierungsfreien elektrostatischen Nachweis von positiv geladenen Proteinen und Polyelektrolyt-Makromolekülen eingesetzt [13]. Um die Fähigkeit von AuAOT-modifizierten Feldeffekt-Sensoren zur markierungsfreien elektrostatischen Detektion negativ geladener Moleküle zu demonstrieren, haben wir das starke Polyanion Polystyrolsulfonat (PSS) als Modellsystem ausgewählt, da PSS in einem breiten pH-Bereich negativ geladen vorliegt [14].

Abbildung 2 (oben) zeigt auch ein Beispiel für eine ConCap-Messung zum elektrostatischem Nachweis der Kopplung negativ geladener PSS-Moleküle an die Sensoroberfläche, die mit positiv geladenen AuAOT-Nanopartikeln modifiziert wurde. In diesem Experiment wurden die AuAOT-Nanopartikel aus einer 0,8 nM AuAOT-Lösung für 2 h immobilisiert, gefolgt von einem Spülschritt und der anschließenden Adsorption von PSS-Molekülen. Für die PSS-Adsorption wurden 100 µL einer 50 µM PSS-Lösung (pH 5,4, mit 100 mM NaCl) auf die AuAOT-modifizierte Sensoroberfläche getropft und 10 Minuten lang inkubiert. Das ConCap-Signal wurde vor und nach jedem Oberflächen-Modifizierungsschritt im Messpuffer aufgezeichnet.

Die Adsorption negativ geladener PSS-Makromoleküle resultiert in einer Verschiebung des ConCap-Signals um ca. 70 mV in positive Spannungsrichtung, was die erfolgreiche Kopplung der PSS-Makromoleküle an die AuAOT-modifizierte Sensoroberfläche bestätigt.

Diskussion

Es wurde die schrittweise Immobilisierung von positiv geladenen AuAOT-Nanopartikeln auf kapazitiven Feldeffekt-Sensoren im ConCap-Modus mit variablen Immobilisierungszeiten elektrochemisch untersucht. Zwischen der Oberflächendichte der AuAOTs (bestimmt durch REM) und der gemessenen Potenzialverschiebung der Feldeffekt-Sensoren konnte eine Korrelation ermittelt werden. Je mehr AuAOTs auf der Oberfläche des Sensors immobilisiert wurden, desto deutlicher stieg das Ausgangssignal bei variabler Immobilisierungsdauer an. Die zerstörungsfreie elektrochemische Charakterisierung des AuAOT-Immobilisierungsverfahrens auf Feldeffekt-Sensoren kann als Prozesskontrolle vor weiteren Oberflächenmodifikationen mit Biomolekülen eingesetzt werden.

Die Fähigkeit der mit AuAOT modifizierten Feldeffekt-Sensoren, die Anbindung negativ geladener Makromoleküle zu erkennen, wurde durch eine zusätzliche Modifikation mit dem Polyanion PSS als Modellsystem für Makromoleküle/Biomoleküle untersucht. Der vorgestellte Ansatz kann für die Funktionalisierung mit Biomolekülen wie z.B. Antikörpern für den Nachweis von Antigenen erweitert werden.

Literatur

[1] KUMAR, A.; KIM, S.; NAM, J.-M.: Plasmonically engineered nanoprobes for biomedical applications, *J. Am. Chem. Soc.*, 138 (2016), Nr. 44, S. 14509–14525

[2] HUANG, C.; WEN, T.; SHI, F.-J.; ZENG, X.-Y.; JIAO, Y.-J.: Rapid detection of IgM antibodies against the SARS-CoV-2 virus via colloidal gold nanoparticle-based lateral-flow assay, *ACS Omega*, 5 (2020), Nr. 21, S. 12550–12556

[3] POGHOSSIAN, A.; SCHÖNING, M. J.: Capacitive field-effect EIS chemical sensors and biosensors: A status report, *Sensors (Basel)*, 20 (2020), Nr. 19:5639

[4] KARSCHUCK, T.; KAULEN, C.; POGHOSSIAN, A.; WAGNER, P.; SCHÖNING, M. J.: [In Press] Gold nanoparticle-modified capacitive field-effect sensors: Studying the surface density of nanoparticles and coupling of charged polyelectrolyte macromolecules, *ELSA*

[5] WUITHSCHICK, M.; BIRNBAUM, A.; WITTE, S.; SZTUCKI, M.; VAINIO, U.; PINNA, N.; RADEMANN, K.; EMMERLING, F.; KRAEHNERT, R.; POLTE, J.: Turkevich in new robes: Key questions answered for the most common gold nanoparticle synthesis, *ACS Nano*, 9 (2015), Nr. 7, S. 7052–7071

[6] POLTE, J.: Fundamental growth principles of colloidal metal nanoparticles - A new perspective, *CrystEngComm*, 17 (2015), Nr. 36, S. 6809–6830

[7] KAULEN, C.; HOMBERGER, M.; BOURONE, S.; BABAJANI, N.; KARTHÄUSER, S.; BESMEHN, A.; SIMON, U.: Differential adsorption of gold nanoparticles to gold/palladium and platinum surfaces, *Langmuir*, 30 (2014), Nr. 2, S. 574–583

[8] DOMINEC, F.: Calculating size distribution of powder particles using ImageJ, [Online]. https://www.fzu.cz/~dominecf/index.html, abgerufen am 06.10.2021

[9] LOWE, B. M.; SUN, K.; ZEIMPEKIS, I.; SKYLARIS, C.-K.; GREEN, N. G.: Field-effect sensors - From pH sensing to biosensing: Sensitivity enhancement using streptavidin-biotin as a model system, *Analyst*, 142 (2017), Nr. 22, S. 4173–4200

[10] BRONDER, T. S.; POGHOSSIAN, A.; JESSING, M. P.; KEUSGEN, M.; SCHÖNING, M. J.: Surface regeneration and reusability of label-free DNA biosensors based on weak polyelectrolyte-modified capacitive field-effect structures, *Biosens. Bioelectron.*, 126 (2019), S. 510–517

[11] HUANG, W.; DIALLO, A. K.; DAILEY, J. L.; BESAR, K.; KATZ, H. E.: Electrochemical processes and mechanistic aspects of field-effect sensors for

biomolecules, *J. Mater. Chem. C*, 3 (2015), Nr. 25, S. 6445–6470
[12] BRONDER, T. S.; POGHOSSIAN, A.; SCHEJA, S.; WU, C.; KEUSGEN, M.; MEWES, D.; SCHÖNING, M. J.: DNA immobilization and hybridization detection by the intrinsic molecular charge using capacitive field-effect sensors modified with a charged weak polyelectrolyte layer, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 7 (2015), Nr. 36, S. 20068–20075
[13] POGHOSSIAN, A.; BÄCKER, M.; MAYER, D.; SCHÖNING, M. J.: Gating capacitive field-effect sensors by the charge of nanoparticle/molecule hybrids, *Nanoscale*, 7 (2015), Nr. 3, S. 1023–1031
[14] SMITH, R. N.; MCCORMICK, M.; BARRETT, C. J.; REVEN, L.; SPIESS, H. W.: NMR studies of PAH/PSS polyelectrolyte multilayers adsorbed onto silica, *Macromolecules*, 37 (2004), Nr. 13, S. 4830–4838

Danksagung

Teile dieser Arbeit wurden durch die Deutsche Fördergemeinschaft (DFG) – (445454801) gefördert. Die Autoren danken David Rolka und Heiko Iken für die technische Unterstützung.

DOI 10.5162/15dss2021/P3.11

"All-in-one" cell-based biosensor for on-site monitoring of cell response

Dua Özsoylu[1], Michael J. Schöning[1,2] and Torsten Wagner[1,2]

[1]Institute of Nano- and Biotechnologies (INB), FH Aachen, Jülich, Germany
[2]Institute of Biological Information Processing (IBI-3), Forschungszentrum Jülich GmbH, Jülich, Germany
Contact: oezsoylu@fh-aachen.de

Introduction

Biosensors play an important role in many areas and become part of our everyday life. They have rapidly been evolving and expanding due to the recent advances in material science, nano- and biotechnology, and microfluidics. The importance of biosensors has once again been demonstrated, particularly as a consequence of the coronavirus disease 2019 (COVID-19) [1–3].

Biosensors, which utilize living cells, are called "cell-based biosensors". This kind of biosensors can either detect the reaction of cells specific to analytes (for example, molecules or biomarkers) directly or monitor their physiologically relevant functions [4]. The light-addressable potentiometric sensor (LAPS) can be used as a biosensor, for which different regions (measurement sites) on the sensor surface can be addressed by light illumination [5–8]. This feature represents a remarkable advantage in achieving spatial resolution in biosensing applications [9,10]. For example, using a LAPS chip that has a pH-sensitive transducer layer, a desired sensing point on the sensor surface can be addressed to measure the extracellular acidification (EA) of the cells above that region [11]. Moreover, a larger area can be addressed point-by-point in a scanning manner. In this way, the distribution of the concentration of the EA (extracellular pH (pH_e)) can be visualized in form of a chemical image [12]. Fig. 1 shows a representative schematic of the LAPS chip for cell investigations and its set-up.

Despite an increased number of publications and research focusing on electrochemical cell-based biosensors to detect substances of interest such as pollutants [13], toxins [14], or viruses like SARS-CoV-2 [15], there are only a few cell-based biosensors currently in use on the market. One important reason for this may be found in the biosensor principle, which contains a "living" component such as mammalian cells: their efficient preservation and transportation to the end-user of the sensor system in a ready-to-use concept is still a major challenge. This issue often hinders the practical applicability and commercialization [13–15]. Therefore, there is a growing need for preservation methods and tools to enable ready-to-use, on-site and on-demand concepts.

In this study, a strategy (that is called on-sensor cryopreservation) has been developed, based on a method for preserving living components directly on a biosensor surface by freezing (-80 °C). To achieve a high cell recovery after the cryopreservation process, the rigid sensor surface (Ta_2O_5) was modified with elastic electrospun polymer fibers consisting of polyethylene vinyl acetate (PEVA), which has a low glass-transition temperature and a high thermal expansion coefficient. The biosensor chip is consequently integrated into a microfluidic system to obtain a cryo-chip, which is important for precise control of the microenvironment. This miniaturization ensures a fast thawing process that has a vital impact on cell survival.

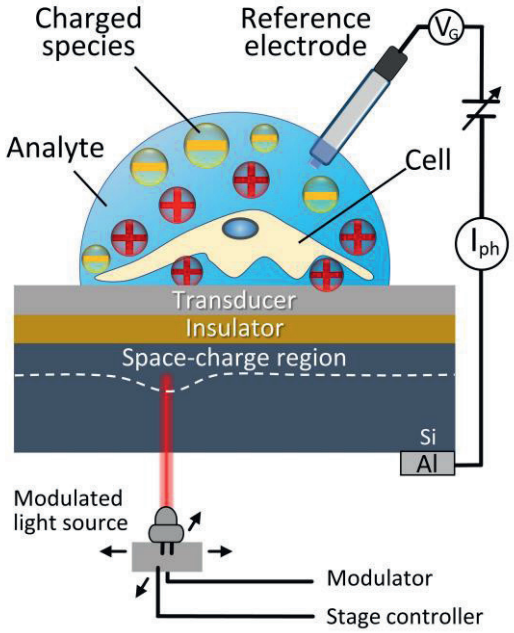


Fig. 1: Schematic representation of the light-addressable potentiometric sensor (LAPS) for cell investigations and measurement set-up.

Methods and Materials

Fabrication of LAPS chips

The LAPS chip consisting of an Al/p-Si/SiO_2/Ta_2O_5 structure was fabricated based on a p-doped silicon wafer (thickness: 400 µm). An insulating layer (30 nm SiO_2) was grown by thermal dry oxidation procedure (1000 °C). Thereafter, electron-beam evaporation

was used to deposit a tantalum layer on the SiO_2 layer. A thermal dry oxidation step (520 °C) was performed to obtain a 60 nm Ta_2O_5 layer as a pH-sensitive transducer. For an ohmic contact, an aluminum layer (300 nm) was deposited at the rear side of the sensor chip by electron-beam evaporation. The wafer was divided into single chips by dicing them with a size of 2 cm x 2 cm. An illumination window for the rear side of the sensor chip was defined by partially removing the aluminum layer using 5% hydrofluoric acid. After fabrication, the sensor functionality was characterized using an electrochemical spectrum analyzer (Zahner-Elektrik GmbH) [16,17].

Electrospinning of PEVA on the LAPS and surface characterization

To obtain high cell (monolayer) recovery after cryopreservation the sensor surface was functionalized with PEVA (vinyl acetate 40 wt%) fibers. They were prepared by dissolving PEVA beads in chloroform and *N,N*-Dimethylformamide (3:2, v/v), followed up by an electrospinning technique to deposit them to the sensor layer. Morphological examinations of the fibers were performed using scanning electron microscopy (SEM) and digital microscopy.

O_2 plasma treatment

Good wettability of the surface is critical for cell culturing. O_2 plasma treatment (PT) was used to increase the wettability of the modified sensor surface. PT was performed as described in ref. [9]. Afterwards, the wettability changes were observed by water contact angle measurements.

Microfluidic integration

A self-adhesive microfluidic slide (sticky-Slide VI 0.4; ibidi GmbH) with a height of 400 µm and a width of 3.8 mm was used for creating two identical but separated channels on the LAPS chip. One of the channels served as a reference channel. As this chip system is used for cryopreservation of the cells, this chip system is named “cryo-chip”. The cryo-chip system is shown in Fig. 2.

Cell culturing and cryopreservation

To test the feasibility of the cryo-chip, a model cell line, Chinese hamster ovary (CHO-K1) cells (DSMZ, Germany), was selected to perform cell culturing and analysis. Before seeding the cells, the microfluidic channels were sterilized by flushing them with 70% ethanol for one hour. Cell culturing was performed as mentioned in the literature [11]. 40000 cells/cm^2 were seeded into each channel. As control samples, elastic coverslips (uncoated, ibidi GmbH) and unmodified LAPS chip, were also used as substrate material. After 48 h of incubation, the cell viability was determined with a Cell Counting Kit (CCK)-8 assay (Dojindo Laboratories, Kumamoto). The cells inside the channels were incubated in an incubator for 1 h with CCK-8 test solution at a 1:10 dilution in the medium. After the incubation, the solution was transferred into well plates, and the absorbance value was read at 450 nm on a microplate reader.

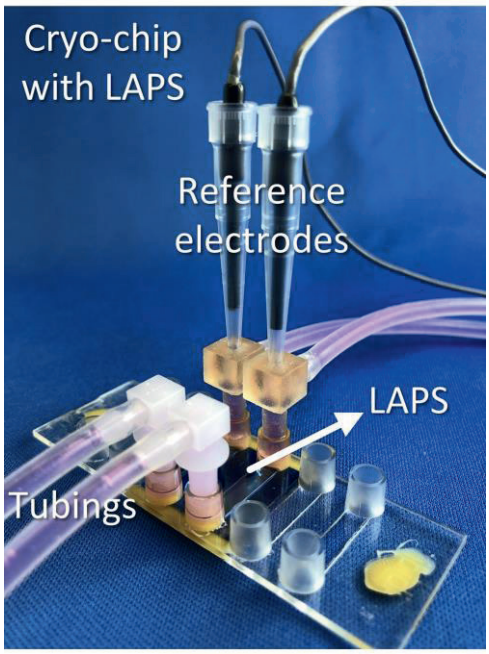


Fig. 2: A cryo-chip consisting of a modified LAPS, which is integrated into a microfluidic system. Two identical and separated microfluidic channels are placed on the same LAPS chip having a differential measurement set-up.

For cryopreservation, a cryoprotectant solution was prepared from 90% fetal calf serum and 10% dimethyl sulfoxide. The channels of the cryo-chip were filled with this solution and placed into a freezing container at −80 °C. After keeping the cryo-chips in the freezer overnight, they were quickly thawed in an incubator (37 °C) and the cryoprotectant solution in the channels was replaced with a fresh culture medium. The cell viability and recovery after thawing was analyzed with the CCK-8 assay as mentioned above.

Sensor signal measurement after cryopreservation

To enable differential measurements, one of the two channels of the cryo-chip was labeled as a “reference channel”, whereas the other was defined as “active culture channel”. After thawing, a micro-agar salt-bridge including Ag/AgCl reference electrode, tubes, connectors and a 10 mL glass syringe containing the measurement medium were connected to the chip under aseptic conditions (see Fig. 2). A 3D-printed adapter with four spring-loaded pins was assembled to create an ohmic rear side connection of the LAPS.

This way, the chip was connected to the self-developed LAPS measurement set-up. Extracellular acidification of the cells was monitored as previously reported in the literature [11,18].

Results and Discussion

Electrospun PEVA fibers were successfully attached to the sensor surface after optimization of the electrospinning parameters. An optimum fiber structure was obtained with the parameters, in which polymer solution concentration, flow rate, spinning duration, tip-to-connector distance, and power supply were 13% (w/v), 1.5 mL/h, 60 seconds, 10 cm, and 18 kV, respectively. Fig. 3 demonstrates the bare sensor surface (top) and the modified sensor surface (bottom) after electrospinning of the PEVA fibers.

Tab. 1 shows the results regarding the cell recovery on different substrate surfaces before and after on-sensor cryopreservation. The LAPS surface with PEVA and PT showed the highest recovery rate among the tested surfaces. In addition, the results did not statistically differ between the LAPS surface and the polymer coverslip (p=0.053). The results showed that on-sensor cryopreservation using a cryo-chip containing a modified LAPS is effective for keeping cells viable during cryopreservation. More details about the advantages of elastic polymers on monolayer cell cryopreservation were reported elsewhere [19,20].

Tab. 1: Cell recovery on different surfaces with regard to the on-sensor cryopreservation (−80 °C, overnight) using the newly developed cryo-chips.

Surfaces	Cell recovery (%)
polymer coverslip	76.3 ± 5.9
LAPS	36.3 ± 0.6
LAPS with PEVA fibers	49.5 ± 3
LAPS with PEVA fibers and plasma treatment	66.2 ± 2.6

The sensing performance of the cryo-chip was validated before and after the on-sensor cryopreservation using adherent CHO-K1 cells as a model organism. Tab. 2 depicts the average photocurrent alterations in response to the cell activity before and after cryopreservation. As can be seen from the table, the photocurrent in the active culture channel (with cells) starts to increase just after the thawing process, compared to the reference channel (without cells). This increase was even more pronounced after further cell culturing for 6 hours. The results indicate extracellular acidification in the active culture channel and support the results regarding the cell recovery using the new cryo-chip system.

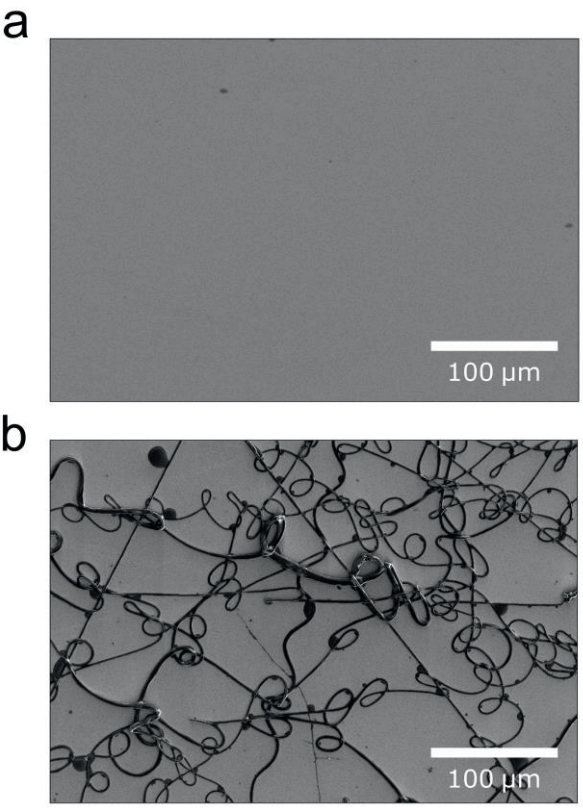


Fig. 3: SEM images representing a) a bare LAPS chip surface and b) a LAPS surface modified with electrospun PEVA fibers.

Tab. 2: Average photocurrent alterations measured by the cryo-chip (two channels) indicating the cell activity, and the extracellular acidification before and after on-sensor cryopreservation (−80 °C, overnight).

Measurement	Average photocurrent values (nA)	
	Reference channel	Active culture channel
Before cryo-preservation	124.6 ± 18.1	124.3 ± 20.5
After thawing	122.8 ± 17.6	131.5 ± 20.4
6 h after thawing	118.6 ± 16.7	160.9 ± 23.1

In conclusion, this on-sensor cryopreservation is effective not only for keeping cells viable during cryopreservation but also for detection of the extracellular acidification of adherent CHO-K1 cells directly after thawing. Being able to perform on-chip cryopreservation at the manufacturing stage and transporting this ready-to-use system via cold-chain transport could therefore pave a way for an “off-the-shelf” and “all-in-one” system applicable to on-site applications.

References

[1] MORALES-NARVÁEZ, E.; DINCER, C.: The Impact

of Biosensing in a Pandemic Outbreak: COVID-19. *Biosens. Bioelectron.* 163 (2020), 112274.

[2] BHALLA, N.; PAN, Y.; YANG, Z.; PAYAM, A. F.: Opportunities and Challenges for Biosensors and Nanoscale Analytical Tools for Pandemics: COVID-19. *ACS Nano* 14 (2020), 7783–7807.

[3] POGHOSSIAN, A.; JABLONSKI, M.; MOLINNUS, D.; WEGE, C.; SCHÖNING, M. J.: Field-Effect Sensors for Virus Detection: From Ebola to SARS-CoV-2 and Plant Viral Enhancers. *Front. Plant Sci.* 11 (2020), 1792.

[4] GUPTA, N.; RENUGOPALAKRISHNAN, V.; LIEPMANN, D.; PAULMURUGAN, R.; MALHOTRA, B. D.: Cell-Based Biosensors: Recent Trends, Challenges and Future Perspectives. *Biosens. Bioelectron.* 141 (2019), 111435.

[5] SCHÖNING, M. J.; WAGNER, T.; WANG, C.; OTTO, R.; YOSHINOBU, T.: Development of a Handheld 16 Channel Pen-Type LAPS for Electrochemical Sensing. *Sensors Actuators B Chem.* 108 (2005), 808–814.

[6] YOSHINOBU, T.; ECKEN, H.; POGHOSSIAN, A.; SIMONIS, A.; IWASAKI, H.; LÜTH, H.; SCHÖNING, M. J.: Constant-Current-Mode LAPS (CLAPS) for the Detectionof Penicillin. *Electroanalysis* 13 (2001), 733–736.

[7] POGHOSSIAN, A.; YOSHINOBU, T.; SIMONIS, A.; ECKEN, H.; LÜTH, H.; SCHÖNING, M. J.: Penicillin Detection by Means of Field-Effect Based Sensors: EnFET, Capacitive EIS Sensor or LAPS? *Sensors Actuators B Chem.* 78 (2001), 237–242.

[8] PARAK, W. J.; HOFMANN, U. G.; GAUB, H. E.; OWICKI, J. C.: Lateral Resolution of Light-Addressable Potentiometric Sensors: An Experimental and Theoretical Investigation. *Sensors Actuators A Phys.* 63 (1997), 47–57.

[9] ÖZSOYLU, D.; KIZILDAG, S.; SCHÖNING, M. J.; WAGNER, T.: Effect of Plasma Treatment on the Sensor Properties of a Light-Addressable Potentiometric Sensor (LAPS). *Phys. status solidi* 216 (2019), 1900259.

[10] YOSHINOBU, T.; SCHÖNING, M. J.: Light-Addressable Potentiometric Sensors for Cell Monitoring and Biosensing. *Curr. Opin. Electrochem.* 28 (2021), 100727.

[11] ÖZSOYLU, D.; KIZILDAG, S.; SCHÖNING, M. J.; WAGNER, T.: Differential Chemical Imaging of Extracellular Acidification within Microfluidic Channels Using a Plasma-Functionalized Light-Addressable Potentiometric Sensor (LAPS). *Phys. Med.* 10 (2020), 100030.

[12] ÖZSOYLU, D.; ISIK, T.; DEMIR, M. M.; SCHÖNING, M. J.; WAGNER, T.: Cryopreservation of a Cell-Based Biosensor Chip Modified with Elastic Polymer Fibers Enabling Ready-to-Use on-Site Applications. *Biosens. Bioelectron.* 177 (2021), 112983.

[13] GUI, Q.; LAWSON, T.; SHAN, S.; YAN, L.; LIU, Y.: The Application of Whole Cell-Based Biosensors for Use in Environmental Analysis and in Medical Diagnostics. *Sensors (Basel).* 17 (2017), 1623.

[14] YE, Y.; GUO, H.; SUN, X.: Recent Progress on Cell-Based Biosensors for Analysis of Food Safety and Quality Control. *Biosens. Bioelectron.* 126 (2019), 389–404.

[15] MAVRIKOU, S.; MOSCHOPOULOU, G.; TSEKOURAS, V.; KINTZIOS, S.: Development of a Portable, Ultra-Rapid and Ultra-Sensitive Cell-Based Biosensor for the Direct Detection of the SARS-CoV-2 S1 Spike Protein Antigen. *Sensors* 20 (2020), 3121.

[16] SCHÖNING, M. J.; BRINKMANN, D.; ROLKA, D.; DEMUTH, C.; POGHOSSIAN, A.: CIP (Cleaning-in-Place) Suitable “Non-Glass” pH Sensor Based on a Ta_2O_5-Gate EIS Structure. *Sensors Actuators B Chem.* 111-112 (2005), 423–429.

[17] POGHOSSIAN, A.; MAI, D.-T.; MOURZINA, Y.; SCHÖNING, M. J.: Impedance Effect of an Ion-Sensitive Membrane: Characterisation of an EMIS Sensor by Impedance Spectroscopy, Capacitance–Voltage and Constant–Capacitance Method. *Sensors Actuators B Chem.* 103 (2004), 423–428.

[18] MIYAMOTO, K.; ICHIMURA, H.; WAGNER, T.; SCHÖNING, M. J.; YOSHINOBU, T.: Chemical Imaging of the Concentration Profile of Ion Diffusion in a Microfluidic Channel. *Sensors Actuators B Chem.* 189 (2013), 240–245.

[19] RUTT, T.; ESKANDARI, N.; ZHUROVA, M.; ELLIOTT, J. A. W.; MCGANN, L. E.; ACKER, J. P.; NYCHKA, J. A.: Thermal Expansion of Substrate May Affect Adhesion of Chinese Hamster Fibroblasts to Surfaces during Freezing. *Cryobiology* 86 (2019), 134–139.

[20] BATNYAM, O.; SUYE, S.; FUJITA, S.: Direct Cryopreservation of Adherent Cells on an Elastic Nanofiber Sheet Featuring a Low Glass-Transition Temperature. *RSC Adv.* 7 (2017), 51264–51271.

Acknowledgments

DÖ would like to acknowledge the Ph.D. research scholarship grant from the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBITAK). The authors gratefully thank the Federal Ministry of Education and Research of Germany (Opto-Switch FKZ: 13N12585).

DOI 10.5162/15dss2021/P3.12

Online-Monitoring der Sterilisationsgüte in aseptischen Lebensmittelverpackungen mittels Sensortechnologie

Farnoosh Vahidpour[1], Torsten Wagner[1] und Michael J. Schöning[1,2]

[1]Institut für Nano- und Biotechnologien (INB), FH Aachen, Jülich, Deutschland
[2]Institut für Biologische Informationsprozesse (IBI-3), Forschungszentrum Jülich GmbH, Jülich, Deutschland
Kontakt: vahidpour@fh-aachen.de

Einleitung

Die Verpackungssterilisation in der Lebensmittelindustrie ist einer der wichtigsten Schritte der aseptischen Abfüllung, deren Ziel es ist, kundensichere und langzeitstabile Lebensmittel zu liefern. Dafür wurden mehrere Methoden entwickelt, um die Qualität der Lebensmittel, wie z.B. Milch, zu kontrollieren [1]. Als ein Sterilisationsmittel für Verpackungen in aseptischen Abfüllmaschinen ist Wasserstoffperoxid eines der am häufigsten verwendeten Mittel [2], da es sich zu Wasser und Sauerstoff zersetzt, welche absolut umweltfreundliche Endprodukte darstellen [3]. H_2O_2 wird bei niedrigen Temperaturen flüssig und bei hohen Temperaturen gasförmig aufgebracht. Die Anwendung von H_2O_2 wird kombiniert mit der Anwendung von Heißluft oder Strahlung, um H_2O_2-Rückstände zu entfernen [2,4,5]. Beim Einsatz von H_2O_2 in Gasform zur Sterilisation von Verpackungen spielen physikalische und chemische Faktoren eine Rolle, da sie einen direkten Einfluss auf die Qualität der Sterilisation haben. Daher werden Kontroll-Setups konzipiert, mit denen die Bedingungen in der Sterilisationskammer vordefiniert und überprüft werden können.

Um die Zuverlässigkeit der aseptischen Bedingungen nachzuweisen, werden bisher traditionelle mikrobiologische Tests eingesetzt. *Bacillus atrophaeus*-Sporen (resistente Mikroorganismen gegenüber dem Sterilisationsmittel) werden dem Sterilisationsmedium ausgesetzt, deren Abtötungsrate bestimmt und die Sterilisation abgeschlossen. Dabei werden typischerweise mikrobiologische Tests, wie z.B. Endpunkttest und Zählreduktionstest [6], genutzt. Ein solches Verfahren hat jedoch den Nachteil aufwendiger Laboranalytik und langsamer Antwortzeit, da die Ergebnisse frühestens nach 48 Stunden erhalten werden können. Um dies zu umgehen, sind neue Methoden zur Online-Überwachung von großem Interesse. In den letzten Jahren wurden spezifischere Verfahren entwickelt, um die Sterilisationsbedingungen durch gasförmiges H_2O_2 zu bestimmen, wie z.B. elektrochemische, konduktometrische oder kolorimetrische Verfahren [7-9]. Die meisten dieser Methoden können jedoch aufgrund von Problemen mit der Transportfähigkeit, Probenvorbereitung oder Reaktionszeit nicht in die Online-Überwachung mit einbezogen werden. Das Ziel der jüngsten Forschungsarbeiten ist es deshalb, die Sterilisationsbewertungen kostengünstiger durchzuführen und sie auf ein höheres Niveau der Online-Überwachung zu bringen. Parallel sollen die mikrobiologischen Prozesse beschleunigt werden, so dass die Sterilisationsqualität immer noch konsistent bleibt [10-12].

Um dieses Problem zu lösen, wurde kürzlich eine neuartige Sensorplattform auf Basis eines sporenbasierten Biosensors vorgestellt [13]. In der vorliegenden Arbeit wird dieser mit einem kalorimetrischen H_2O_2-Gassensor auf einem einzigen Chip kombiniert, um die Lebensfähigkeit von Sporen zu bewerten und die gasförmige H_2O_2-Konzentration und die H_2O_2-Temperatur zu bestimmen.

Methoden und Materialien

Kalorimetrischer Gassensor

Zur Bestimmung der H_2O_2-Temperatur und der H_2O_2-Konzentration während des aseptischen Prozesses mit gasförmigem H_2O_2 wurden flexible kalorimetrische Gassensoren auf Basis von Polyimidfolien untersucht [14]. Dabei wurde der kalorimetrische Gassensor als differentieller Aufbau zweier identischer metallischer Mäanderstrukturen konzipiert [12]. Diese Strukturen wurden mittels Dünnschichttechnik hergestellt. Es wurden Mäanderstrukturen mittels Photolithographie definiert und anschließend 20 nm Ti und 200 nm Pt auf den Sensor aufgedampft. Mittels Lift-off-Technik wurden die Metallrückstände von der Sensoroberfläche entfernt und damit die Sensorherstellung abgeschlossen. Die beiden Mäanderstrukturen wurden mittels einer Passivierungsschicht passiviert [15] (in diesem Fall SU-8), um zu vermeiden, dass die Metallstruktur direkt dem gasförmigen H_2O_2 ausgesetzt wird. Im Anschluss wurde eines der beiden Sensor-Elemente durch einen Katalysator (in diesem Fall MnO_2) aktiviert, wie in Abb. 1 gezeigt ist. Bei Exposition gegenüber verschiedenen Konzentrationen von gasförmigem H_2O_2 (0; 2,2; 4,1; 5,7; 7,1 und 7,7% v/v), mit einer Gasströmungsgeschwindigkeit von 10 m^3/h und einer Gastemperatur von 240 °C, reagiert der Katalysator auf H_2O_2 und zersetzt es in die

umweltfreundlichen Endprodukte Wasser und Sauerstoff. Die bei dieser Reaktion entstehende Wärme wird vom aktiven Temperaturwiderstand am Sensor-Aufbau gemessen, wie in Gleichung 1 beschrieben ist:

$2\ H_2O_2 \dashrightarrow 2\ H_2O + O_2,\ \Delta H = -105.3\ kJ/mol.$ (1)

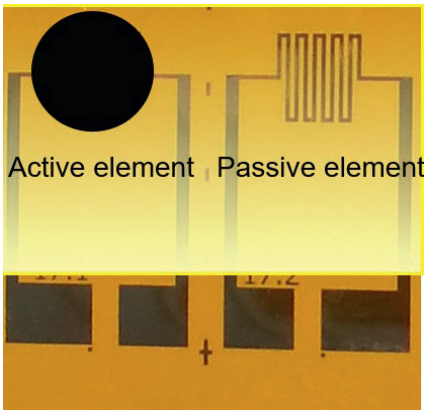


Abbildung 1: Photographische Darstellung zweier identischer Mäanderstrukturen mit Passivierungs- und Aktivierungsschichten auf der kalorimetrischen Gassensoroberfläche.

Die Differenz zwischen denen vom aktiven und passiven Element gemessenen Temperaturen stellt das Messsignal dar, das als Sensorgröße dient. Dieses Signal entspricht der H_2O_2-Konzentration. Auf der Plattform wurde ein kalorimetrischer Gassensor in Kombination mit dem sporenbasierten Biosensor zur gleichzeitigen Erfassung von Temperatur und H_2O_2-Konzentration integriert, um so die Qualität der Sterilisation zu erfassen.

Sporenbasierter Biosensor

Als Referenz zum Sterilisationsprozess wurde der sporenbasierte Biosensor auf der Plattform des kombinierten Chemo- und Biosensors für mikrobiologische Experimente eingesetzt. Der Sensor wurde entwickelt, um die Sterilisationsbedingungen von *B. atrophaeus* DSM 675 mit einer Ausgangskeimzahl von 10^6 Colony Forming Unit (CFU)/ml unter verschiedenen Faktoren zu bestimmen. Dieser Aufbau bestand aus zwei identischen interdigitalen Elektrodenstrukturen (IDEs). Die Elektroden wurden, ähnlich wie der kalorimetrische Gassensor, mittels Dünnschichttechnik hergestellt.

Die Sporen wurden auf einer der IDEs immobilisiert. Die Details der Oberflächenvorbereitung und Sporenimmobilisierung wurden bereits zuvor beschrieben [10,16]. Der sporenbasierte Biosensor (kombiniert mit dem kalorimetrischen Gassensor) wurde in der Sterilisationskammer platziert und verschiedenen, oben genannten Konzentrationen von gasförmigem H_2O_2 ausgesetzt (bei einer Gasströmungsgeschwindigkeit von 10 m^3/h und einer Gastemperatur von 240 °C). Die Impedanzsignale der IDEs wurden vor und nach der Sterilisation bewertet und der Unterschied zwischen den Signalen als eine durch die Sterilisation verursachte Veränderung der Sporen bewertet. Die Signalantworten (Impedanz) der sporenbasierten Biosensoren wurden bei verschiedenen H_2O_2-Konzentrationen untersucht.

Parallel dazu wurden die Sporen bei der Sterilisation mit gasförmigem H_2O_2 mittels REM-Analyse auf jegliche Morphologieänderung hin charakterisiert.

Ergebnisse und Diskussion

Abbildung 2 skizziert schematisch das kombinierte Sensorarray, bestehend aus dem sporenbasierten Biosensor (oben) und dem kalorimetrischen Gassensor (unten). Die auf diesem Array entwickelten differentiellen Setups ermöglichen es, die Parameter des Sterilisationsprozesses gleichzeitig chemisch und mikrobiologisch zu charakterisieren.

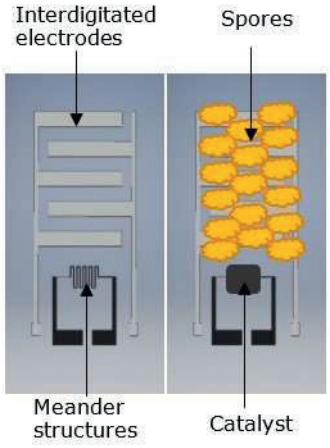


Abbildung 2: Schematische Darstellung des kalorimetrischen Gassensors und des sporenbasierten Biosensors kombiniert auf einer einzigen Sensorplattform.

Abbildung 3 stellt typische Messkurven des kalorimetrischen Gassensors dar. Die schwarze Kurve zeigt die Temperaturmessung des aktiven Elements, bei der der Katalysator mit unterschiedlichen H_2O_2-Konzentrationen reagiert. Hier steigt die Temperatur mit Zunahme der H_2O_2-Konzentration. Die rote Kurve zeigt die vom passiven Element gemessene Temperatur, die sich in Bezug auf die H_2O_2-Anwendung weniger ändert. Im unteren Teil der Grafik ist die Temperaturdifferenz der beiden Elemente grün eingezeichnet. Diese Temperaturdifferenz dient als Sensorsignal und entspricht den unterschiedlichen H_2O_2-Konzentrationen, die während des Sterilisationsprozesses appliziert werden (s. auch rechte x-Achse und

in blau gestrichelte H_2O_2-Konzentration). Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die vom kalorimetrischen Gassensor erfasste Temperaturdifferenz mit steigender H_2O_2-Konzentration zunimmt und daher eine Korrelation zwischen diesen kritischen Faktoren im Sterilisationsprozess gezogen werden kann.

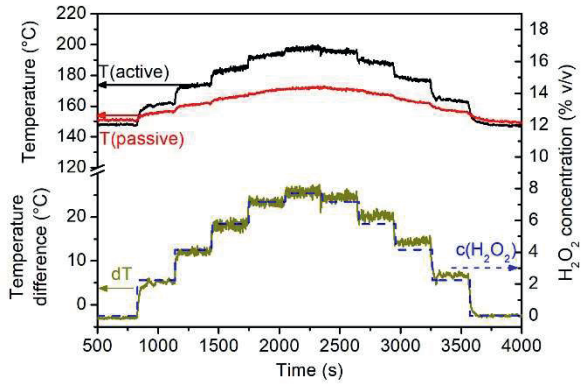


Abbildung 3: Messkurven der Temperatur des aktiven (schwarz) und des passiven (rot) Elements des kalorimetrischen Gassensors, sowie die Temperaturdifferenz (grün), die dem Sensorsignal entspricht und mit der H_2O_2-Konzentration korreliert.

Abbildung 4 beinhaltet die REM-Aufnahmen zur morphologischen Untersuchung der IDE-Strukturen und der Sporen vor und nach dem Sterilisationsprozess. Die beiden oberen Bilder zeigen die Elektrodenstrukturen und die Sporen vor der Sterilisation, die unteren Bilder zeigen die Sporen nach dem Sterilisationsprozess. Eine Veränderung der Morphologie der Sporen, d.h. eine Deformation kann durch die REM-Analyse nachgewiesen werden. Diese Änderungen führen zu einer Änderung der Impedanz-Signale, die von den Interdigital-Elektroden mittels Impedanzspektroskopie erfasst werden. Die normierten Impedanzen sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tab. 1: Normiertes Impedanz-Signal, das mit dem sporenbasierten Biosensor in Bezug auf die unterschiedlich angewendeten H_2O_2-Konzentrationen erzielt wurde.

H_2O_2-Konzentration (% v/v)	**Normierte Impedanz (%)**
Blanker Sensor	100
0	94
2,2	95
4,1	92
5,7	87
7,1	88
7,7	83

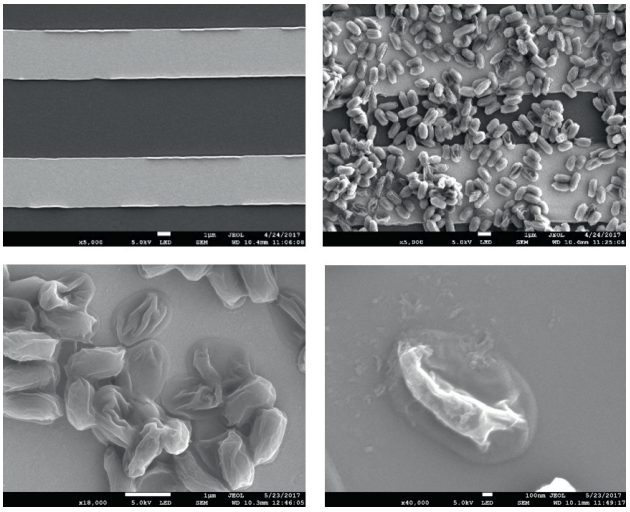


Abbildung 4: REM-Aufnahmen der Sporen auf den IDE-Strukturen. Die oberen beiden Bilder zeigen die IDE-Strukturen und die darauf immobilisierten Sporen. Die unteren beiden Bilder zeigen die „deformierten“ Sporen nach der Sterilisation. Eine Veränderung der Morphologie ist aufgetreten.

Zusammenfassend lässt sich belegen, dass die Synergie dieser beiden Sensortypen als ein kombiniertes Sensorarray eine wesentlich spezifischere multiparameterbasierte Fehleranzeige in aseptischen Abfüllmaschinen im Vergleich zum Stand der Technik bezüglich Wasserstoffperoxid-Detektionsmethoden ermöglicht.

Literatur

[1] POGHOSSIAN, A.; GEISSLER, H.; SCHÖNING, M.J.: Rapid methods and sensors for milk quality monitoring and spoilage detection: In: *Biosen. and Bioelectron.* (2019), Nr. 140, S. 111272.

[2] ANSARI, A.; DATTA, A.K.: An overview of sterilization methods for packaging materials used in aseptic packaging systems. In: *Food Bioprod. Process.* 81 (2003), Nr. 1, S. 57–65.

[3] JILDEH, Z.B. WAGNER, P.H. SCHÖNING, M.J.: Sterilization of objects, products, and packaging surfaces and their characterization in different fields of industry: the status in 2020. In: *Phys. Status Solidi (A).* (2021), S. 2000732.

[4] RYSSTAD, G.; KOLSTAD, J.: Extended shelf life milk - advances in technology. In: *Int. J. Dairy Technol.* 59 (2006), Nr. 2, S. 85–96.

[5] ROBERTSON, G.L.: *Legislative and Safety Aspects of Food Packaging*. Book series. (2013), CRC Press.

[6] CERNY, G.:Testing of aseptic machines for efficiency of sterilization of packaging materials by means of hydrogen peroxide. In: *Packag. Technol. Sci.* 5 (1992), Nr. 2, S. 77–81.

[7] KULYS, J.: Flow-through amperometric sensor for hydrogen peroxide monitoring in gaseous media. In: *Sens. Actuators B. Chem.* 9 (1992), Nr. 2, S. 143–147.

[8] VERMA A.L.; SAXENA, S.; SAINI, G.S.S.; GAUR, V.; JAIN, V.K.: Hydrogen peroxide vapor sensor using metal-phthalocyanine functionalized carbon nanotubes. In: *Thin Solid Films.* 519 (2011), Nr. 22, S. 8144–8148.

[9] XU, M.: Trace vapor detection of hydrogen peroxide: An effective approach to identification of improvised explosive devices. Dissertation,The University of Utah (2014).

[10] ARREOLA, J.; KEUSGEN, M.; WAGNER, T.; SCHÖNING, M.J.: Combined calorimetric gas- and spore-based biosensor array for online monitoring and sterility assurance of gaseous hydrogen peroxide in aseptic filling machines. In: *Biosens. Bioelectron.* (2019), Nr.143, S. 111628.

[11] OBERLÄNDER, J.; BROMM, A.; WENDELER, L.; IKEN, H.; DURAN, M.P.; GREEFF, A.; KIRCHNER, P.; KEUSGEN, M.; SCHÖNING, M.J.: Towards a biosensor to monitor the sterilisation efficiency of aseptic filling machines. In: *Phys. Status Solidi.* 212. (2015), Nr. 6, S. 1299–1305.

[12] VAHIDPOUR, F.; OBERLÄNDER, J.; SCHÖNING, M.J.: Flexible calorimetric gas sensors for detection of a broad concentration range of gaseous hydrogen peroxide: A step forward to online monitoring of food-package sterilization processes. In: *Phys. Status Solidi* 215 (2018), Nr. 15, S.1800044.

[13] OBERLÄNDER, J.; MAYER, M.; GREEFF, A.; KEUSGEN, M.; SCHÖNING, M.J.: Spore-based biosensor to monitor the microbicidal efficacy of gaseous hydrogen peroxide sterilization processes. In: *Biosens. Bioelectron*. 104 (2018), S. 87–94.

[14] OBERLÄNDER, J.; KIRCHNER, P.; KEUSGEN, M.; SCHÖNING, M.J.: Flexible polyimide-based calorimetric gas sensors for monitoring hydrogen peroxide in sterilisation processes of aseptic filling machines. In: *Proceedings of Sensors and Measuring Systems* (2014), S. 1–4.

[15] KIRCHNER, P.; REISERT, S.; PÜTZ, P.; KEUSGEN, M.; SCHÖNING, M.J.: Characterisation of polymeric materials as passivation layer for calorimetric H_2O_2 gas sensors. In: *Phys. Status Solidi* 209 (2012), Nr. 5, S. 859–863.

[16] ARREOLA, J.; KEUSGEN, M.; SCHÖNING, M.J.: Towards an immobinization method for spore-based biosensors in oxidative environment. In: *Electrochim. Acta*. 302 (2019), S. 394–401.

Danksagung

Die Autoren bedanken sich für die finanzielle Unterstützung der folgenden Projekte: „EfficientSterile“, gefördert durch Mittel der Europäischen Union und dem Land NRW im Rahmen des Programms EFRE.NRW 2014-2020 und „SteriSens“, gefördert mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) im Rahmen des Programms FHprofUnt. Ebenfalls gedankt sei H. Iken und J. Arreola bei der technischen Unterstützung von einzelnen Experimenten.

DOI 10.5162/15dss2021/P4.1

Chitosan-modifizierte Sensoren für die elektrochemische Bestimmung von Sulfat- und Eisenionen

Anastasiya Svirepa[1,2], Johannes Schwarz[1], Kathrin Trommer[1], Simona Schwarz[3], Michael Mertig[1,2]

[1]Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim, Deutschland
[2]Physikalische Chemie, Mess- und Sensortechnik, TU Dresden, Dresden, Deutschland
[3]Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden e.V., Dresden, Deutschland
Kontakt: anastasiya.svirepa@ksi-meinsberg.de

Einleitung

Die langjährige, großflächige Braunkohlegewinnung in den Lausitzer Tagebauen des Mitteldeutschen Reviers führte durch Absenkung des Grundwasserspiegels zur erhöhten Verwitterung von Pyrit und Markasit in tieferliegenden geologischen Schichten. Infolge stieg die Konzentration von Sulfat- und Eisenionen in nahegelegenen Gewässern erheblich an. Durch die Oxidation von zweiwertigem Eisen wurde Eisenhydroxid in Form von Braunschlamm ausgefällt. Dadurch erhielt die Spree eine starke bräunliche Färbung, was als „Verockerung" bezeichnet wird [1].

$$FeS_2 + 3{,}5\ O_2 + H_2O \rightarrow Fe^{2+} + 2\ SO_4^{2-} + 2\ H^+,$$

$$4\ Fe^{2+} + O_2 + 10\ H_2O \rightarrow 4\ Fe(OH)_3\downarrow + 8\ H^+.$$

Als Ergebnis des Eingriffs in den Grundwasserhaushalt besteht dieses Umweltproblem sowohl in Brandenburg als auch in Sachsen, wobei die Spree besonders betroffen ist. Die Konzentration von Sulfationen im Gewässer beträgt ≤ 2000 mg/l und der Eisengehalt kann bei bis zu 80 mg/l liegen. Eine hohe Konzentration der beiden Schadstoffe führt zur Belastung von Naturlebensräumen, Schädigung von Bauwerken wie Brücken und kann auch die Qualität des Trinkwassers beeinträchtigen. Eine schnelle Vor-Ort-Analyse des Sulfat- und Eisengehaltes ist daher von großer Bedeutung.

Chitosan ist ein nicht giftiges, biokompatibles und biologisch abbaubares Polymer, welches aus den Schalen von Krebstieren durch Deacetylierung des Chitins, d. h. durch Abspaltung der *N*-Acetylgruppe, gewonnen wird. Der Deacetylierungsgrad (engl. *degree of deacetylation* (DD), in %) wird als Reinheitsgrad des Chitosans bezeichnet [2].

Das Chitosanmolekül enthält eine große Anzahl von freien Aminogruppen, welche im sauren pH-Bereich protonieren:

$$Chit\text{-}NH_2 + H_2O \rightarrow Chit\text{-}NH_3^+ + OH^-.$$

Positiv geladene Aminogruppen verleihen dem Polymer besondere Eigenschaften. Daraus ergibt sich die Fähigkeit von Chitosan, ein gutes Adsorptions- und Flockungsmittel für die Behandlung und Reinigung von kontaminierten Gewässern zu sein. Als ein guter Ionenaustauscher adsorbiert Chitosan Ionen verschiedener Metalle. Durch die Bildung von Wasserstoffbrücken ist das Biopolymer in der Lage, organische Substanzen zu binden. Diese besonderen Eigenschaften eröffnen damit ein breites Einsatzspektrum von Chitosan. Eine der innovativsten Anwendungen stellt die elektrochemische Sensorik dar.

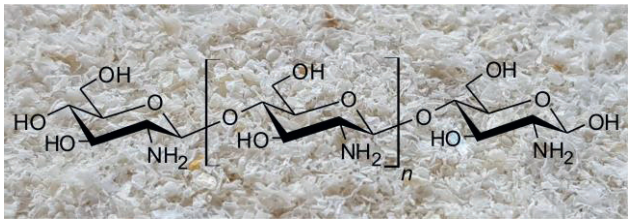


Abb. 1: Chitosan-Flocken und Strukturformel.

Biopolymere wie Chitosan stellen eine vielversprechende Alternative zu synthetischen Analyt-komplexierenden Verbindungen bei der Entwicklung von elektrochemischen Sensoren dar. Das Ziel der Arbeit ist die Entwicklung spezifischer, elektrochemischer, Biopolymer-basierter *All-Solid-State*-Sensoren für das Monitoring von Sulfat- und Eisenionen in der Spree. Speziell soll hier demonstriert werden, dass eine Chitosan-modifizierte Arbeitselektrode mit einer PVC-Membran sowohl für die potentiometrischen Messungen als auch für die voltammetrischen Bestimmungen eingesetzt werden kann.

Methoden und Materialien

Präparation von Graphitpaste-basierten Elektroden

Die Graphitpaste wurde durch manuelles Mischen von 51 % (w/t) Graphitpulver, 43 % (w/t) Harz und 6 % (w/t) Härter hergestellt. Die Mischung wurde in Elektrodenkörper aus PVC mit darin befindlichem Pt-Draht als Ableitung gepresst. Nach dem Aushärten wurde die Elektrodenoberfläche geschliffen. Die resultierende Oberfläche der Arbeitselektrode beträgt 0,126 cm^2 (ø 4 mm).



Abb. 2: Graphitpaste-basierte Elektrode.

Beschichtung der Elektrodenoberfläche mit Polymer.

Die leitfähigen Polypyrrolfilme (PPy) wurden als Mediatorschicht durch *In-situ*-Elektropolymerisation des Monomers Pyrrol (Py) mittels Cyclovoltammetrie (CV) an den Oberflächen der Graphitpaste-basierten Arbeitselektroden hergestellt. Als Referenzelektrode und Gegenelektrode wurden entsprechend eine $Ag/AgCl_{sat.KCl}$-Elektrode und ein Platindraht verwendet. Die elektrochemische Abscheidung erfolgte aus einer 0,1 mol/l Pyrrol-Lösung in 0,1 mol/l KNO_3. Die Ströme wurden im Potentialbereich zwischen 0,2 V und 0,7 V mit einer Abtastrate von 0,01 V/s und einem Potentialschritt von 5 mV aufgenommen. Insgesamt wurden 100 Zyklen durchgeführt.

Herstellung einer ionensensitiven Membran

Die 2%tige-Chitosanlösung wurde durch Lösen von 0,06 g Chitosan in 3 ml Essigsäure (2 mol/l) unter Rühren für 18 h hergestellt. Polyvinylchlorid (PVC) und Weichmacher 2-Nitrophenyloctylether (2-NPOE) wurden zuerst in Tetrahydrofuran (THF) gelöst. Anschließend wurde die Chitosanlösung zugegeben. Die Membran enthält Anteile von 48,38 % (w/t) PVC, 48,38 % (w/t) 2-NPOE und 3,24 % (w/t) Chitosan. Auf die mit Polypyrrol beschichtete Oberfläche der Arbeitselektrode wurden 40 µl der Mischung durch *Drop-casting* aufgetragen.

Materialien und Geräte

Für die Herstellung der Paste wurden Graphitpulver (Fluka), Epoxidharz Epilox® T19-32/1000 (Leuna-Harze GmbH) und Härter DPTA (Epoxidharze Andreas Weigel) verwendet. Chitosan in Form von Pulver mit einem DD von 90% (Produktname Ch90/30/A1) wurde von der Firma Bio-Log Heppe® GmbH bereitgestellt. Pyrrol, hochmolekulares PVC, THF und 2-NPOE wurden von Sigma Aldrich bezogen. Die Salze für die Herstellung von Messlösungen wurden von Carl Roth erworben.

Cyclovoltammetrie und Differential-Pulse-Voltammetrie (DPV) wurden mit dem PalmSens Multi EmStat 2 und der PSTrace-Software von PalmSens durchgeführt. Die potentiometrischen Messungen erfolgten mit dem Labormesssystem LM 2000 und der Software LM remote von Xylem Analytics Germany Sales GmbH & Co. KG Sensortechnik Meinsberg. Die REM-Aufnahmen erfolgten mit Helios NanoLab™ 660.

Ergebnisse und Diskussion

Elektropolymerisation von Pyrrol

Leitfähiges Polypyrrol stellt einen *Ion-to-electron*-Transducer zwischen der ionisch leitenden PVC-Membran und dem elektrisch leitenden graphithaltigen Substrat im chemischen Sensor dar [3, 4]. Abb. 3 zeigt die Oxidations-Reduktions-Kurven der Elektropolymerisation durch CV. Als hellblaue und dunkelblaue Messkurven sind der erste CV-Zyklus bzw. der 100. CV-Zyklus dargestellt. Die anderen Messkurven zeigen jedes zehnte Voltammogramm. Als Inset ist eine vereinfachte Oxidationsreaktion von Py zu PPy abgebildet:

$$Py \rightarrow PPy + e^-.$$

Der Mechanismus der Gesamtreaktion zur Bildung des Polymerfilmes ist kompliziert und umfasst mehrere Reaktionsschritte [5]. Der Anstieg der anodischen Stromdichte mit steigendem Potential ist mit der anodischen Oxidationsreaktion des Monomers verbunden. Die folgende Änderung der kathodischen Stromdichte entspricht der Bildung bzw. dem Wachstum des Polymerproduktes [6].

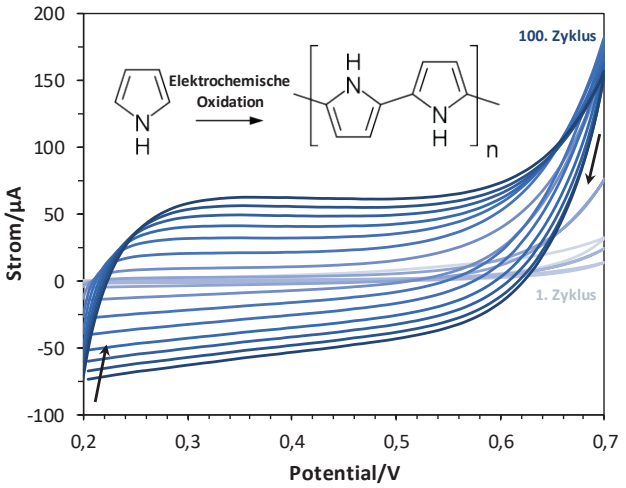


Abb. 3: Elektropolymerisation von leitfähigem Pyrrol mit Cyclovoltammetrie.

Die rasterelektronenmikroskopischen (REM) Aufnahmen einer Elektrodenoberfläche ohne PPy und einer PPy-beschichteten Oberfläche sind in der Abb. 4 zu sehen.

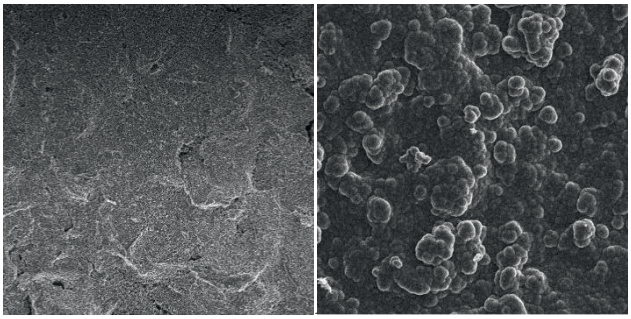


Abb. 4: REM-Aufnahmen der Elektrodenoberflächen ohne PPy-Film (links) und mit PPy-Film (rechts) bei 5.000-facher Vergrößerung.

Die Dicke des abgeschiedenen Polypyrrols ist für die Stabilität des Films von großer Bedeutung und soll 10 µm nicht überschreiten [7]. Im anderen Fall löst sich der Polymerfilm von der Oberfläche ab. Zur Bestimmung der Filmdicke *h* wurde das Faraday'sche Gesetz der Elektrolyse verwendet:

$$h = \frac{Q\ M}{A\ z\ F}$$

mit *Q* - elektrische Ladung, *M* - Molmasse Pyrrol, *A* - Fläche der Elektrode, *z* - Wert des Ions und *F* - Faraday-Konstante. Die resultierende Filmdicke liegt bei 3 µm.

Potentiometrische Bestimmung von Sulfationen

Die potentiometrische Bestimmung von Sulfationen mit einer Chitosan-modifizierten Elektrode erfolgte in Na_2SO_4-Standardlösungen unterschiedlicher Konzentration. Das potentiometrische Ansprechverhalten, gemessen gegen eine Ag/AgCl-Referenzelektrode, ist in der Abb. 5 zu sehen. Als Inset ist die resultierende Kalibrierkurve eingefügt. Es wurden reproduzierbare und stabile Potentialwerte erhalten. Im untersuchten Konzentrationsbereich wurde eine durchschnittliche Steilheit von 22,3 mV/Dekade berechnet. Das Bestimmtheitsmaß R^2 der linearen Regression beträgt 0,99.

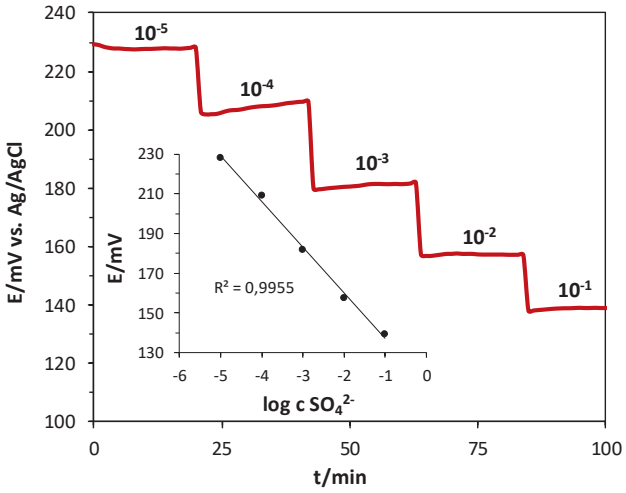


Abb. 5: Potentiometrisches Ansprechverhalten einer Chitosan-modifizierten Elektrode in Na_2SO_4-Standardlösungen (10^{-5} mol/l bis 10^{-1} mol/l) und Kalibrierkurve (Inset).

Voltammetrische Bestimmung von Eisenionen

Eine Arbeitselektrode gleicher Modifikation wie im potentiometrischen Versuch wurde für die voltammetrische Detektion von Eisenionen eingesetzt (Abb. 6). Eine Referenzelektrode auf Harz-KCl-Basis und Pt-Draht wurden für die Messungen verwendet.

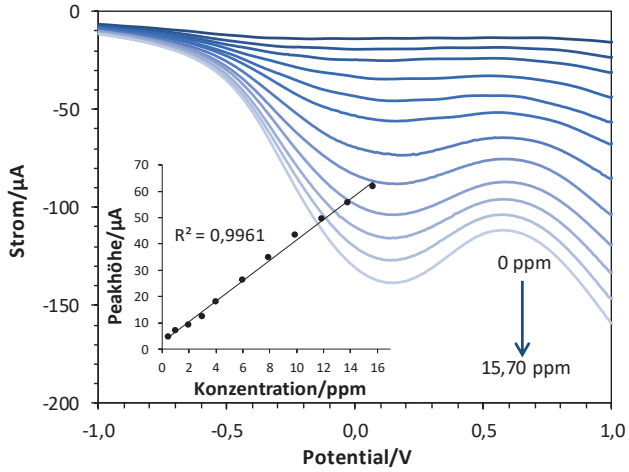


Abb. 6: Fe^{3+}-Bestimmung an Chitosan-modifizierter Elektrode durch adsorptive Stripping-Voltammetrie mit Kalibrierkurve (Inset) im Konzentrationsbereich bis 15,7 ppm.

Die voltammetrischen Messungen erfolgten im DPV-Modus. Als Elektrolyt wurde 10^{-4} mol/l KCl-Lösung mit 3 x 0,001 mol/l Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) verwendet. EDTA gehört zur Gruppe der Aminopolycarbonsäure-Liganden. Über sechs komplexbildende Gruppen, nämlich zwei Stickstoff- und vier Carboxylgruppen, bildet EDTA starke Komplexe mit den Fe^{3+}-Ionen [8].

Das Messprinzip der Fe^{3+}-Bestimmung durch Adsorptions-Stripping-Voltammetrie ist in der Abb. 7 schematisch dargestellt. Die Methode beruht auf der Komplexierung von dreiwertigem Eisen mit Ethylendiamintetraessigsäure. Nach der Zugabe eines Fe^{3+}-Aliquots zum EDTA-haltigen Elektrolyt werden sehr stabile $[Fe^{III}EDTA]^-$-Komplexe gebildet. Diese negativ geladenen Komplexverbindungen reagieren mit positiv geladenen Aminogruppen von Chitosan und adsorbieren damit auf der Elektrodenoberfläche. Der Prozess verläuft sehr schnell und ohne elektrochemische Abscheidung durch Anlegen eines Potentials über eine bestimmte Zeit. Beim Stripping-Schritt wird das Potential in kathodische Richtung von +1,0 V bis -1,0 V gefahren. Während die $[Fe^{III}EDTA]^-$-Komplexe zu $[Fe^{II}EDTA]^{2-}$ reduzieren, wird ein kathodischer Strompeak beim Potential von ca. +0,1 V registriert. Mit dem Stromsignal der Peakhöhe wurde eine Kalibrierkurve erstellt. Das Bestimmtheitsmaß R^2 der linearen Regression liegt bei 0,99.

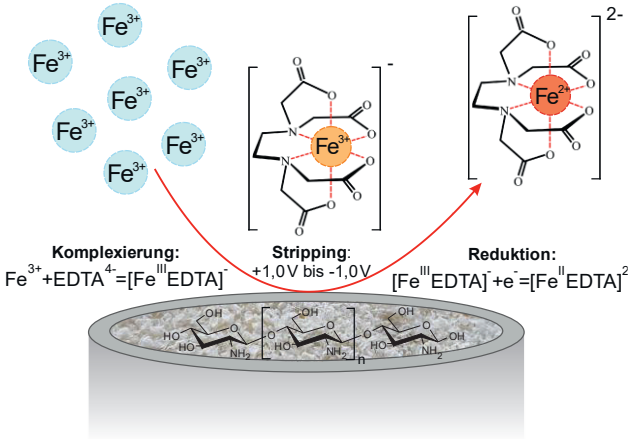


Abb. 7: Schematische Darstellung der Fe^{3+}-Bestimmung an einer Chitosan-modifizierten Elektrode durch adsorptive Stripping-Voltammetrie.

Zusammenfassung und Ausblick

Das Biopolymer Chitosan wurde als umweltfreundliche Alternative zu synthetischen Ionophoren bei der Herstellung von elektrochemischen Sensoren verwendet. Durch Immobilisierung von Chitosan in die PVC-Membran wurden potentiometrische Sulfat-sensitive Elektroden entwickelt und in Standardlösungen erprobt. Die Innovation besteht in der Möglichkeit, genau diese Elektrodenmodifikation ebenfalls für die voltammetrische Bestimmung anzuwenden. Die Fe^{3+}-Bestimmung durch adsorptive Stripping-Voltammetrie mit einer Chitosan-modifizierten Elektrode war erfolgreich.

Für einen zukünftigen Einsatz der Elektroden in Realproben von Spreewässern ergeben sich gute Anwendungsmöglichkeiten. Erstmalig wurden ionenselektive Elektroden der gezeigten Bauweise und Modifikation sowohl für die potentiometrische Detektion von Sulfationen als auch für die voltammetrische Bestimmung von Eisenionen verwendet.

Literatur

[1] Pyritverwitterung: Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie, https://www.umwelt.sachsen.de/umwelt/26953.htm, 22.03.2020

[2] SILVA, S. B., BATISTA, G. L., SANTIN, C. K.: Chitosan for Sensors and Electrochemical Applications. In: *Chitin and chitosan*: *Properties and applications*; Wiley, Hoboken, NJ, 2020, S. 461–476, ISBN 978-1-119-45043-6

[3] CAMMANN, K., GALSTER, H.: *Das Arbeiten mit ionenselektiven Elektroden.* Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg, 1996

[4] MICHALSKA, A.: Optimizing the analytical performance and construction of ion-selective electrodes with conducting polymer-based ion-to-electron transducers. In: *Analytical and bioanalytical chemistry* 384 (2006), Nr. 2, S. 391–406

[5] DIAZ, A. F., CASTILLO, J. I., LOGAN, J. A., LEE, W.-Y.: Electrochemistry of conducting polypyrrole films. In: *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry* 129 (1981), Nr. 1-2, S. 115–132

[6] SABOURAUD, G., SADKI, S., BRODIE, N.: The mechanisms of pyrrole electropolymerization. In: *Chemical Society Reviews* 29 (2000), Nr. 5, S. 283–293

[7] DEJEU, J., TAOUIL, A. E., ROUGEOT, P., LAKARD, S., LALLEMAND, F., LAKARD, B.: Morphological and adhesive properties of polypyrrole films synthesized by sonoelectrochemical technique. In: *Synthetic Metals* 160 (2010), Nr. 23-24, S. 2540–2545

[8] BERGE, H., DRESCHER, A.: Indirekte inversvoltammetrische Bestimmung von Elementen unter Anwendung von Verdrängungsreaktionen. In: *Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie* 231 (1967), Nr. 1, S. 11–17

Danksagung

Diese Arbeit wird in Kooperation mit dem Leibniz IPF Dresden im Projektvorhaben "Biopolymerbasierte Sensor-Aktor-Systeme zur Detektion und Flockung von Schadstoffen in verockerten Oberflächenwässern" (Akronym: DeFlo-Wasser, Projektnummer: 100377118) durchgeführt.

Die Autoren danken der Sächsischen Aufbaubank (SAB) für die Förderung des Projektvorhabens.

Das Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V. wird mitfinanziert durch Steuermittel auf der Grundlage des vom Sächsischen Landtag beschlossenen Haushaltes.

DOI 10.5162/15dss2021/P4.2

Entwicklung einer miniaturisierten Multiparametersonde für limnologische Anwendungen

F. Gerlach[1)], R. Bannasch[2)], I. Lange[2)], O. Mietz[3)], S.-Ch. Mietz[3)], W. Vonau[1)]

[1)] Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim, Deutschland
[2)] EvoLogics GmbH, Berlin, Deutschland
[3)] Institut für angewandte Gewässerökologie GmbH, Seddiner See, Deutschland
Kontakt: Frank.gerlach@ksi-meinsberg.de

Einleitung

Für die Gewässerüberwachung wurde in den letzten Jahren eine Vielzahl rechtlicher Regelungen auf Länderebene und im internationalen Rahmen eingeführt. Bereits im Jahr 2000 sind mit der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie qualitative Anforderungen für die Bewertung der Güte von Seen mit einer Fläche von mehr als 50 ha geschaffen worden. Fokus bildet hier die Begrifflichkeit eines „guten ökologischen Zustandes“. Dies beinhaltet neben einer diversen Besiedlung durch Unterwasserpflanzen und –tiere eine geringe Trophie, d.h. einen ausgewogenen, niedrigen Nährstoffgehalt, eine geringe Phytoplankton- (Chlorophyll-a) Menge ohne Massenentwicklungen sowie eine hohe Sichttiefe.

Die Gewässer der Industrie- und Bergbaufolgelandschaft zählen zu den künstlichen Gewässern und bilden einen eigenständigen Gewässertyp, dessen Leitbildentwicklung Inhalt zahlreicher Studien der letzten Dekaden war.

Industriefolgeseen weisen eine hohe Diversität hinsichtlich der Wasserqualität auf und hängen stark von ihrer Ursprungsgeschichte und Abbautechnologie ab. So hat das geförderte Mineralvorkommen nicht nur einen Einfluss auf den Chemismus, sondern auch auf die Morphologie des Folgesees. Auch die Art der Flutung ist für die Entwicklung des ökologischen Zustandes von großer Bedeutung.

Abhängig von der Endnutzung der Seen ergeben sich verschiedene Qualitätsansprüche, die wiederum diverse Behandlungsoptionen erforderlich machen. So muss z. B. unterschieden werden, ob der See zukünftig als Freizeitsee zum Schwimmen, Angeln oder Wassersport, als Brauchwasser oder zur landwirtschaftlichen Bewässerung genutzt werden soll. Bei einem Badegewässer stellt die toxische und hygienische Unbedenklichkeit sowie die Einhaltung der Grenzwerte hinsichtlich der EU-Badewasserrichtlinie oberste Priorität dar, während der Schutz der Biozönosen, die Naturnähe und freie Sukzession für reine Naturschutzgewässer unentbehrlich sind [1].

Derzeitig gibt es wenige kommerziell verfügbare, miniaturisierte Sensoren und Sensorsysteme für den limnologischen Bereich, insbesondere für den Flachwasserbereich bis 60 m Tauchtiefe, welche sich für die Applikation mit autark operierenden Wasserfahrzeugen eignen. Diese werden als routinetaugliche Messplattformen eingesetzt, um Monitoringprogramme zur Charakterisierung und Bewertung von Industriefolgeseen und darüber hinaus von Flachwasserseen auf der Basis erfasster Wasserqualitätsparameter, kosteneffizient durchzuführen.

Die im Rahmen eines europäischen FuE-Verbundvorhabens [2] zu lösende Teilaufgabenstellung bestand für das KSI in der Entwicklung und Realisierung einer miniaturisierten, tauchfähigen Messeinrichtung zur Bestimmung des pH-Werts, des Redoxpotenzials und der Leitfähigkeit sowie von Druck und Temperatur. Diese beinhaltet ein komplexes Messsystem mit einer miniaturisierten Multiparametersonde einschließlich der Elektronik- und Datenübertragungsmodule.

Entwicklungen

Messplattform

Die Messplattform (s. Abb.1) basiert auf einem Mehrrumpfschwimmkörper der im Projekt involvierten Fa. Evologic, Berlin. Dieser Katamaran besitzt den nötigen Auftrieb, eine ausreichende Stabilität und über einen Tender die Möglichkeit eine Winde zur Aufnahme von Tiefenprofilen zur Verfügung zu stellen.



Abb. 1: Mehrrumpfschwimmkörper mit Winde zur Aufnahme der miniaturisierten Multiparametersonde

Die GPS-gestützte Navigation der Messplattform gestattet die reproduzierbare Positionierung auf Seen und in Verbindung mit der Verwendung von Echolotsensoren die Erhebung von Bathymetriedaten. Somit kann die Anordnung als effizientes Werkzeug für das Monitoring von Seen und für Kontrollmessungen nach durchgeführten Sanierungs- und Restaurationsmaßnahmen eingesetzt werden

Messsystem

Das Messsystem dient zur Erfassung, der Anzeige und dem Abspeichern von Messparametern für limnologische

Anwendungen. Darüber hinaus ermöglicht es die Sensorkalibrierung, Signalkompensation und die eventgesteuerte Ansteuerung von Aktorik.

Das gesamte Messsystem besteht aus der Multiparametersonde, dem Funkmodul und dem Auswerterechner (Abb. 2).

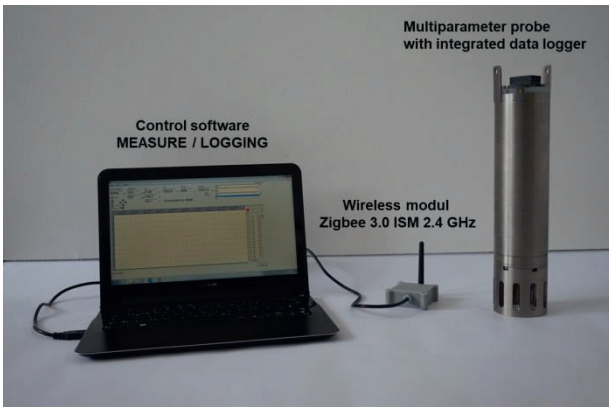


Abb. 2: Multiparameter-Messsystem mit Auswerterechner, Funkmodul ZIGBEE 3.0 und Multiparametersonde

Die miniaturisierte Sonde ist konzipiert für maximal 8 Kanäle. Bis auf den Parameter Leitfähigkeit sind alle Kanäle galvanisch getrennt. Die Daten aller Kanäle können mit einer Abtastrate von 1 Messung/s für eine Dauer von 8 Stunden in einem internen Datenlogger abgespeichert werden. Die Multiparametersonde verfügt über eine Echtzeituhr (RTC). Somit sind alle Datensätze mit einem Zeitstempel für Synchronisierungszwecke versehen.

Die Stromversorgung wird über einen 3,7 V Lithiumionen-Akku mit 3500 mAh und einer implementierten Schutzschaltung sichergestellt. Diese ist für einen maximalen Entladestrom von 10 A ausgelegt. Eine Ladeschaltung ist ebenfalls implementiert. Die Ladung erfolgt über ein konventionelles USB-Ladegerät und beträgt nach 6 Stunden 2400 mAh.

Die Verbindung vom Steuerrechner zum System wird über ein DIGI XBEE 3 ZIGBEE 3.0 Funkmodul hergestellt. Das Funkmodul arbeitet im 2,4 GHz-Bereich und hat einen Sende-/Empfangs-Stromverbrauch von 40/17 mA.

Die maximale Sichtentfernung beträgt mit der momentan intern verbauten Antenne ca. 25 m. Dies gestattet das Starten und Konfigurieren sowie die Messwertverfolgung des Messsystems im ufernahen Bereich. Werden die Anforderungsprofile in Zukunft geändert, so sind mit einer geänderten Elektronik und einer extern angeordneten Antenne überbrückbare Sichtentfernungen bis 1000 m möglich.

Sensorkonfiguration

Der Innovationsgehalt des Forschungsgegenstandes begründet sich zu einem wesentlichen Teil aus der Verwendung von miniaturisierten Sensoren zur Detektion der Wasserparameter. Vorab durchgeführte Forschungsaktivitäten [3, 4] bilden die wissenschaftliche und technologische Basis für die Entwicklung einer miniaturisierten Sensorkonfiguration für autonome Fahrzeuge. Hierfür kamen verschiedene Fertigungstechnologien zur Anwendung (Abb. 3).

Der pH-Wert wird aus Genauigkeitsgründen mit einer miniaturisierten pH-Elektrode in konventioneller Bauart gemessen. Für die Leitfähigkeitsmesszelle und die Redoxelektrode kommen Systeme in Dickschichttechnik zum Einsatz. Das für die potentiometrischen Parameter notwendige Referenzsystem besteht im Kern aus einer druckstabilen, polymerbasierten Metall/Metalloxidelektrode mit Reservoir. Dieses System verfügt über eine für die Applikation ausgesprochen gute Langzeitstabilität bei einer geringen Gefahr von Vergiftungserscheinungen.

Ergänzt wird das Sensorsetup durch umschaltbare Drucksensoren wahlweise 3/30 bar oder 30/300 bar. Dies gewährleistet eine hohe Auflösung der Tauchtiefe, auch im Flachwasserbereich. Der zentral angeordnete schnelle Temperaturfühler ermöglicht die effektive Temperaturkompensation der Sensorsignale.

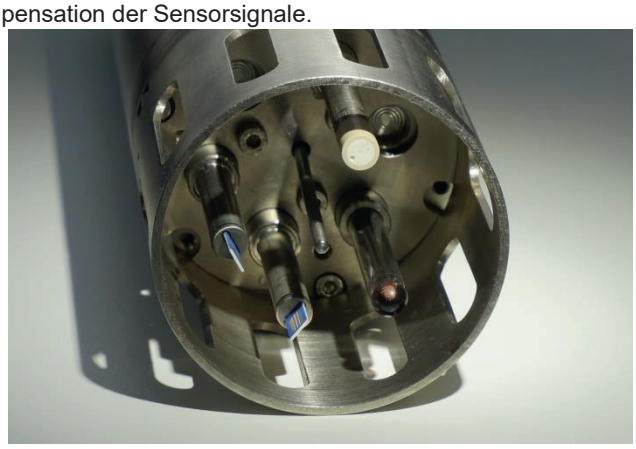


Abb. 3: Miniaturisierte Sensorkonfiguration (pH-Glaselektrode, 4-Elektroden-Leitfähigkeitszelle, Pt-Redoxpotenzial-Elektrode, polymerbasierte Referenzelektrode, Drucksensor und Temperatursensor)

Der Einsatz o.g. Technologien für die Herstellung und die Umsetzung von All-Solid-State-Prinzipien ermöglicht in geeigneter Weise die konsequente Miniaturisierung aller zur Anwendung kommenden Sensoren. Demgegenüber stehen die sensorspezifischen Nachteile, die durch die geänderten Konstruktionen, verminderten Reservoirs und verminderten Elektrodenflächen auftreten bzw. verschärft werden. Im Folgenden soll diese Problematik am Beispiel der planaren 4-Elektroden-Leitfähigkeitszelle diskutiert werden.

Planare 4-Elektroden-Leitfähigkeitsmesszelle

Diese Sensoren werden mittels Siebdruck auf planare Aluminiumoxid-Substrate (Dicke: 0,63 mm) gedruckt. Die Elektroden bestehen aus Platin und verfügen, in Folge einer glasfreien Pastenformulierung, nach dem Sintervorgang über eine poröse Morphologie mit einer hohen spezifischen Oberfläche (Abb. 3).

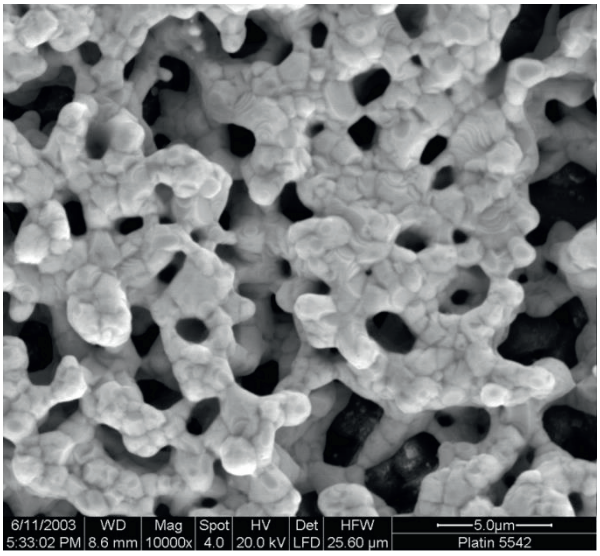


Abb. 3: poröse Platinelektrode aus glasfreier Pastenformulierung gesintert

Die Abb. 4 zeigt das realisierte Sensorlayout. Dabei besitzen die äußeren, stromführenden Elektroden eine effektive Länge von 7,9 mm und einer Breite von 0,72 mm und somit eine Fläche von ca. 5,7 mm^2. Die inneren potenzialabgreifenden Elektroden sind ebenfalls 7,9 mm lang und besitzen eine Breite von ca. 0,5 mm mit einem Elektrodenabstand von ca. 350 µm. In dieser Konstellation ergibt sich eine Zellkonstante von ca. 0,5 cm^{-1}. Damit ist der Messbereich, der am häufigsten in der natürlichen Umwelt auftretenden Leitfähigkeiten mit einer geringen Fehlerbandbreite abgedeckt.

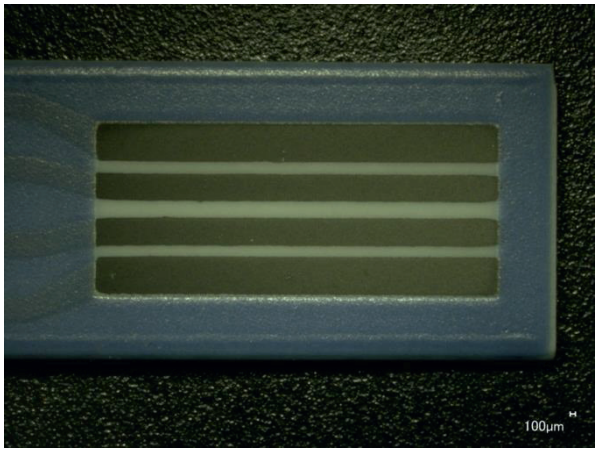


Abb. 4: Sensorlayout der 4-Elektroden-Leitfähigkeitszelle

Ergebnisse

Vorangestellte Impedanzspektren (Abb. 5) zur Bestimmung der optimalen Generatorfrequenz der Elektrodenanordnung bei einer Amplitude von 50 mV ergaben, dass sich der Phasenwinkel über dem gesamten Frequenzbereich von 1 Hz bis 100 kHz nahe 0° bewegt. Dies gilt auch für den gesamten betrachteten Temperaturbereich von 5 °C bis 25 °C. Damit wurde die Messfrequenz auf 500 Hz festgelegt, um die Belastungen der Elektroden durch Polarisationseffekte gering zu halten.

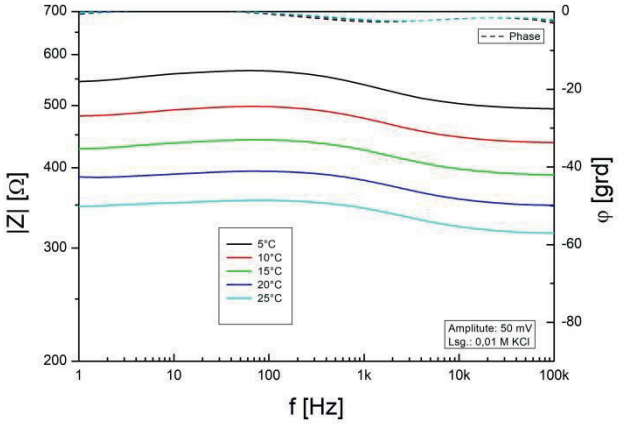


Abb. 5: Impedanzspektren der Anordung (50 mV, Lösung 0,01 M KCl, Temperaturbereich 5 °C – 25 °C)

Messungen der Anordnung in potenziostatischer Betriebsweise bis zu Lösungskonzentrationen von 0,02 M KCl zeigen sehr stabile Verhältnisse im betrachteten Temperaturbereich. Erst ab einer Konzentration von 0,1 M KCl kam es zu Unregelmäßigkeiten sowohl in Betrag und Phase der Kurve, begründet durch Gasblasenentwicklungen an den Elektroden.

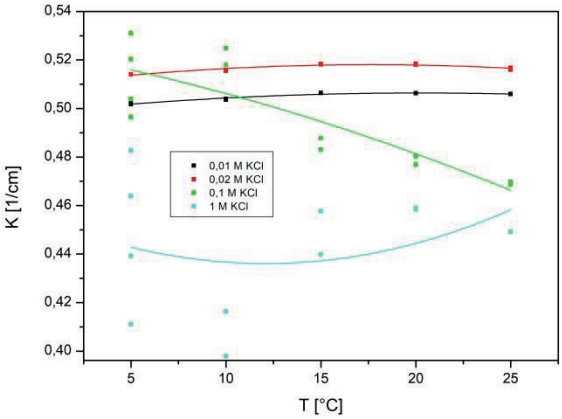


Abb. 6: Zellkonstante als Funktion der Temperatur und der Konzentration der Lösung (potenziostatische Betriebsweise, Spannung: 30 mV, Frequenz 500 Hz)

Der entscheidende Parameter bei der Anwendung von Leitfähigkeitszellen ist die Zellkonstante K. Diese stellt sich vorzugsweise bei Zweielektrodenmesszellen als Quotient der geometrischen Größen Elektrodenabstand und Elektrodenfläche oder aber als Produkt des gemessenen Widerstandes der Anordnung und der spezifischen Leitfähigkeit

der Messlösung dar. Diese Zellkonstante (Abb. 6) und deren Konstanz bestimmt in Verbindung mit der angeschlossenen Elektronik erheblich den verwertbaren Messbereich und die Reproduzierbarkeit der Messung.

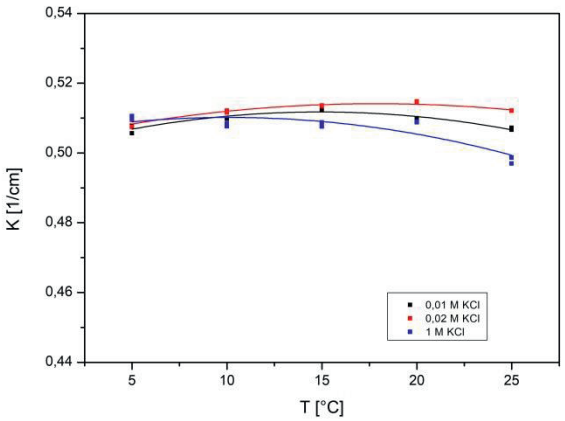


Abb. 7: Zellkonstante als Funktion der Temperatur und der Konzentration der Lösung, (galvanostatische Betriebsweise, Strom 50 µA, Frequenz 500 Hz)

Eine Möglichkeit, die Performance der Messzelle noch weiter zu verbessern, ist das Betreiben der Messzelle im galvanostatischen Mode (Abb. 7). Dabei wurde im vorliegenden Fall der treibende Strom an den äußeren Elektroden auf 50 µA eingestellt.

Die signifikant unterschiedliche Auffächerung der Kurvenschar in Folge der Abhängigkeit der Zellkonstante von der Konzentration der Messlösung und der Temperatur ist auf die planare Bauform zurückzuführen. Da es sich um Streufeldsensoren handelt, deren sphärische Feldlinienausbildung u.a. von äußeren Bedingungen abhängig sind. Dem könnte mit zusätzlichen Abschirmelektroden, wie sie bei hochpräzisen Sensoren in der Tiefseeforschung verwendet werden, entgegengewirkt werden.

Ein weiterer Punkt zur Fehlerminimierung bei der Leitfähigkeitsmessung in natürlicher Umgebung ist die entsprechende Temperaturkompensation. Üblich ist die Kompensation entsprechend der Norm DIN EN 27 888 [5], die einen Vorschlag zur Temperaturkompensation in „natürlichen Wässern“ enthält. Dieses Verfahren ist bei einer stark ausgeprägten Schichtung aerober und anaerober Zonen des Wasserkörpers in Verbindung mit einhergehenden Rücklöseprozessen aus dem Sediment nur bedingt anwendbar. Einen Ausweg bietet hier die Probennahme mit nachfolgender Bestimmung des spezifischen Temperaturkoeffizienten des Gewässers.

Bei dem Parameter pH-Wert kann auf die herkömmliche Zweipunktkalibrierung unter Anwendung des NERNST-Faktors zur Temperaturkompensation bzw. bei der Ermittlung des Redoxpotenzials die zusätzliche Angabe der Messtemperatur zurückgegriffen werden. Hervorzuheben ist darüber hinaus, dass sich die verwendete All-Solid-State-Referenzelektrode auf polymerer Basis als überaus stabil erwies und alle Labor- und Feldmessungen mit einem Exemplar durchgeführt werden konnten, welches danach zum Ausgangszustand nur wenige mV Potenzialunterschied aufwies, obwohl diese sowohl unterschiedlichen Temperatur- und Druckbedingungen als auch dem Kontakt mit Bodenschlamm und schwefelwasserstoffhaltigen Medien ausgesetzt war. Für weitergehende limnologische Untersuchungen im Zusammenhang mit Restaurierungs- und Sanierungsfragestellungen wäre es wünschenswert, einen miniaturisierten optischen Sauerstoffsensor zu implementieren.

Auswertung

Die von der Multiparametersonde detektierten Werte (Abb. 8) sind Teil der Basisparameter, die für die Integration in das gleichzeitig entwickelte Softwaremodul notwendig sind und das komplexe Bild der Gewässergüte abbilden sollen.

Darin stellt der pH-Wert einen maßgeblichen Parameter in Industriefolgeseen dar, da die Freisetzungsraten der meisten Metalle und Halbmetalle stark pH-abhängig sind und darüber hinaus die meisten Wasserlebewesen einen relativ engen pH-Toleranzbereich besitzen.

Weitere Inputparameter, die die Trophieentwicklung und Wahl geeigneter Entwicklungsmöglichkeiten für Industriefolgeseen beeinflussen, sind z. B. die Hauptnährstoffe auf Basis von Phosphor-, Stickstoff- und Kohlenverbindungen sowie das Vorhandensein externer oder interner Belastungsquellen. Zusätzlich zu chemischen/physikalischen und biologischen Faktoren sind weiterhin besondere hydraulische (z. B. Wasserstandsschwankungen) und morphometrische Randbedingungen zu betrachten. Dabei beeinflusst das Verhältnis von Hypo- zu Epilimnion sowie die Ufersteilheit und die daraus resultierende Stabilität z. B. die Habitatqualität und damit die Ansiedlung von aquatischen Makrophyten.

Je nach Folgenutzung und Belastungsart ergeben sich im Softwaremodul Empfehlungen für Restaurations- und Sanierungsverfahren, wie z. B. die Flutung mit Fremdwasser, Maßnahmen im Einzugsgebiet, biogene und chemische Abdichtungen des Sediments um Rücklösungsprozesse zu beeinflussen, Kalkung zur Neutralisation, biogene Sulfat- und Eisenreduktionen, kontrollierte Eutrophierung etc. [1].

DOI 10.5162/15dss2021/P4.2

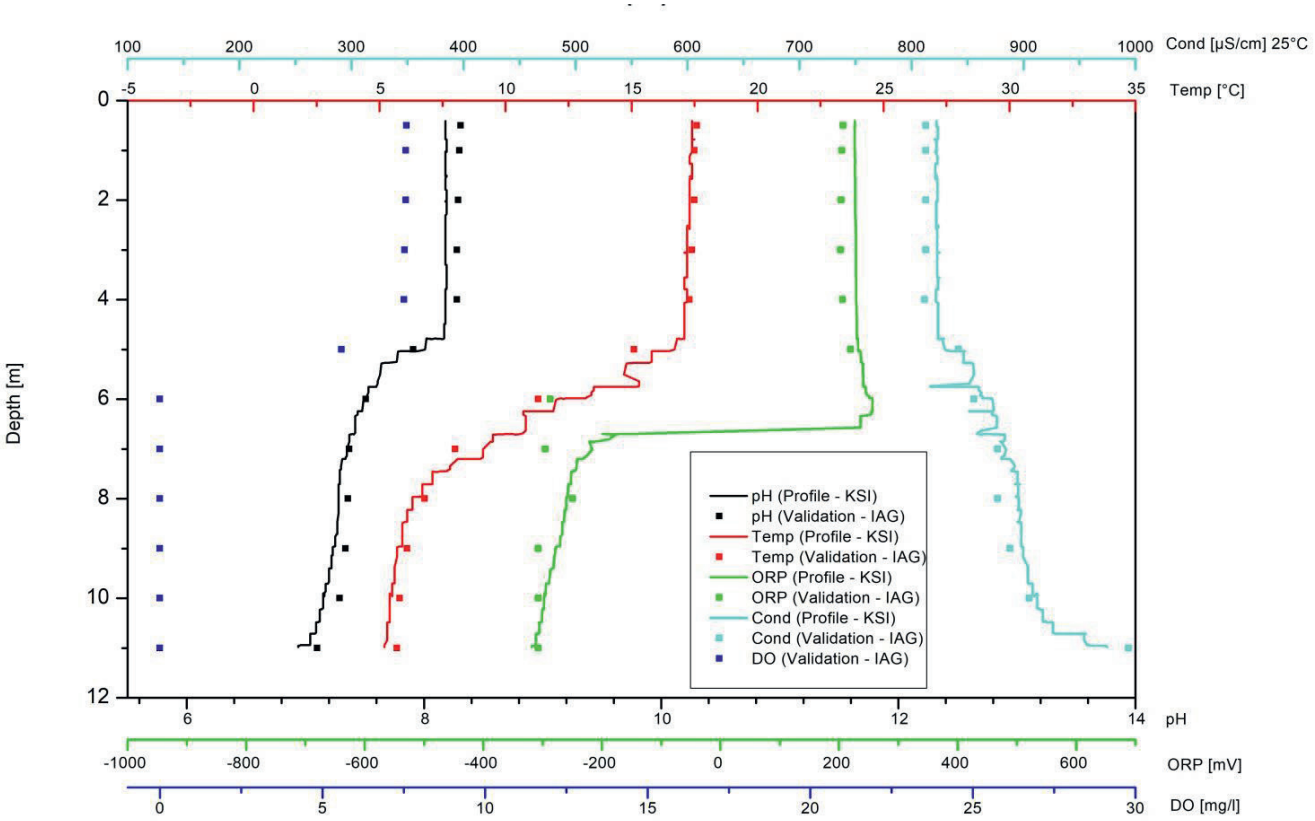


Abb. 8: Tiefenprofilmessungen mit Multiparameter-Messsystem (Kurt-Schwabe-Institut) und Referenzmessungen mit konventioneller Messtechnik (Institut für angewandte Gewässerökologie)

Zusammenfassung

Die im vorliegenden Beitrag vorgestellten miniaturisierten Sensoren zur Bestimmung von Wasserqualitätsparametern, wie z.B. pH-Wert, Redoxpotenzial und elektrische Leitfähigkeit sind in Verbindung mit den erfassten Parametern Druck und Temperatur dazu geeignet, kleine autonome Wasserfahrzeuge sogenannte (ASV - Autonomous Surface Vehicle) sensorisch auszurüsten, um komplexe limnologische Problemstellungen effektiv und kostengünstig zu bearbeiten. Es konnte nachgewiesen werden, dass diese miniaturisierten Sensoren, welche mit neuen innovativen Fertigungstechnologien hergestellt wurden, mit Referenzmessungen traditioneller Messtechnik vergleichbare Werte liefern. Die Kombination von GPS basierter Navigation, der Erstellung einer Bathymetrie und die Erfassung reproduzierbarer Tiefenprofile eröffnet die Möglichkeit der objektorientierten Modellierung von Wasserkörpern, die Ableitung effektiver Sanierungskonzepte und das nachfolgende Monitoring der Wasserqualitätsparameter.

Literatur

[1] Nixdorf, B.; Mutz, M.; Wiegleb, G.: Die Bewertung von Tagebaugewässern und ihrer Entwicklung im Spiegel ökologischer und wasserwirtschaftlicher Rahmenbedingungen. Kapitel 8. In: Kapfer, M. und Nixdorf, B. (Hg.): Gewässerreport (Nr. 5): Methoden der limnologischen Untersuchung und Bewertung von Stand und Fließgewässern. Cottbus (Aktuelle Reihe, 1/99), 1999.

[2] Eurostars Verbundvorhaben „Autark funktionsfähiges mobiles Messsystem für das Monitoring der Wasserqualität in Industriefolgeseen - HydroSense“ (FKZ: 01QE1907C)

[3] Schindler, W.; Gerlach, F.; Kaden, H.: pH-Sensor für Präzisionsmessungen in Tiefenwässern. Sensormagazin (1995) 3, 6-9

[4] Gerlach, F.; Berthold, M.; Vonau, W.: Chemosensorik für die Erkundung von Tiefenbohrungen. Geothermiekongress, ISBN-13-978- 932570-69-8, Essen, 11.-13.11.2014

[5] DIN EN 27888: Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit (ISO 7888:1985). DIN Deutsches Institut für Normung e.V. Berlin

Danksagung

Das Projekt „HydroSense“ (FKZ: 01QE1907C) wird im Rahmen des europäischen Förderprogramms „Eurostars“ durchgeführt und die deutschen Partner aus Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung gefördert.

Das Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V. wird durch Steuermittel auf der Grundlage des vom Sächsischen Landtag beschlossenen Haushaltes mitfinanziert.

DOI 10.5162/15dss2021/P4.3

Analyse von *Legionella pneumophila* in Aerosolen aus Verdunstungskühlanlagen mittels einer flussbasierten Microarray-Plattform

Lena Heining[1], Laura Welp[2], Achim Hugo[2] und Michael Seidel[1]

[1]Lehrstuhl für Analytische Chemie und Wasserchemie, TU München, Garching, Deutschland
[2]Institut für Energie- und Umwelttechnik, Duisburg, Deutschland
Kontakt: lena.heining@tum.de

Einleitung

Immer wieder kam es in den letzten Jahren zu Ausbrüchen von Legionellen, was letztendlich auf kontaminierte Verdunstungskühlanlagen (s. Abb. 1) zurückgeführt werden konnte [1]. Die 42. BImSchV sieht zwar eine regelmäßige Überwachung des Kühlwassers vor, jedoch besteht die Gefahr für eine Erkrankung vor allem durch austretende Aerosole. Sind diese mit *Legionella pneumophila* kontaminiert, kann eine Inhalation zur Legionärskrankheit, einer Pneumonie-ähnlichen Erkrankung, führen. Je nach Wetterbedingungen können *L. pneumophila* in Aerosolen mehrere Kilometer weit transportiert werden [2].



Abb. 1: Verdunstungskühlanlage

Deshalb ist es wichtig, Informationen über die Verteilung dieser Bakterien zwischen Wasser- und Luftphase zu erhalten, da ein direkter Zusammenhang zwischen der Konzentration an Bakterien im Wasser und in der Luft nicht erwiesen ist.
Ein weiteres Problem ist der Übergang von *L. pneumophila* in den sogenannten „viable but not culturable“ (VBNC) Status. Dadurch sind die Bakterien zwar lebensfähig und pathogen, aber nicht mehr kultivierbar, was bei einer Analyse durch Kultivierung zu einer Unterbestimmung führen kann. Ein weiterer Nachteil der Verwendung der Kultivierung als Standardmethode stellt die sehr lange Analysendauer von 7-10 Tage dar. Besonders bei akuter Gefährdung ist ein schnelles Messergebnis nötig, um zeitnah geeignete Maßnahmen ergreifen zu können.
Durch einen Antikörper-basierten Microarray-Immunoassay auf dem Microarray Chip Reader (MCR) LegioTyper ist nicht nur ein schnelles Messergebnis innerhalb von 30 Minuten möglich, sondern auch gleichzeitig eine Sero- und Subtypisierung. Neben der Analyse des Prozesswassers sollte zukünftig für ein umfassendes Umweltmonitoring auch die Immission und Emission von *L. pneumophila* mittels Immunoassay untersucht werden können. Die Antikörperbasierte Schnellanalyse von Bioaerosolen kann einen wichtigen Beitrag für ein verbessertes Ausbruchsmanagement und Risikobewertung von Verdunstungskühlanlagen und Kühltürmen liefern.

Methoden und Materialien

Für die Erzeugung von pathogenen Bioaerosolen ist ein Arbeitsplatz ohne Risiko einer Exposition nötig. Deswegen wird die Generation und Sammlung der Bioaerosole in einer Bioaerosolkammer durchgeführt. Dabei handelt es sich um eine zur Biosicherheitsbank umgebauten Glove-Box (s. Abb. 2) [3].

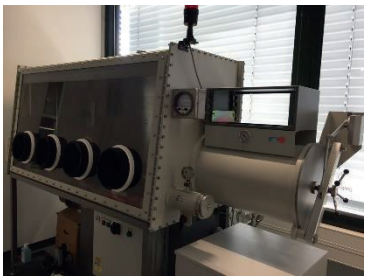


Abb. 2: Bioaerosolkammer

Die Aerosolerzeugung findet mit dem Pari LC Plus Nebulizer mit Pari Boy Kompressor statt.

Die Sammlung erfolgt über 10 Minuten mit dem Zyklonsammler Coriolis µ (s. Abb. 3) bei einer Flussrate von 300 L/min und mit 10 mL Ringerlösung als Sammelflüssigkeit.



Abb. 3: Zyklonsammler Coriolis µ

Anschließend wird ein Chemilumineszenz Sandwich-Microarray-Immunoassay (CL-SMIA) auf einer automatisierten Microarray-Analyseplattfom (MCR) LegioTyper (s. Abb. 4) durchgeführt.



Abb. 4: Neueste Version der Analyseplattform MCR

Es wird ein definiertes Panel an Fängerantikörpern verwendet, an die *L. pneumophila* Serogruppe (Sg) 1 mit unterschiedlicher Affinität bindet. Die Antikörper sind dabei auf einem Polycarbonat-Microarraychip, bei welchem die Oberfläche mit Carboxy-modifiertem Jeffamine beschichtet ist, aufgetragen. Nach Injektion der Probe und Bindung der Legionellen erfolgt die automatisierte Zugabe eines Detektionsantikörpers gegen *L. pneumophila*, anschließend die der Reagenzien für die Chemilumineszenzreaktion, die mit einer CCD-Kamera detektiert wird.

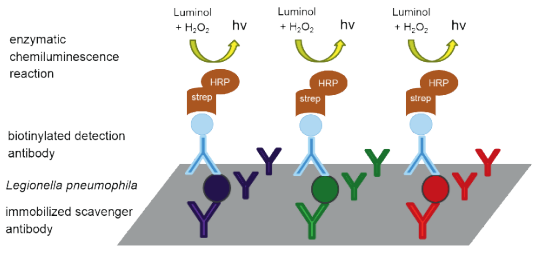


Abb. 5: Schematische Darstellung des Aufbaus des Chemilumineszenz Sandwich-Microarray-Immunoassays (CL-SMIA)

In Ergänzung erfolgt eine quantitative Analyse auf einem Durchflusszytometer von rqmicro (s. Abb. 6). Mit diesem Analysegerät ist eine Bestimmung der Zellkonzentrationen von lebenden und toten Legionellen möglich. Verwendet wird ein Reagenzienkit, bei dem ein Panel an Antikörpern gegen *L. pneumophila* Sg 1-15 auf magnetischen Mikropartikeln immobilisiert wird. In Zusammenhang mit fluoreszenzmarkierten monoklonalen Antikörpern ist eine quantitative Sammeleffizienz des Coriolis µ bezogen auf den Anteil an intakten und nicht-intakten Bakterienzellen möglich.



Abb. 6: Durchflusszytometer rqmicro.COUNT

Ergebnisse

Subtypisierung am LegioTyper

In Abb. 7 ist die Kameraaufnahme der Chemilumineszenz-Signale des CL-SMIA zu sehen.

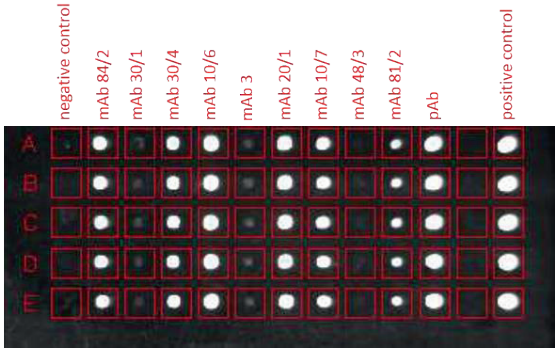


Abb. 7: Kameraaufnahme der Chemilumineszenz-Signale des CL-SMIA für *Legionella pneumophila* Sg 1 Subtyp Bellingham bei einer Konzentration von $0{,}5 \cdot 10^7$ Zellen/mL. Verwendete Antikörper sind oberhalb in roter Schrift angegeben.

Der polyklonale Antikörper pAb zeigte ein Signal bei der Anwesenheit von *L. pneumophila* Sg 1, während durch die Zusammensetzung der positiven Signale bei den neun monoklonalen Antikörpern auf den jeweiligen Subtyp geschlossen werden kann. Im Falle des hier verwendeten Subtypen Bellingham sind positive Signale für die Antikörper mAb 84/2, mAb 30/4, mAb10/6, mAb 20/1, mAb 10/7 zu erwarten und auch zu erkennen. Zur Überprüfung der Funktionsfähigkeit

des Systems wird bei jeder Messung eine Negativ- und Positivkontrolle mitgeführt.

Konzentrationsbestimmung mit der rqmicro-Methode

Da der CL-SMIA bisher nur qualitative Ergebnisse liefert, wurde zusätzlich eine quantitative Analyse der gesammelten Bioaerosole mittels Durchflusszytometrie von rqmicro durchgeführt.
Dazu wurde sowohl die Gesamtzahl an *L. pneumophila* Sg 1-15 (total legionella concentration (TLC)), als auch die Anzahl der intakten *L. pneumophila* Sg 1-15 (intact legionella concentration (ILC)) mit einer Auftragung von grüner Fluoreszenz gegen rote Fluoreszenz bestimmt. Durch Vergleich der ILC-Ergebnisse vor und nach dem Sammeln, konnte erkannt werden, dass eine Abnahme der lebenden Legionellen von 2,30 x 10^7 ILC/mL auf 1,67 x 10^7 ILC/mL (mit Berücksichtigung Verdünnungsfaktor durch Sammelflüssigkeit) auftrat. Dies kann durch Stressfaktoren beim Sammeln begründet werden.
Durch Einbezug der TLC konnte die Überlebensrate beim Sammeln der Legionellen in Aerosolen berechnet werden. Dazu wurde der prozentuale Anteil an ILC in Bezug auf TLC vor und nach dem Sammeln bestimmt, um zu sehen wie hoch die prozentuale Abnahme der lebenden Legionellen durch den Sammelprozess ist. Waren vorher noch 89,7 % intakte Zellen vorhanden, sank der Wert nachher auf 76,1 %. Dadurch konnte gezeigt werden, dass 84,9 % der Legionellen den Sammelvorgang überleben.
Durch Wiederholung der Versuche ergaben sich für den Coriolis µ Überlebensraten von 75 - 90 %.

Diskussion

Zusammengefasst kann gesagt werden, dass beide angesprochenen Systeme für Bioaerosole geeignet sind.

Mit dem CL-SMIA liegt innerhalb von 30 Minuten ein Ergebnis vor, ob in der Probe *L. pneumophila* Sg 1 enthalten ist und wenn ja welcher Subtyp vorliegt. Jedoch wurde dieser Assay bisher nicht quantitativ durchgeführt, sodass nur eine qualitative Betrachtung erfolgen kann.

Zur Konzentrationsbestimmung kann die Durchflusszytometrie mit der Methode von rqmicro angewandt werden, wobei innerhalb von 49 Minuten vier Proben gleichzeitig vermessen werden können. Hierbei ist neben der spezifischen Analyse von *L. pneumophila* Sg 1-15 mit lebend/tot Unterscheidung auch eine Bestimmung der Gesamtzellzahl (total cell concentration (TCC)) möglich, was besonders bei Realproben von Interesse sein kann.

Da bei der Sammlung mit dem Coriolis µ immer ein Verdünnungsfaktor auftritt, müssen für beide Systeme weitere Untersuchungen in Bezug auf Nachweisgrenzen durchgeführt werden.

Bisher fanden alle Versuche unter definierten Bedingungen im Labor statt. Bei Realproben besteht immer die Herausforderung einer komplexeren Matrix und der Anwesenheit von Begleitbakterien, was zu Schwierigkeiten bei der Analyse von *L. pneumophila* führen kann.
Im weiteren Verlauf des Projekts sollen deshalb die entwickelten Sammel- und Analysestrategien für *L. pneumophila* in Aerosolen unter realen Bedingungen in Verdunstungskühlanlagen getestet werden, um eine passende Kombination aus Sammler und Analyseplattform zu etablieren.

Literatur

[1] MAISA, A. ; BROCKMANN, A. ; RENKEN, F. ; LUCK, C. ; PLEISCHL, S. ; EXNER, M. ; DANIELS-HAARDT, I. ; JURKE A.: Epidemiological investigation and case–control study: a Legionnaires' disease outbreak associated with cooling towers in Warstein, Germany, August–September 2013. In: *Euro Surveill* 20 (2015), pii=30064

[2] RICKETTS, KD. ; JOSEPH, C. ; LEE, J. ; WEWALKA, G.: European Working Group for Legionella Infections. Survey on legislation regarding wet cooling systems in European countries. In: *Euro Surveill* 13 (2008), pii=18982

[3] KIWULL, B. ; WUNDERLICH, A. ; HERR, C.E.W. ; NIESSNER, R. ; SEIDEL, M.: Bioaerosol chamber for Legionella containing shower aerosols. In: *Gefahrstoffe - Reinhaltung der Luft*, 76 (2016), Nr. 9, S. 344-350

DOI 10.5162/15dss2021/P4.4

Stabilitätsuntersuchungen an miniaturisierten Nitratsensoren

Michelle Brandao Silva de Assis[1], Kathrin Trommer[1], Alfred Kick[1], Johannes Schwarz[1] und Michael Mertig[1,2]

[1]Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim, Deutschland
[2]Physikalische Chemie, Mess- und Sensortechnik, Technische Universität Dresden, Dresden, Deutschland
Kontakt: michelle.brandao@ksi-meinsberg.de

Einleitung

Zu hohe Nitrat-Konzentrationen in Boden, Grund- und Oberflächenwässern sind zu einem ernsthaften Umweltproblem geworden. Im Zuge der intensiven Bewirtschaftung landwirtschaftlicher Nutzflächen werden den Böden Nährstoffe in Form von nitrathaltigen Düngemitteln zugeführt. Damit soll ein optimales Pflanzenwachstum gewährleistet werden. Wenn die Pflanzen jedoch nicht alle Nährstoffe aus dem Boden aufnehmen, verbleibt Nitrat im Boden, wird ausgewaschen, gelangt in tiefere Bodenschichten und damit ins Grundwasser und letztlich ins Trinkwasser. Nitrat selbst ist nicht giftig, jedoch stellen die Abbauprodukte Nitrit und Nitrosamine eine ernstzunehmende Gesundheitsgefahr dar. Hier haben wir eine ambivalente Situation vorliegen. Zum einen ist der Einsatz von Düngemitteln für das Pflanzenwachstum essentiell für wirtschaftliche Erträge in der Landwirtschaft, zum anderen müssen die Vorgaben und Grenzwerte zum Schutz unserer Umwelt eingehalten werden. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit, den Nitratgehalt in Boden und Wasser zu überwachen [1,2]. Mit mobilen Systemen, die eine Messung vor Ort erlauben, kann beispielsweise den Landwirten ein Instrument zur Verfügung gestellt werden, mit dem sie eine bedarfsgerechte Düngung ihrer Anbauflächen durchführen und gleichzeitig auf die Belange des Umweltschutzes achten können. Hier können nitratselektive Siebdruck-Sensoren in *All-Solid-State*-Konfiguration einen wichtigen Beitrag leisten. Ihr einfacher und robuster Aufbau sowie das unkomplizierte Messverfahren stellen wesentliche Vorteile gegenüber einer kostenintensiven, instrumentellen Laboranalytik dar, die meist nur von qualifiziertem Personal ausgeführt werden kann [3,4]. Derzeit gibt es auf dem Markt mehrere Analysatoren, Sensornetzwerke und Überwachungssysteme für den Nitratnachweis. Einige davon sind elektrochemische Sensoren, Biosensoren, optische Fasersensoren und elektromagnetische Sensoren [3]. Diese Systeme sind jedoch relativ teuer oder arbeiten mit nitratselektiven Elektroden, welche Flüssigkomponenten und zerbrechliche Glasteile enthalten [5].

In dieser Arbeit werden Ergebnisse von Stabilitätsuntersuchungen an nitratselektiven, siebdruckgefertigten Dickschicht-Elektroden gezeigt und diskutiert, da Stabilität im Sinne von Zuverlässigkeit und Beständigkeit sehr wichtige Kriterien für einen Vor-Ort-Sensor darstellen. Dabei geht es sowohl um die Gewährung der Funktionalität über längere Zeiträume und unter unterschiedlichen Lagerungsbedingungen, als auch um die Qualität der nitratselektiven Arbeitselektrode in Bezug auf die Parameter Steilheit und Linearität sowie um den Vergleich zu Referenzmethoden. Obwohl die vorgestellten Siebdruck-Sensoren neben der Arbeitselektrode auch bereits eine aufgedruckte Referenzelektrode besitzen, kam diese in den durchgeführten Versuchen nicht zum Einsatz. Das Hauptaugenmerk der Experimente lag auf dem Vergleich von unterschiedlich präparierten Arbeitselektroden, wobei eine verwendete klassische Ag/AgCl-Referenzelektrode mit gesättigtem KCl-Innenelektrolyt eine zuverlässige Vergleichsbasis bildete.

Methoden und Materialien

Materialien und Geräte

Die Chemikalien wurden von Sigma Aldrich und Carl Roth bezogen. Die potentiometrischen Untersuchungen erfolgten mit einem Mehrparameter-Labor-Messsystem LM 2000 der Fa. Sensortechnik Meinsberg GmbH (Xylem Analytics Germany Sales GmbH & Co. KG) mit der Software LM remote.

Sensoraufbau

Die Grundkörper der potentiometrischen Sensoren bestehen aus einem Keramiksubstrat mit einer Arbeits- und einer Referenzelektrode. Sie verfügen über elektrische Anschlüsse am unteren Substratende. Die Elektroden und die kontaktierenden elektrischen Leitbahnen wurden im Siebdruckverfahren hergestellt und letztere durch eine Deckschicht elektrisch isoliert.

Es wurden zwei verschiedene Varianten von nitratselektiven Elektroden (auf Goldbasis und auf Graphitbasis) mit verschiedenen funktionalen Schichten und Abmessungen präpariert. Die Grundstruktur der Referenzelektrode besteht aus siebgedruckten Silber- und Silberchlorid-Schichten (Ag/AgCl). Abbildung 1 zeigt Dickschichtsensoren mit verschiedenen Elektroden und Abmessungen.

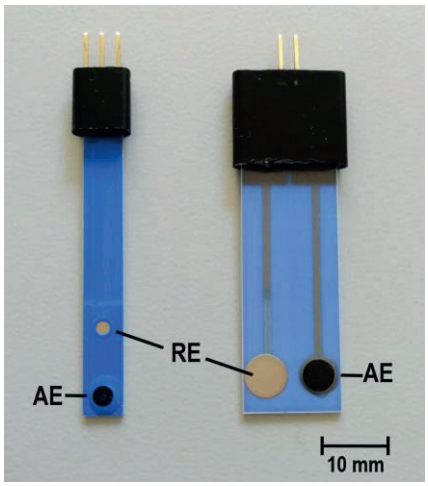


Abb. 1: Siebdruck-Sensoren mit einer Arbeitselektrode (AE) auf Graphitbasis (links) und auf Basis von Goldpaste (rechts), jeweils mit aufgebrachter Mediatorschicht und ionenselektiver Membran sowie nichtmodifizierte Referenzelektrode (RE).

Leitfähige Polymere sind aufgrund ihrer elektrochemischen Eigenschaften als Festkontaktmaterialien in der Literatur bekannt [7]. Ihre elektrische Leitfähigkeit hängt mit der Bildung von Ladungsträgern im Polymerrückgrat zusammen (Oxidation oder Reduktion). Darüber hinaus erfordert das Vorliegen einer zusätzlichen Ladung die Aufnahme von Ionen, z.B. aus einer Lösung, um die Elektroneutralität zu erhalten. Dieser Effekt macht sie also auch zu einer Ionenaustauschmatrix [6]. Für die Präparation der Mediatorschicht wurden anhand der Literatur zwei erfolgversprechende Modifikationen ausgewählt und umgesetzt [6,7]. Folgende leitfähige Polymere wurden verwendet: (a) Polypyrrol sowie (b) Poly(3-octylthiophen-2,5-diyl) mit Nanokompositen aus Molybdändisulfid.

Die Beschichtung mit dem Polymer Polypyrrol erfolgte durch Elektropolymerisation mittels zyklischer Voltammetrie aus dem Monomer Pyrrol. Die zweite Modifikation der Mediatorschicht (b) wurde mittels Drop-Casting hergestellt, weil in diesem Fall die Verbindung bereits als Polymer vorlag. Es wurde eine Mischung aus Poly(3-octylthiophen-2,5-diyl) mit Nanokompositen aus Molybdändisulfid auf die Arbeitselektroden aufgetropft.

In der ionenselektiven PVC-Membran wurde für alle hergestellten AE gleich die Nitrat-komplexierende Verbindung Tridodecylmethylammoniumnitrat immobilisiert.

In Abbildung 2 ist der schematische Aufbau des potentiometrischen Sensors dargestellt.

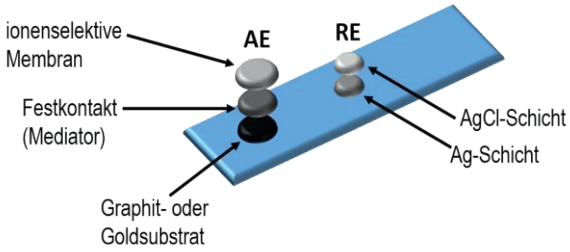


Abb. 2: Schematische Ansicht der Schichtstruktur für einen ionenselektiven Sensor mit Arbeitselektrode (AE) und Referenzelektrode (RE).

Stabilität in Abhängigkeit der Lagerungsbedingungen

Für das Experiment wurden zwei Arbeitselektrodentypen mit unterschiedlichen funktionalen Schichtaufbauten verwendet. Die erste AE basierte auf einer Graphit-Grundelektrode, die mit Polypyrrol und der ionenselektiven Schicht bedeckt war. Die zweite bestand aus einer Gold-Grundelektrode, beschichtet mit Poly(3-octylthiophen-2,5-diyl) und Molybdändisulfid-Nanokompositen sowie der abdeckenden ionenselektiven Schicht. Der zweite Typ von AE wird in der Literatur als besonders stabil beschrieben [7]. Beide Typen AE werden hier vergleichend untersucht.

Die ausgewählten Elektroden wurden über Nacht in einer Ammoniumnitrat-Standardlösung der Konzentration 10^{-2} mol/l konditioniert und am folgenden Tag wurde das potentiometrische Ansprechverhalten im Konzentrationsbereich zwischen 10^{-2} mol/l und 10^{-4} mol/l Ammoniumnitrat gemessen und damit die Kalibriergerade erstellt. Nach der ersten Messung (Tag 0) wurden die Elektroden unter zwei verschiedenen Bedingungen für einige Tage gelagert. Eine Elektrode jeden Typs wurde in einer Ammoniumnitrat-Standardlösung (10^{-2} mol/l) aufbewahrt und die andere Elektrode wurde bei Raumtemperatur trocken gelagert. Vor dem jeweiligen Einsatz wurden sie für 30 min konditioniert. Dann wurden die Elektrode wieder gemessen. Dieser Versuch wurde über 4 Wochen durchgeführt und nach jeweils 3 - 6 Tagen wurde für jeden Sensor eine Kalibrierkurve erstellt.

Untersuchung des Verhaltens der Elektroden im monatlichen Abstand

Auch für dieses Experiment wurden die zwei beschriebenen AE-Typen mit verwendet. Die Konditionierung der Sensoren erfolgte wieder über Nacht in Standardlösung (10^{-2} mol/l NH_4NO_3). Am nächsten Tag erfolgte die Messung des Ansprechverhaltens mit Ammoniumnitratlösungen und daran anschließend Messungen von Trinkwasserproben aus Dresden (Tw1), Chemnitz (Tw2) und Mügeln (Tw3). Diese Prozedur wurde einmal pro Monat mit

denselben Elektroden wiederholt, um deren Zuverlässigkeit zu überprüfen. Zwischen den Messungen wurden hier beide Elektrodentypen trocken gelagert. Die Ergebnisse der mit den ionenselektiven Elektroden erhaltenen Nitratgehalte wurden mit Referenzwerten verglichen, die mit Ionenchromatographie (IC) bestimmt wurden. Zusätzlich wurden in den Vergleich die Angaben der zuständigen Wasserversorger einbezogen: DREWAG für Probe Tw1, EINS für Probe Tw2 und Wasserverband Döbeln-Oschatz für Tw3.

Ergebnisse

Stabilität in Abhängigkeit der Lagerungsbedingungen

Abbildung 3 und Abbildung 4 zeigen jeweils die Kalibriergeraden der Elektroden auf Graphitbasis mit der Mediatorschicht Polypyrrol unter den zwei beschriebenen unterschiedlichen Lagerungsbedingungen.

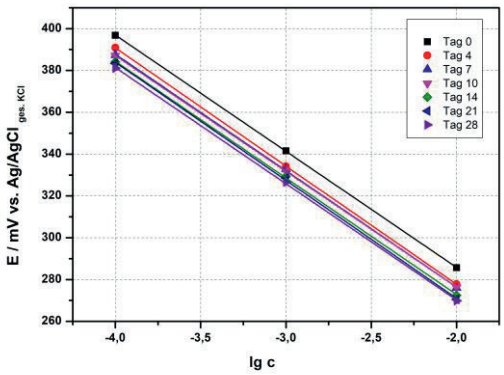


Abb. 3: Kalibriergeraden der modifizierten Elektrode auf Graphitbasis für 28 Tage bei Aufbewahrung in Konditionierungslösung (10^{-2} mol/l NH_4NO_3).

In Abbildung 3 ist zeitabhängig eine kleine Verschiebung des Absolutpotentials zwischen den Kalibrierkurven zu sehen. Am nahezu parallelen Verlauf der Geraden ist erkennbar, dass nur geringe Abweichungen in der Steigung der Kalibriergeraden auftraten. Tabelle 1 zeigt im Detail die Steilheitswerte (S in mV/Dekade), das Bestimmtheitsmaß (R^2) als Linearitätskriterium und die theoretische Steilheit S_t, die auf der Grundlage der Temperatur der Messlösung über die Nernst-Gleichung berechnet wurde. Außerdem ist die Potential-Differenz ΔE absolut (mV) und relativ (%) für die Standardlösungskonzentration 10^{-3} mol/l für jede Messung bezogen auf den Tag 0 angegeben.

Tab. 1: Ergebnisse der Kalibrierungen (vgl. Abb.3).

Tag	S [mV/Dek.]	R^2	S_t [mV/ Dek.]	Δ E [mV]	Δ E [%]
0	-55,56	0,9999	59,18	-----	-----
4	-56,55	0,9999	59,18	-7,42	2,17
7	-55,66	0,9997	59,38	-8,66	2,54
10	-55,40	0,9999	59,36	-9,47	2,77
14	-55,77	0,9998	59,17	-12,26	3,59
21	-56,44	0,9994	59,31	-13,24	3,88
28	-55,60	0,9997	59,02	-14,96	4,38

Die Nernst-Gleichung ist das Produkt aus der molaren Gaskonstante R, der Temperatur T und dem natürlichen Logarithmus von 10 geteilt durch die Anzahl der Elektronen z und die Faraday-Konstante F. Da jede Messung eine leicht andere Temperatur aufwies, waren die S_t-Werte ebenfalls unterschiedlich, wie die Tabelle zeigt.

Es ist ersichtlich, dass die Differenz zwischen den Steilheitswerten weniger als 1 mV/Dekade beträgt. Außerdem waren die experimentell beobachteten Werte nahe an den theoretischen Werten. Zwischen beiden wurde eine Differenz von weniger als 5 mV/Dekade beobachtet. Die vierte Spalte der Tabelle zeigt die Änderung des Potentials ΔE. Die Absolutpotentiale nehmen kontinuierlich ab. Die Änderungen der Kalibrierkurven über 28 Tage sind < 5%.

Im Unterschied dazu weist die Elektrode gleichen Typs bei trockener Lagerung zwischen den Messungen größere Potentialverschiebungen auf (Abbildung 4). Allerdings wurden ähnlich stabile Steilheitswerte gefunden wie bei der Lagerung in Konditionierlösung. Die Werte in Tabelle 2 zeigen, dass der Unterschied der Steilheitswerte ebenfalls < 1 mV/Dekade ist.

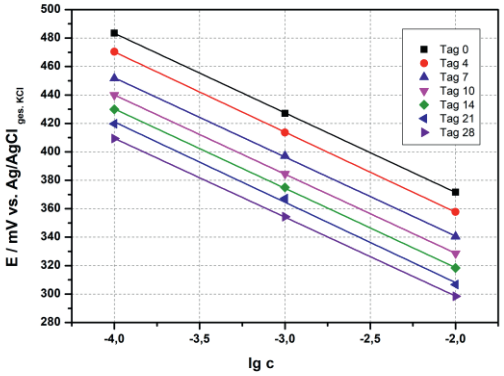


Abb. 4: Kalibrierkurven der modifizierten Elektrode auf Graphitbasis für 28 Tage bei Trockenlagerung zwischen den Messungen.

Tab. 2: Ergebnisse der Kalibrierungen (vgl. Abb. 4).

Tag	S [mV/ Dek.]	R^2	S_t [mV/ Dek.]	Δ E [mV]	Δ E [%]
0	-55,91	0,9999	59,18	-----	-----
4	-56,35	0,9999	59,18	-13,57	3,18
7	-55,65	0,9997	59,38	-29,99	7,02
10	-55,67	0,9999	59,36	-42,54	9,96
14	-55,81	0,9998	59,17	-52,14	12,21
21	-56,49	0,9967	59,31	-59,93	14,03
28	-55,46	0,9999	59,02	-72,73	17,03

Die Elektrode auf Goldbasis mit einer Schicht aus Poly(3-octylthiophen-2,5-diyl) mit Nanokompositen aus Molybdändisulfid zeigt bei kontinuierlicher Lagerung in Konditionierlösung ein anderes Verhalten, wie in Abbildung 5 dargestellt ist.

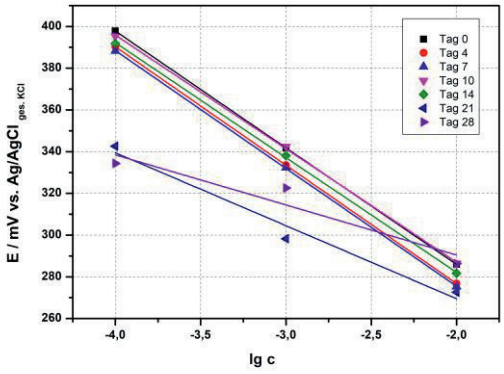


Abb. 5: Kalibrierkurven des modifizierten Sensors auf Goldbasis für 28 Tage bei Aufbewahrung in Konditionierungslösung (10^{-2} mol/l NH_4NO_3).

Die Kalibriergeraden zeigen bis zum Tag 14 ein relativ stabiles Verhalten der AE, danach fällt jedoch die Steilheit rapide ab. Es ist festzustellen, dass die Geraden ein unregelmäßiges Messverhalten abbilden. Die Kalibrierwerte nehmen nicht wie bei den Graphitsensoren progressiv ab. Es ist zu sehen, dass die Differenz im Steilheitswert zwar anfangs auch gering bleibt, aber größer ist als bei den Graphit-basierten Elektroden. Die letzten beiden Kalibriergeraden und damit auch deren Steilheit liegen völlig außerhalb der Norm. Daraus lässt sich schließen, dass diese Arbeitselektrode nach 21 Tagen nicht mehr korrekt funktioniert. Die nachstehenden Ergebnisse in Tabelle 3 bestätigen das.

Tab. 3: Ergebnisse der Kalibrierungen (vgl. Abb. 5).

Tag	S [mV/ Dek.]	R^2	S_t [mV/ Dek.]	Δ E [mV]	Δ E [%]
0	-55,93	0,9999	59,18	-----	-----
4	-56,78	1	59,18	-8,19	2,40
7	-56,48	0,9999	59,38	-9,41	2,75
10	-54,44	0,9994	59,36	0,77	0,22
14	-55,06	0,9996	59,17	-3,60	1,05
21	-35,00	0,9534	59,31	-----	-----
28	-24,02	0,8415	59,02	-----	-----

Die gleiche Analyse wurde für denselben Elektrodentyp unter der Bedingung Trockenlagerung zwischen den Messungen durchgeführt (Abbildung 6)

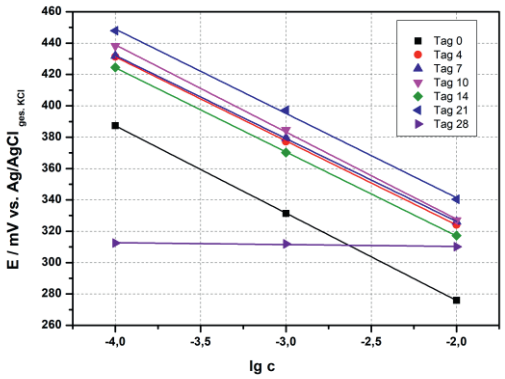


Abb. 6: Kalibrierkurven des modifizierten Sensors auf Goldbasis für 28 Tage bei Trockenlagerung zwischen den Messungen.

Tab. 4: Ergebnisse der Kalibrierungen (vgl. Abb.6)

Tag	S [mV/ Dek.]	R^2	S_t [mV/Dek.]	Δ E [mV]	Δ E [%]
0	-55,70	0,9999	59,18	-----	-----
4	-53,61	0,9999	59,18	+45,98	13,88
7	-52,92	0,9999	59,38	+48,23	14,56
10	-55,58	0,9990	59,36	+53,42	16,12
14	-53,63	0,9999	59,17	+38,93	11,75
21	-53,74	0,9976	59,31	-----	-----
28	-----	-----	59,02	-----	-----

Die Ergebnisse zeigen, dass die Gold-Elektroden in den ersten Messreihen akzeptable Kalibrierwerte liefern. Im Gegensatz zum zeitlichen Kurvenverlauf des Elektrodentyps (a) steigen die Absolutpotentiale von Tag 4 zu Tag 14 gering an; die größte Potentialänderung wurde zwischen Tag 0 und Tag 4 beobachtet. In den jeweils letzten Messungen sieht man ein wesentlich schlechteres Ansprechverhalten mit ungenügender Elektrodensteilheit. Daraus wird abermals geschlossen, dass die Elektrode auf Goldbasis und einer Schicht aus Poly(3-octylthiophen-2,5-diyl) mit Nanokompositen aus

Molybdändisulfid über längere Zeiten nicht genügend Stabilität aufweist.

Verhalten der Elektroden bei Nitratbestimmung im monatlichen Abstand

Dieser Messmodus zum Nachweis von Nitrat in Trinkwasserproben wurde mit jeweils denselben Sensoren einmal pro Monat in der Zeitspanne von 4 Monaten wiederholt. In diesem Versuch wurde der Bereich der Kalibrierung größer gewählt, da nicht nur der Nitrat-Nachweis in realen Trinkwasserproben von Interesse war, sondern auch der Blick auf die obere und untere Betriebsgrenze der verschiedenen Nitratsensoren. Der Arbeitsbereich der Sensoren liegt laut Literatur normalerweise zwischen 10^{-5} bis 1 mol/l Nitrat. Das Ansprechverhalten einer Elektrode auf Graphitbasis und modifiziert mit Polypyrrol ist in Abbildung 7 dargestellt.

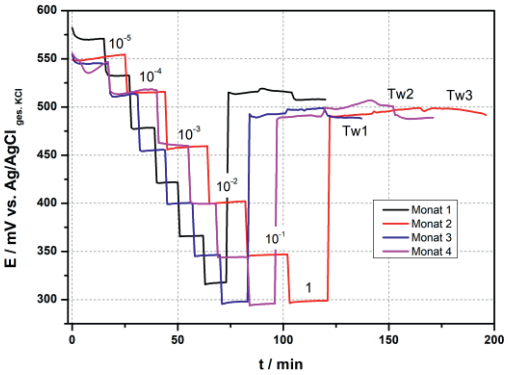


Abb. 7: Potentiometrisches Ansprechverhalten in NH_4NO_3-Lösungen (10^{-5} mol/l - 1 mol/l) und Messung von Trinkwasserproben. Modifizierter Sensor des Typs (a) auf Graphitbasis.

Im Allgemeinen zeigen alle Kurven eine gute Stabilität mit gut definierten Stufen zwischen den Konzentrationsdekaden. In diesem Punkt findet sich das oben beschriebene Verhalten der Elektrode bei zwischenzeitlicher Lagerung im Trockenen im Zeitraum von 4 Monaten bestätigt. Die Kalibrierkurven zeigen nur geringe Änderungen in der Steilheit und fast Nernst-Verhalten. Die Verschiebung des Absolutpotentials von der ersten Messung zur nächsten betrug etwa 25 mV und dann stabilisierten sich die Potentialwerte. Tabelle 5 zeigt im Detail die für jede Probe ermittelten Nitratgehalte sowie die Referenzwerte, die auf den Angaben der Wasserversorger und der Ionenchromatographie-Analyse beruhen.

Tab. 5: Vergleich der ermittelten Nitratgehalte mit Referenzwerten für die Elektrode auf Graphitbasis.

	Parameter		Nitratgehalt der Realproben [mg/l]		
Mon. [m]	S [mV/ Dek.]	R^2	TW1	TW2	TW3
1	-52,01	0,9966	9,76	9,80	13,78
2	-52,54	0,9967	12,30	9,39	12,01
3	-51,17	0,9943	9,79	7,65	11,86
4	-52,18	0,9897	11,94	7,44	12,84
Referenzwerte (IC 2021)			16,00	13,02	17,84
Referenzwerte Wasserversorger			12,4 – 16,2	6,95 – 10,3	Ø15,8

Die Referenzwerte der Wasserversorger wurden aus den Jahresberichten der Unternehmen in jeder Stadt entnommen. Sie weisen die analysierten Werte entweder in einem bestimmten Bereich oder in einem Durchschnittswert aus, da der Nitratgehalt im Trinkwasser im Laufe des Jahres schwanken kann. Dies war auch der Grund, warum in dieser Arbeit die Analyse zusätzlich mit Ionenchromatographie durchgeführt wurde. Auf diese Weise wurden für jede Trinkwasserprobe genauere Werte des Nitratgehalts ermittelt.

Vergleicht man die Ergebnisse der Graphitelektrode mit den Referenzwerten, so ist von Monat zu Monat ein geringer Unterschied festzustellen. Insgesamt konnte gezeigt werden, dass die Elektrode dieses Typs eine richtige Erkennung der Nitrat-Ionenkonzentration liefert. Es wird vermutet, dass die Unterschiede in den Ergebnissen mit dem Verlust der ionenselektiven Substanz in der Membran der Arbeitselektrode (Auswascheffekte) und dem Einfluss möglicher Störionen zusammenhängen.

Obwohl die Gold-basierte Elektrode ein etwas besseres Nernst-Verhalten zeigt (Tabelle 6), ist die beobachtete Streuung der Potentialwerte größer (Abbildung 8) als bei der Graphit-basierten Elektrode, was zu einer größeren Streuung der gemessenen Nitratwerte führt.

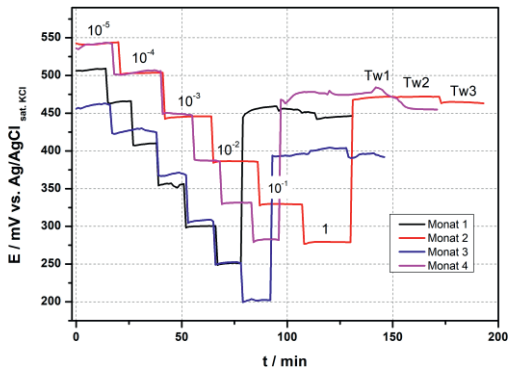


Abb. 8: Potentiometrisches Ansprechverhalten in NH_4NO_3-Lösungen (10^{-5} mol/l - 1 mol/l) und Messung von Trinkwasserproben. Modifizierter Sensor des Typs (b) auf Goldbasis.

Tab. 6: Vergleich der ermittelten Nitratgehalte mit Referenzwerten für die Elektrode auf Goldbasis.

	Parameter		Nitratgehalt der Realproben [mg/l]		
Mon. [m]	**S [mV/ Dek.]**	**R^2**	**TW1**	**TW2**	**TW3**
1	-52,57	0,9985	6,69	9,36	11,68
2	-54,47	0,9967	17,49	17,43	24,81
3	-53,74	0,9947	15,34	11,14	17,25
4	-53,94	0,9952	14,94	18,71	37,67
Referenzwerte (IC 2021)			16,00	13,02	17,84
Referenzwerte Wasserversorger			12,4 – 16,2	6,95 – 10,3	Ø15,8

Diskussion

Die Versuche, die dieser Arbeit zugrunde liegen, sollten das Verhalten der beiden untersuchten Elektrodentypen analysieren. Stabilität, Reproduzierbarkeit und Nachweisgrenze sind wichtige Faktoren für einen Nitrat-Sensor, um vor Ort für eine lange Zeit und mit einem Minimum an Eingriffen zu arbeiten. Die Ergebnisse dieser Stabilitätsuntersuchungen im wässrigen System liefern auch wichtige Erkenntnisse für eine Anwendung der Elektroden auf das System Boden.

Das Verhalten der Graphit-basierten Elektrode mit Polypyrrol zeigte vielversprechende Ergebnisse im Versuch, bei dem die Elektrode über 28 Tage immer in Konditionierlösung verblieb. Die Unterschiede in der Steilheit und die absolute Potentialverschiebung waren im Vergleich zu der anderen Elektrode desselben Typs jedoch mit Trockenlagerung zwischen den Messungen geringer. Das bedeutet, dass es von Vorteil ist, die Sensoren für stabile und reproduzierbare Ergebnisse immer im Flüssigkeitskontakt zu belassen. Ebenfalls kann mit der gezeigten Stabilität der Elektrodensteilheit und des Ansprechverhaltens eine eventuell notwendige Nachkalibrierung des Sensors bei nur einer einzigen Standardkonzentration angedacht werden.

Die Elektrodenmodifikation mit Gold und Poly(3-octylthiophen-2,5-diyl) und Molybdändisulfid-Nanokompositen lieferte andere Ergebnisse unter den festgelegten Lagerungsbedingungen. Insbesondere wurde festgestellt, dass ihre Funktionsfähigkeit unter den beschriebenen Lagerungsbedingungen nach bereits 3 Wochen nicht mehr gegeben war.

Die Tatsache, dass mit der Graphit-basierten Arbeitselektrode, die mit der Mediatorschicht Polypyrrol modifiziert ist, stabilere Resultate erzielt wurden, ist die Voraussetzung für weitere Optimierungen in Bezug auf den Schichtaufbau der AE. Darüber hinaus sind weiter Untersuchungen im Hinblick auf die Störeinflüsse des Mediums durchzuführen. Faktoren wie Temperatur, pH-Wert und andere können die Funktion des gesamten Systems beeinflussen.

Literatur

[1] CHRISTIANSEN, T.; WHALLEY, C.; ZAL, N.; Kristensen, P.: Freshwater. In: *The European environment - state and outlook 2020, Knowledge for transition to a sustainable Europe*, Chapter 04, 2019.

[2] SHUKLA, S.; SAXENA, A.: *Global Status of Nitrate Contamination in Groundwater: Its Occurrence, Health Impacts, and Mitigation Measures*. In: at ResearchGate, 2018.

[3] AZMI, A.; AZMAN, A. A.; IBRAHIM, S.; YUNUS, M. A. M.: *Techniques in advancing the capabilities of various nitrate detection methods: A review*, international Journal on Smart Sensing and Intelligent Systems, 10 (2), 223-261, 2017.

[4] SCHWARZ, J.; TROMMER, K.; MERTIG, M.: Solid-contact ion-selective electrodes based on graphite paste for potentiometric nitrate and ammonium determinations, American Journal of Analytical Chemistry 9.12 (2018): 591.

[5] CHO, W. J.; KIM, D.; JUNG, D. H.; CHO, S. S.; KIM, H.: *An Automated Water Nitrate Monitoring System based on Ion-Selective Electrodes*, JBE, 41 (2), 75-84, 2016.

[6] MICHALSKA, A.: *Optimizing the analytical performance and construction of ion-selective electrodes with conducting polymer-based ion-to-electron transducers*, Anal. Bioanal. Chem., 384, 391-406, 2006.

[7] ALI, M. A.; WANG, X.; CHEN, Y.; JIAO, Y.; MAHAL, N. K.; MORU, S.; CASTELLANO, M. J.; SCHNABLE, J. C.; SCHNABLE, P. S.; DONG, L.: *Continuous Monitoring of Soil Nitrate Using a Miniature Sensor with Poly(3-octyl-thiophene) and Molybdenum Disulfide Nanocomposite*, ACS Appl. Mater. Interfaces, 11, 29195-29206, 2019.

Danksagung

Die Autoren danken für die Förderung der Arbeiten im Rahmen des europäischen PENTA-Verbundprojekts „Miniaturized monitoring sensor systems for plants and agriculture“ (PLANtAR, FKZ: 16ME0159S).

Das Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V. wird mitfinanziert durch Steuermittel auf der Grundlage des vom Sächsischen Landtag beschlossenen Haushaltes.

DOI 10.5162/15dss2021/P4.6

Kombinierung eines Wasser-Sensorsystems mit einem vollautomatischen indirekt kompetitiven Durchfluss-Microarray-Immunoassay als Frühwarn-System für vermehrtes Algenwachstum und Freisetzung von Algentoxinen in Oberflächengewässern

Andreas Auernhammer[1], Cindy Dongxin Hu[2] und Michael Seidel[1]

[1]Institut für Wasserchemie und chemische Balneologie, TU München, Garching, Deutschland
[2]A.U.G. Signals Ltd., Ontario, Canada
Kontakt: a.auernhammer@tum.de

Einleitung

Algenblüten sind sprunghafte und massenhafte Vermehrungen von Cyanobakterien. Begünstigt durch den Klimawandel und der Eutrophierung der Gewässer, wurde dieses Phänomen in den letzten Jahren immer häufiger beobachtet.[1] Ein exponentieller Wachstumsschub der Cyanobakterien trübt nicht nur das Wasser, sondern hat auch einen negativen Einfluss auf aquatische Makrophyten und Lebewesen. Während der Algenblüte steigt die Belastung der Gewässer mit Cyanotoxinen, wie z. B. Microcystin-LR, die schädliche Wirkungen auf das betroffene Ökosystem haben und eine Gefährdung für die menschliche Gesundheit darstellen.

Zur Vorbeugung von Gefährdungen wird in der Badewasserrichtlinie des Europäischen Parlaments vorgeschrieben, dass für Badegewässer eine geeignete Überwachung durchzuführen ist, dessen Profil auf eine mögliche Algenblüte hinweisen und angemessene Bewirtschaftungsmaßnahmen ergriffen werden müssen, sobald eine Massenvermehrung oder potentielle Gesundheitsgefährdung festgestellt wurde.[2] Das Gefahrenpotential wird meistens durch visuelle Prüfung eingeschätzt wobei die Trübung des Wassers, Sichttiefe, Bildung von Schlieren und Aufrahmungen berücksichtigt werden. Im Fall einer Potentiellen Gefahr durch Cyanotoxine geben diskrete Probennahmen mit anschließenden mikroskopischen-, chromatographischen- oder immunologischen Analysen Aufschluss über die Art der anwesenden Cyanobakterien und Cyanotoxinkonzentrationen.

Trotz dieser Vorsichtsmaßnahmen bleiben Algenblüten regelmäßig unentdeckt, bis Unfälle passieren und anschließend erst Cyanobakterien in Verdacht geraten. Bei diesen Unfällen kommen oft Hunde zu schaden, welche Vergiftungserscheinungen zeigen oder an Cyanotoxinvergiftungen sterben. Alleine in diesem Jahr gab es einige Meldungen dieser Art z.B. ist am Tegeler See[3] und am Mandichosee[4] jeweils ein Hund und am Asbachdelta sind fünf Hunde wegen Cyanotoxinvergiftung gestorben[5]. Diese unentdeckten Algenblüten stellen nicht nur ein hohes Gesundheitsrisiko für Hunde dar, sondern auch in extremen Fällen für badende Kinder und Erwachsene.

Um solche Unfälle zu vermeiden, ist es zwingend notwendig ein Frühwarnsystem für drohende Algenblüten zu entwickeln, welches in der Lage ist, anhand von Veränderungen bestimmter Parameter, welche eine Algenblüte vorhersagen können, eine drohende Massenvermehrung zu erkennen. Mit einer Cloud-basierten Datenverarbeitung und künstlicher Intelligenz könnte zukünftig Daten in Echtzeit verarbeitet werden und softwaregsteuert eine Warnmeldungen erzeugt werden. Für den Lernalgorithmus ist es wichtig, dass eine direkte Korrelation mit den sensorischen Messdaten und den Konzentrationen an freien und zellgebundenen Cyanotoxinen hergestellt wird. Dafür soll das TRITON-Wassersensor-System mit einem Durchfluss-Microarray-Immunoassay kombiniert werden. Für eine kontinuierliche Messung der Cyanotoxine, ist es wichtig, dass eine kontinuierliche Aufkonzentrie-

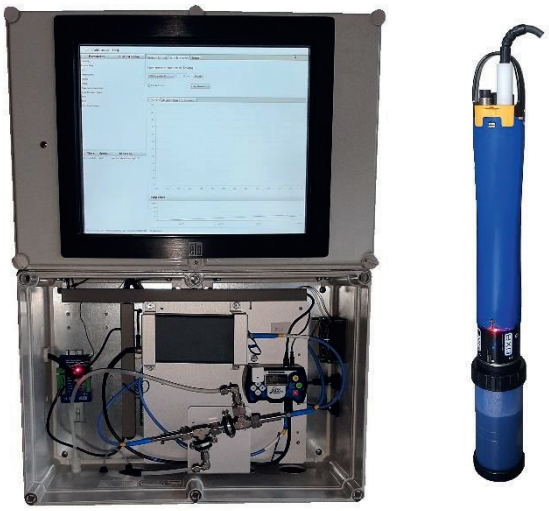


Abb. 1: TRITON-Wassersensor System;
Links oben: Computermodul; Links unten: Optisches Sensormodul; Rechts: EXO-Sensor.

rungsmethode für freie Cyanotoxine entwickelt wird. Dies soll mittels immunomagnetischer Separation (IMS) ermöglicht werden.

Methoden und Materialien

Das TRITON-Wassersensor-System ist ein Prototyp, bereitgestellt von A.U.G. Signals Ltd, Toronto, Kanada. Es besteht aus drei Hauptkomponenten, darunter ein Computermodul, ein optisches Sensormodul, welches eine UV-VIS-Absorptionsspektralanalyse liefert und eine Multiparametersonde (Exo2 von YSI, Xylem Inc), die pH, Temperatur, Leitfähigkeit, TDS und TSS, Trübung, gelösten Sauerstoff sowie Nitrat und Gesamtstickstoff messen kann. Die EXO-Sonde liefert alle 10 Minuten für jeden Parameter einen Datenpunkt. Das optische Sensormodul ist in der Lage alle 30 Sekunden ein gesamtes Spektrum von 200 bis 850 nm aufzunehmen. Das wartungsarme TRITON-Wassersensor-System kann vollständig automatisiert Daten sammeln und über Internetzugriff überwacht werden. Die gesammelten Daten werden in einer online-Datenbank gespeichert und können in Echtzeit ausgewertet werden.

Das physikalische Sensorsystem wird mit einem Biosensor-Analysesystem kombiniert, welches in automatisierter Form Cyanotoxine, wie das Microcystin, Anatoxin oder Saxitoxin, vollautomatisch bestimmt. Das Analyseprinzip beruht auf einen flussbasierten Chemilumineszenz-Mikroarray-Immunoassay. Für die Cyanotoxine wird ein indirekt kompetitiver regenerierbarer Mikroarray-Immunoassay (Abb. 2) angewendet, der gleichzeitig verschiedener Cyanotoxine innerhalb 7 Minuten

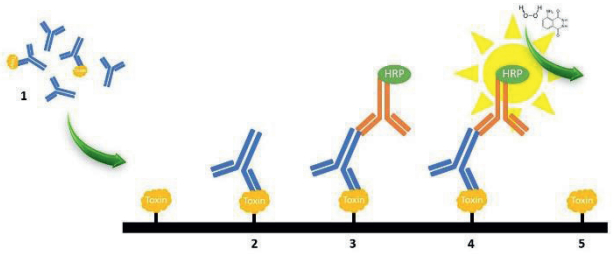


Abb. 2: Schematische Darstellung des indirekt kompetitiven Durchfluss-Microarray Immunoassays. 1) Vorinkubation der Probe mit primären Antikörpern. 2) Binden der noch ungebundenen primären Antikörper an immobilisierte Antigene. 3) Binden der sekundären HRP-Markierten Antikörper an primäre Antikörper. 4) Chemilumineszenz Reaktion und Bildaufnahme. 5) Regeneration des Microarrays.

quantifizieren kann.

Der Microarray besteht aus einem schwarzem PMMA-Träger mit Ein- und Auslassbohrungen, einer doppelseitigen Klebefolie mit eingestanzter Flusszelle und einem Objektträger, auf dem Toxine immobilisiert sind. Die Oberflächen der Objektträger werden zunächst gesäubert, oxidiert, mit GOPTS silanisiert und anschließend mit einer Polyetheramin (Jeffamine ED-2003) Monolage beschichtet.[6] Anschließend werden die terminalen Aminogruppen der Jeffamine-Schicht mit Traut-Reagenz behandelt. An die so erzeugten terminalen Thiol-Gruppen kann das MC-LR durch eine Michael-analoge Addition mit der vinylogenen Carbonylgruppe an die modifizierte Chipoberfläche binden.[7] Die Microcystinlösung wird durch Mikrokontaktdruck-Verfahren auf die Chipoberfläche gebracht, wobei jeweils 5 Punkte in einer Reihe erzeugt werden. Durch dieses Verfahren können auch mehrere Reihen verschiedener Cyanotoxine auf dem Microarray immobilisiert werden. Während der vollautomatisierten Messung am MCR-R (Abb. 3) wird zunächst die Probe mit dem primären Antikörper inkubiert und anschließend durch die Flusszelle des Microarrays geleitet, wobei noch ungebundenen Antikörper an das immobilisierte MC-LR binden. Im nächsten Schritt wird der sekundäre Meerrettichperoxidase-markierte Antikörper durch die Flusszelle geleitet und bindet an die bereits immobilisierten primären Antikörper. Durch Injektion einer Mischung von Wasserstoffperoxid und Luminol wird an der Meerrettichperoxidase eine Chemilumineszenz-Reaktion (CL) katalysiert und mit Hilfe einer CCD-



Abb. 3: Microarray-Chip-Reader-R (MCR-R)

Kamera detektiert. Da es sich um einen indirekt kompetitiven Immunoassay handelt, ist die detektierte Signalintensität bei Blindmessungen am höchsten und sinkt mit steigender MC-LR Konzentration.

Wenn die Konzentration von MC-LR das Detektionslimit des Immunoassays unterschreitet, ist eine Aufkonzentrierung der Toxine notwendig. Dafür eignet sich die IMS. Dabei werden Fängerantikörper an magnetische Nanopartikel gebunden und mit der Probe inkubiert. Anschließend können die magnetischen Nanopartikel mit einem Magneten separiert werden, in einem geringen Volumen an geeignetem Lösungsmittel aufgenommen werden und anschließend am MCR gemessen werden. Vorteile der IMS sind die Aufkonzentrierung der Analyten und gleichzeitige Eliminierung von Matrixbestandteilen, welche den Immunoassay negativ beeinflussen können. Um die immunomagnetischen Nanopartikel zu syntheti-

sieren wird zunächst Eisen-oleat aus Eisen-(III)-chlorid und Natriumoleat hergestellt. Anschließend werden auf der Oberfläche von Silica-Nanopartikeln Eisen-Nanopartikel durch thermische Dekomposition des Eisen-oleats hergestellt.[8] Die resultierenden Silica-Kern Eisenoxid-Schale Nanoverbundstrukturen werden nach geeigneter Aufreinigung mit GOPTS und Jeffamine funktionalisiert und anschließend können Antikörper an die Nanoverbundstrukturen gebunden werden.

Ergebnisse

MC-LR konnte erfolgreich auf der Microarray-Oberfläche immobilisiert werden. Nach Optimierung von Lösungsmittelzusammensetzung, pH und MC-LR Konzentration der Immobilisationslösung von MC-LR bezogen auf die höchstmögliche Signalintensität wurden Kalibrierungen durchgeführt. Die Kalibrierung ist ein Triplikat von drei Kalibrierungen auf drei unterschiedlichen Microarrays gemessen in Leitungswasser. Diese Versuche zeigten eine Nachweisgrenze für MC-LR von 4,8 µg/L, einen Arbeitsbereich von 5,87 µg/L – 36,09 µg/L und einen IC_{50} von 14.56 µg/L. Die Kalibrierkurve ist in Abb. 4 dargestellt.

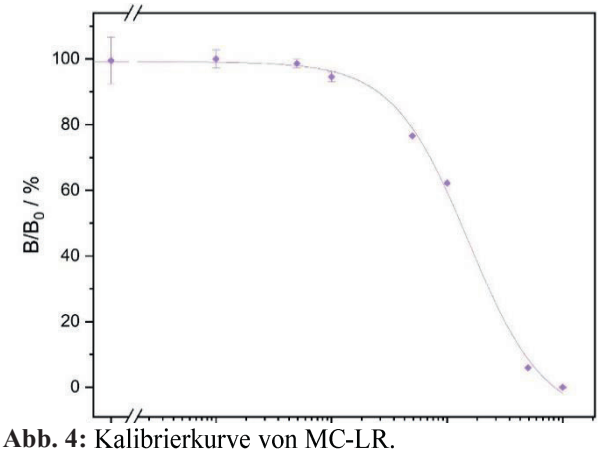


Abb. 4: Kalibrierkurve von MC-LR.

Im Weiteren sollen Wiederfindungsexperimente durchgeführt werden und Effekte von Realmatrizes auf den Immunoassay untersucht werden. Außerdem sollen Realproben von Seen untersucht werden, bei denen Algenblüten festgestellt wurden und falls MC-LR nachgewiesen werden kann mit einer Referenzmethode wie zu Beispiel HPLC bestätigt werden.

Für die Aufkonzentrierung der Cyanotoxine mittels IMS konnten die magnetischen Nanopartikel erfolgreich hergestellt werden. REM-Aufnahmen haben bestätigt, dass die Eisenoxid-Nanopartikel gleichmäßig auf der Oberfläche der Silica-Nanopartikel verteilt sind. Die Anwesenheit von Eisen nach der Nanopartikelsynthese wurde anhand von EDX-Messungen bestätigt und vorläufige Tests haben gezeigt, dass das Binden der Antikörper an die magnetischen Nanopartikel erfolgreich durchgeführt werden konnte. Im nächsten Schritt wird der Immunoassay für die Messung der immunomagnetischen Nanopartikel am MCR entwickelt und optimiert. Anschließend wird eine Methode entwickelt, um die Aufkonzentrierung der Cyanotoxine mittels IMS zu automatisieren.

Diskussion und Ausblick

Das Online-Monitoring-System soll parallel Daten aller relevanter Parameter für das Algenmonitoring sammeln, damit eine selbstlernende künstliche Intelligenz Vorhersagemodelle für ein übermäßiges Wachstum von Cyanobakterien erstellen kann, indem Echtzeitdaten mit Hilfe eines Cloudbasierten Datenmanagement-Systems ausgewertet werden. Im ersten Schritt werden gesammelte Oberflächenwasserproben im Labor analysiert, damit erste Daten des Sensorsystems in die Cloud transferiert und mit dem Algorithmus von AUG ausgewertet werden können. Im Anschluss werden im Feld Echtzeitdaten aus Oberflächenwasser mit dem Sensorsystem erfasst. Um in den Wintermonaten eine wesentliche Änderung der Nitratkonzentrationen im Oberflächenwasser zu simulieren, werden dafür neben den online-Feldmessungen Proben gesammelt und im Labor künstlich mit Nitrat versetzt. Anschließend werden die Nitratkonzentrationen mit dem optischen Sensormodul bestimmt. Im Weiteren sollen Feldmessungen an Gewässern durchgeführt werden, bei denen bekannt ist, dass in den Sommermonaten Algenblüten auftreten.

Parallel soll eine Messmethode für die immunomagnetischen Nanopartikel am MCR-R weiterentwickelt und die immunomagnetische Separation automatisiert werden. Es soll möglich sein Cyanotoxine aus dem Oberflächenwasser vollautomatisch an die immunomagnetischen Nanopartikel anzureichern und anschließend die Nanopartikel zu extrahieren, um deren Beladung mit MC-LR zu messen.

Somit soll ein Frühwarnsystem entstehen, welches in der Lage ist Oberflächenwasser kontinuierlich zu überwachen und Algenblüten anhand der Beobachtung bestimmter Parameter frühzeitig voraussagen zu können. Bei signifikanten Veränderungen von Schlüsselparametern, kann das Biosensorsystem MCR-R den Anstieg von Cyanotoxinen bestätigen. Somit kann frühzeitig gewarnt werden, wenn eine Gefahr für Mensch oder Tier besteht.

Literatur

1. Moore, S.K., et al. *Impacts of climate variability and future climate change on harmful algal blooms and human health*. in *Environmental health*. 2008. Springer.

2. *Badewasserrichtlinie (EG-BadewRL) Richtlinie 2006/7/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 15 Februar 2006 über die Qualität von Badegewässern und dere Bewirtschaftung und zur Aufhebung der Richtlinie 76/160EWG*.
3. *Krueger, F. (2021, 3. Juni). Hund verendet - Sorge wegen Blaualgen im Tegeler See. rbb24. https://www.rbb24.de/panorama/beitrag/2021/06/tegeler-see-berlin-tegel-blaualgen.html*.
4. *Lauer, M. (2021, 23. Juli). Blaualgen: Hund stirbt nach Bad im Mandichosee. br. https://www.br.de/nachrichten/bayern/blaualgen-hund-stirbt-nach-bad-im-mandichosee,SduKzxp*.
5. *Butie, L., (2021, 30. Juli). Fünf Hunde sterben wegen Blaualgen. 20min. https://20min.ch/story/fuenf-hunde-sterben-wegen-blaualgen-396831180059*.
6. Huebner, M., et al., *Layer-by-layer generation of PEG-based regenerable immunosensing surfaces for small-sized analytes.* Biosensors and Bioelectronics, 2015. **67**: p. 334-341.
7. Zeck, A., et al., *Generic microcystin immunoassay based on monoclonal antibodies against Adda.* Analyst, 2001. **126**(11): p. 2002-2007.
8. Nistler, A., et al., *Production and characterization of long-term stable superparamagnetic iron oxide-shell silica-core nanocomposites.* Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2017. **442**: p. 497-503.

DOI 10.5162/15dss2021/P4.7

Multiparameter-Messkette für tiefenaufgelöste Gewässerüberwachung

Otto Dreier, Frederic Güth, Yvonne Joseph

Institut für Elektronik- und Sensormaterialien, TU Bergakademie Freiberg, Freiberg, Deutschland

Kontakt: Otto.Dreier@esm.tu-freiberg.de

Einleitung

Zur Überwachung von Binnengewässern werden derzeit punktuell und zu ausgewählten Zeitpunkten Messungen mit einzelnen (Multiparameter-)Sonden durchgeführt, siehe Abb. 1. Die Sonden werden manuell an einzelnen Stellen herabgelassen, um dort ein Tiefenprofil wichtiger Gewässerparameter aufzuzeichnen [1]. Ergänzt werden diese Messungen durch manuelle Probennahmen mit anschließenden Analysen, teilweise vor Ort, teilweise im Labor [1], [2].



Abb. 1: Vermessung einer Talsperre mit herkömmlicher Multiparametersonde aus einem Boot.

Durch die zunehmende Häufigkeit von extremen Wetterereignissen wird die genaue Überwachung der Binnengewässer immer wichtiger, um Überflutungsereignisse besser vorhersagen zu können und um die Wasserversorgung der Zukunft garantieren zu können. Deshalb gewinnen automatisierte Messsysteme auf Trink- oder Brauchwassertalsperren an Bedeutung, da sie Einsparungen sowohl im Zeit- als auch im Personalaufwand versprechen.

Wünschenswert wäre ein System zur Vermessung des gesamten Gewässers sowohl horizontal als auch insbesondere in der Tiefe, um so z.B. auch Grundwasserzuströme am Gewässerboden zu erkennen. So könnte eine Messkette an einer beweglichen autonomen Trägerplattform genutzt werden, um zu einem Zeitpunkt das gesamte Tiefenprofil aller Gewässerparameter aufzunehmen, schematisch dargestellt in Abb. 2. Durch Verfahren der Trägerplattform würde die Kette ein hochauflösendes dreidimensionales Abbild der Gewässerparameter des gesamten Gewässers anfertigen. Gleichzeitig wäre der personelle Aufwand für die vollständige Vermessung eines Gewässers vergleichsweise gering. Ein solches System wird im Rahmen des Projekts RoBiMo an der TU Bergakademie Freiberg entwickelt [2].

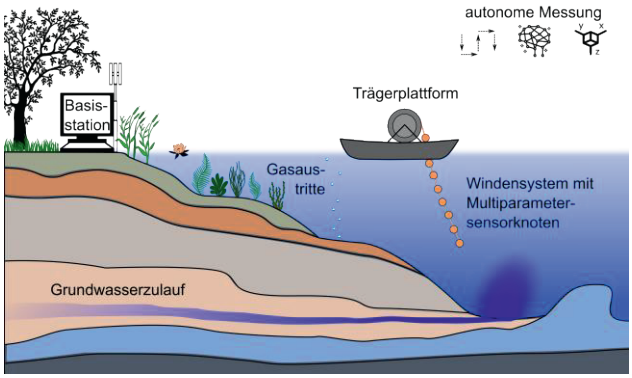


Abb. 2: Darstellung des vorgeschlagenen Messystems. Ein Windensystem auf einer Trägerplattform lässt eine Messkette aus mehreren Sensorknoten in die Tiefe.

Konzept der Messkette

Kommerzielle Multiparametersonden sind für eine solche Messkette eher ungeeignet, da aufgrund ihrer Größe und Masse die Messplattform Dimensionen erreicht, die das autonome Befahren der Gewässer erschweren und die Flexibilität im Einsatz der Messplattform verringert.

Die hier vorgestellte Sensorkette besteht deswegen aus mehreren kleinen und leichten, direkt für die Anwendung entworfenen Multiparameter-Sensorknoten, die untereinander mittels eines Windensystems in das Gewässer gelassen werden. Mit der Winde kann so, je nach Gewässertiefe, eine gewünschte Knotenzahl an der Messkette gewählt und abgelassen werden. Die Länge der Messkette und damit die Messtiefe kann auch während einer Messfahrt anhand entsprechender Echtzeit-Tiefenmessungen per Echolot angepasst werden.

Jeder einzelne der entwickelten Knoten (siehe Abb. 3) weist wahlweise Sensoren für verschiedene Gewässerparameter auf, z.B. für elektrische Leitfähigkeit, Absolutdruck, Temperatur, pH-Wert und Trübung.



Abb. 3: Gerenderte Darstellung des Sensorknotendesigns. An der Oberseite befinden sich vier Öffnungen zur Messung der Gewässerparameter, seitlich ist ein Kontaktstecker für die Datenkommunikation zur Trägerplattform angebracht.

Als Kombination dieser Sensoren bildet jeder Sensorknoten eine bestimmte Tiefe des Gewässers mit allen gewünschten Parametern ab. Es ergibt sich ein Tiefenprofil des Gewässers durch die Kombination der Daten mehrerer Sensorknoten in zunehmender Tiefe.

Die Auslenkung jedes einzelnen Sensorknotens wird dabei über eine IMU (inertial measurement unit) in jedem Knoten überwacht, um eine zu große Gesamtauslenkung der Messkette während der Fahrt erkennen und verhindern zu können.

Um die generelle Funktion eines solchen Messystems zu testen, wurde ein erster Prototyp (siehe Abb. 4a) konstruiert und erprobt. Der Prototyp war dabei an einer projekteigenen Schwimmplattform (siehe Abb. 4b) direkt unter der Wasseroberfläche befestigt. Für Untersuchungen der Auslenkung des Knotens wurde der Prototyp frei hängend an der Plattform angebracht. Für erste Messungen der unterschiedlichen Wasserparameter war der Sensorknoten hingegen fest an der Plattform in einer Wassertiefe von 20 cm befestigt.

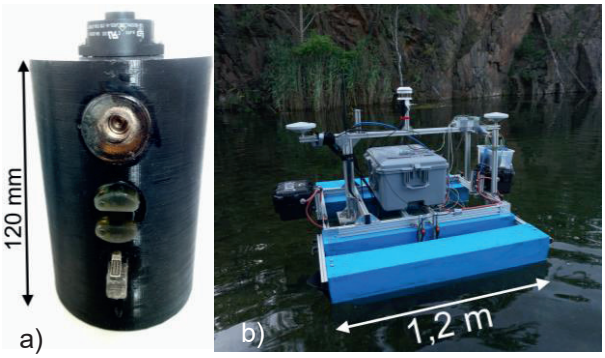


Abb. 4: Bilder des verwendeten Messsystems.
a) Bild des ersten Sensorknotenprototyps
b) Bild der Schwimmplattform

Für die ersten Tests wurden Sensoren für die Gewässerparameter elektrische Leitfähigkeit, Trübung, Druck und Temperatur in einem 3D gedruckten Gehäuse verbaut. Die verwendeten Sensoren sind in Tab. 1 aufgeführt. Angesteuert und ausgelesen werden die Sensoren durch einen Mikrocontroller, verwendet wurde hier der ATmega328P der Firma Atmel [4]. Die Auswahl der Sensoren erfolgte nach folgenden Kriterien in absteigender Relevanz: zu erwartender Messbereich, Genauigkeit, Größe, Gewicht und Kosten.

Die Messdaten für einen Zeitpunkt werden durch den Mikrocontroller gesammelt und per RS485-Schnittstelle als serielle Daten mit geringer Latenz an die Trägerplattform geschickt. Die Recheneinheit auf der Plattform speichert die Daten und stellt sie drahtlos zugleich dem Nutzer an der Basisstation am Ufer zur Verfügung. Durch eine grafische Darstellung der Daten kann eine Überprüfung der Messung in Echtzeit erfolgen und interessante Bereiche erneut oder genauer vermessen werden.

Tab. 1: Sensoren des Sensorknotenprototyps

Parameter	Sensoren	Bereich
Temperatur	10K Precision Epoxy Thermistor der Firma Adafruit Ind. [4]	-55 °C bis +125 °C
Elektrische Leitfähigkeit	EZO Conductivity Circuit der Firma Atlas Scientific [5]	0,55 µS/cm bis 0,5 S/cm
Druck	PX3AN2BS100PAAAX der Firma Honeywell [6]	0 bis 6,89 bar
Trübung	TSD-10 der Firma Amphenol Advanced Sensors [7]	0 bis 3000 NTU
IMU	FXOS8700 und FXAS21002 der Firma NXP Semiconductors [8] [9]	Bis zu ±8 g, ±1200 µT, ±2000 °/s

DOI 10.5162/15dss2021/P4.7

Ergebnisse und Diskussion

Neben der geringeren Größe konnten im Vergleich zu handelsüblichen Multiparametersonden auch die Kosten der einzelnen Knoten deutlich verringert werden: die Kosten der entwickelten Sensorknoten betragen weniger als ein Zehntel der Kosten kommerzieller Multiparameter-Systeme. Dadurch sich die Knoten besonders für den Einsatz in hohen Stückzahlen geeignet, insbesondere an einer einzelnen Messkette mit vielen Messstellen. Auch für die ortsfeste Daueranwendung sind die einzelnen Sensorknoten gut geeignet, da sie aufgrund ihrer geringen Größe leicht und unauffällig im Probegewässer stationiert werden können, was z.B. besonders für touristisch genutzte Gewässer oder Brunnen relevant sein kann.

In ersten Untersuchungen mit dem Prototyp des Sensorknotens an der Schwimmplattform zeigte sich, dass sich in den IMU-Daten die Auslenkung des Knotens aus dem Ruhezustand sehr deutlich wieder spiegelt (siehe Abb. 5). Dazu wurde die Trägerplattform periodisch beschleunigt und abgebremst, um so die Auslenkung des Sensorknotens unter Wasser zu beobachten.

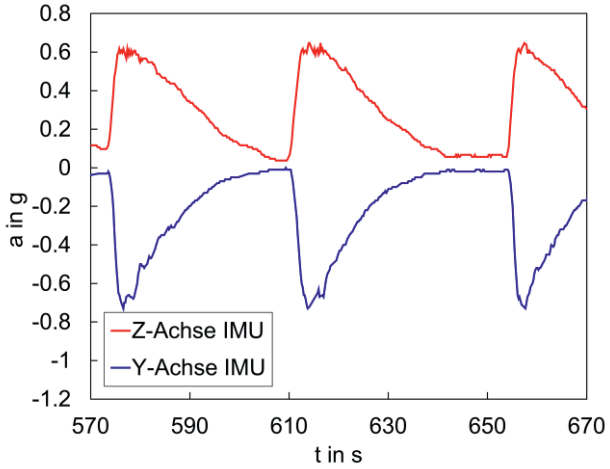


Abb. 5: Beschleunigung des Sensorknoten-Prototyps bei periodischem Anfahren und Abbremsen.

Jede Beschleunigung der Trägerplattform führt zu einem starken Anstieg der Knotenauslenkung, erkennbar als ein Verkippen um die Z- und Y-Achse der IMU. Nach dem Abbremsen und Anhalten der Plattform sinkt der Knoten in einem Zeitraum von jeweils 30 Sekunden zurück in den Ausgangszustand.

Damit ist der Neigungszustand des Sensorknotens erkennbar und kann so in der Auswertung der restlichen Messdaten berücksichtigt werden z.B., um bei einem Anfahren bestimmter Messstellen auf dem Gewässer automatisch abzuwarten, bis die gesamte Sensorkette in den Ruhezustand zurückgekehrt ist. Weiterhin sind damit Probleme während der Messung erkennbar, wie ein unerwünschtes Verdrehen der Messkette.

Durch ein Verfahren der Plattform über das Gewässer konnten im nächsten Schritt für eine einzelne Gewässertiefe Leitfähigkeits- und Temperaturkurven erstellt werden, während über den Druck die Tiefe des Sensorknotens unter Wasser aufgezeichnet wurde. Beispielhafte Ergebnisse für das Speicherbecken Lohsa 1 in Ostsachsen sind in Abb. 6 dargestellt. Sowohl Temperatur als auch Leitfähigkeit sind hinreichend konstant während der Messung, die Standardabweichungen betragen 0,2 °C und 0,58 µS/cm. Die Änderungen von Temperatur und Leitfähigkeit können zurückgeführt werden auf Unterschiede im Uferabstand oder in der Sonneneinstrahlung. Lokale Strömungen, z. B. durch Zu- oder Abflüsse können ebenfalls eine Veränderung der Temperatur und Leitfähigkeit bewirken.

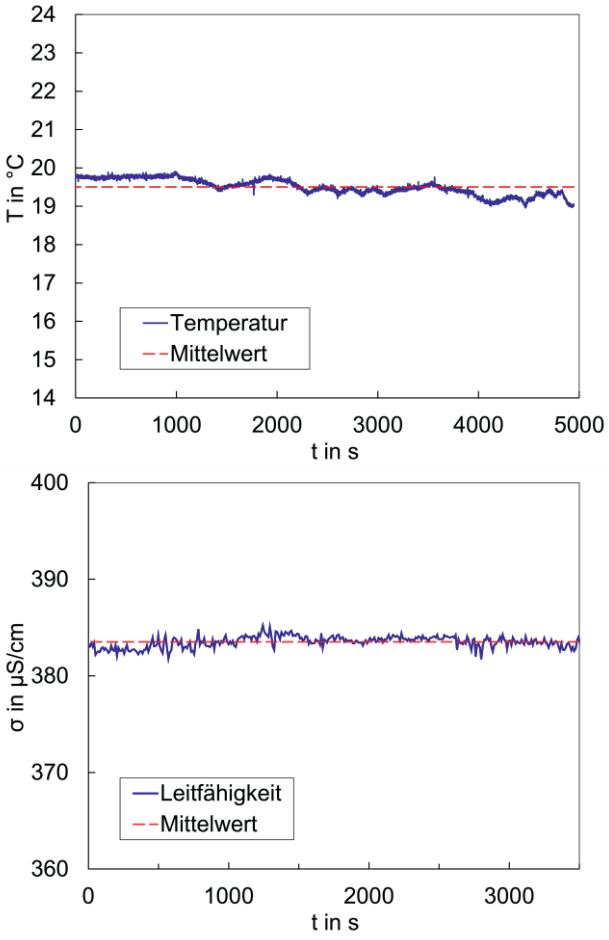


Abb. 6: Messwerte von Temperatur und elektrischer Leitfähigkeit in einer Tiefe von 20 cm im Speicherbecken Lohsa 1.

Beispielhafte Ergebnisse für die Druckmessung sind in Abb. 7 dargestellt. Da für diese Messungen der Prototyp fest an der Schwimmplattform befestigt war und nicht als Sensorkette frei im Wasser schwamm, blieb die Wassertiefe konstant. Es ist anzunehmen, dass Strömungen und Verwirbelungen um den Sensorknoten während der Fahrt auftraten und den

Drucksensor entsprechend beeinflussten, wodurch die Messergebnisse des Drucks von einem konstanten Wert abweichen; dazu kommt die Ungenauigkeit des Sensors selbst. Die Standardabweichung beträgt 1,7 *10^{-3} bar, was 1,75 cm Wassersäule entspricht. Damit sind die Messergebnisse bis auf Ausreißer trotzdem aussagekräftig um die Tiefe des Sensorknotens unter der Wasseroberfläche zu bestimmen.

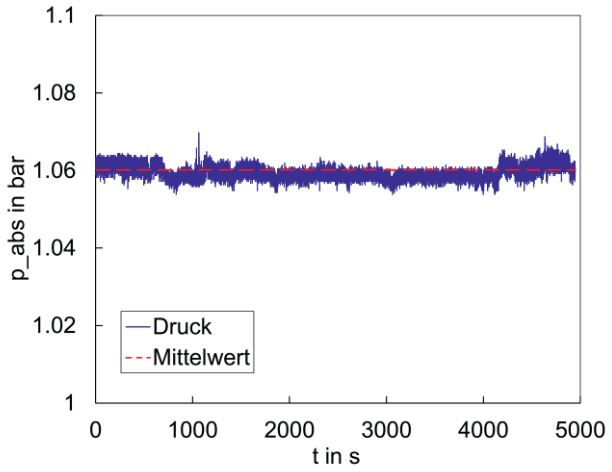


Abb. 7: Messwerte des absoluten Drucks in einer Tiefe von 20cm im Speicherbecken Lohsa 1.

Während der ersten Untersuchungen zur Auslenkung des Prototyps und nach weiteren Tests mit unterschiedlichen Strömungskörpern wurde die Notwendigkeit von Anpassungen der Sensorknoten-Geometrie deutlich. Die Geometrie des ersten Prototyps wies einen zu großen Strömungswiderstand auf, was zu einem starken Auslenken der Messkette während der Fahrt führte.

Deswegen wurde der Durchmesser im Vergleich zum ersten Prototyp um 3 cm verringert und das zylindrische Gehäuse durch einen Aufbau mit tropfenförmigem Querschnitt ersetzt, siehe Abb. 8. Damit konnte die relevante Anströmfläche signifikant verringert werden, was damit den Strömungswiderstand der Sensorknoten deutlich verbessern sollte.

Während der erste Sensorknoten mit einer Vergussmasse versehen wurde, um den Knoten wasserdicht zu gestalten, wurde bei der Weiterentwicklung ein Schwerpunkt auf Reparierbarkeit und Modularität des Knotenaufbaus gelegt.

Aufgrund dessen sind die Sensoren im aktualisierten Design in schraubenförmigen Gehäusen gefasst (siehe Abb. 9), was ein Auswechseln der Sensoren und zugleich auch Abdichten gegenüber dem Gehäuse ermöglicht. Damit wird auch eine Anpassbarkeit in der Sensorbestückung ermöglicht, sodass die Messkette z.B. auch tiefenabhängig unterschiedliche Parameter erfassen kann.

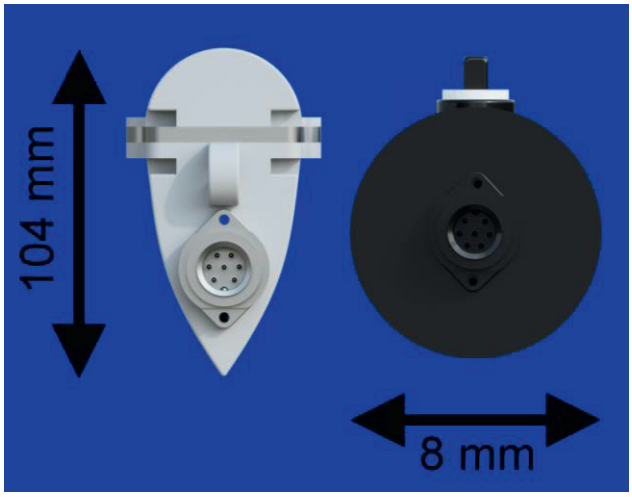


Abb. 8: Vergleich der Querschnitte des ersten (rechts) und des aktualisierten (links) Prototyps.

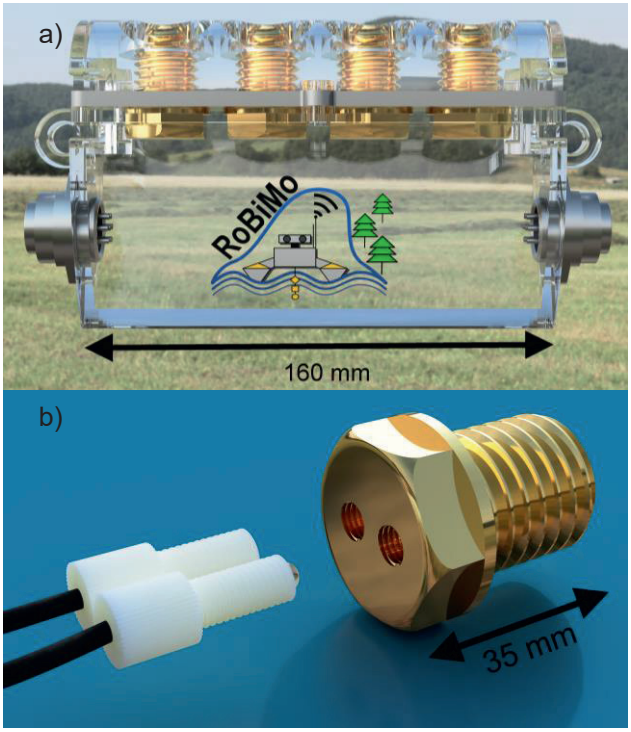


Abb. 9: Schraubenförmige Sensorhalterungen
a) Seitliche Ansicht der Anordnung der Sensorgehäuse im Knoten.
b) Sensorschraube mit zwei Elektroden für die Messung des pH-Werts.

Zusammenfassend wurde ein kostengünstiger Entwurf für Sensorknoten erstellt. Dieser Sensorknoten kann mit gleichartigen Knoten zu einer Messkette zusammengeschalten werden, um simultan das Tiefenprofil mehrerer Gewässerparameter aufzunehmen. Ein Prototyp wurde gefertigt und funktioniert wie vorgesehen für die Erfassung von elektrischer Leitfähigkeit, Absolutdruck, Gewässertemperatur und der Beschleunigung des einzelnen Sensorknotens.

Im nächsten Schritt werden die Sensorknoten um weitere Sensoren erweitert, um anschließend in größerer Stückzahl zusammen als Sensorkette getestet zu werden. Dabei sollen auch Vergleichsmessungen mit herkömmlichen Multiparametersonden erfolgen.

Danksagung

Die hier vorgestellten Ergebnisse sind im Rahmen des Forschungsprojekts RoBiMo (Antragnummer: 100381908), unterstützt durch das Schwesternprojekt AIRGEMM entstanden. Beide Projekte werden durch Mittel des europäischen Sozialfonds (ESF) und durch Steuermittel auf der Grundlage des vom Sächsischen Landtag beschlossenen Haushaltes finanziert. Die Projekte bedanken sich bei der umfangreichen Zusammenarbeit mit der LTV Sachsen und LMBV.

Literatur

[1] LMBV mbH, „Merkblatt Montanhydrologisches Monitoring, Anhang 2.3 Seewasserprobennahme und -analytik," 2019.

[2] Normenausschuß Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V., „DIN 38402 Probenahme aus stehenden Gewässern (A12)," 1985.

[3] „Robotergestütztes Binnengewässer Monitoring (RoBiMo)," 2021. [Online]. Available: https://tu-freiberg.de/robimo.

[4] Atmel, „ATmega48A/PA/88A/PA/168A/PA/328/P DATASHEET," 2012.

[5] Adafruit Industries, „10K Precision Epoxy Thermistor Datasheet," 2020.

[6] Atlas Scientific, „EZO-EC Datasheet V 6.0," 2019.

[7] Honeywell International Inc., „Heavy Duty Pressure Transducers PX3 Series Datasheet," 2019.

[8] Amphenol Advanced Sensors, „TSD-10 Turbidity Sensor Datasheet," 2019.

[9] NXP Semiconductors, „FXOS8700CQ 6-axis sensor with integrated linear accelerometer and magnetometer Datasheet," 2017.

[10] NXP Semiconductors, „FXAS21002C 3-Axis Digital Angular Rate Gyroscope Datasheet," 2015.

DOI 10.5162/15dss2021/P4.8

Neue Wege in der wasserbezogenen Umweltsensorik

Michael Seidel[1]

[1]*Lehrstuhl für Analytische Chemie und Wasserchemie, Technische Universität München, Deutschland*

Einleitung

Mit diesem Beitrag soll eine Perspektive für den Einsatz von Sensoren in der Umweltanalytik dargestellt werden, welche sich dem Zukunftsthema Digitalisierung stellt. Die Digitalisierung ist in vielen Bereichen das Zukunftsthema und Sensorik wird mittlerweile ubiquitär eingesetzt. Aus diesem Grund ist es unumgänglich, diese Fortschritte in der Umweltanalytik nutzbar zu machen und eine wasserbezogene intelligente Umweltsensorik zu entwickeln. Umweltanalytik mit Sensoren bietet die Möglichkeit, definierte Parameter einfach, kostengünstig, an jedem Ort in kürzester Zeit und möglichst autark zu erfassen. Sensoren können der Schlüssel für ein effizientes Umweltmonitoring sein, um dynamische Prozesse frühzeitig erkennen und steuern zu können. Eine Vielzahl an physikalischen, chemischen und biochemischen (Bio-) Sensoren existieren. Die Vernetzung dieser Sensoren und die intelligente Auswertung möglichst in Echtzeit ist die Herausforderung für zukünftige Forschung in allen Bereichen der Umweltanalytik (siehe Abb. 1). Beispielhaft sind hier die wirkungsbezogene Analytik und die Prozesskontrolle zu nennen.

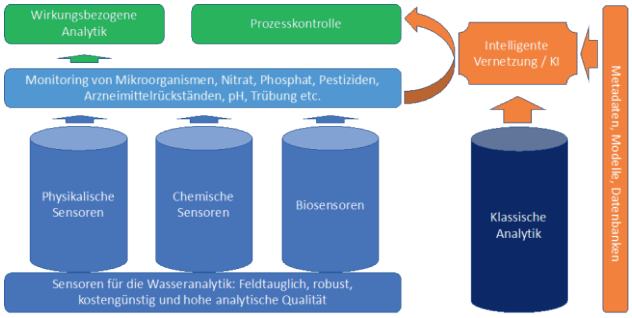


Abb. 1: Übersicht der Nutzung der vernetzten Sensorik in Verbindung mit Lernalgorithmen der KI und der klassischen Analytik für ein immerfortes Verbessern des Erlernten.

Mit einer Vielzahl von physikalischen, chemischen Sensoren oder Biosensoren werden zeitabhängige Messdaten erzeugt, welche eine künstliche Intelligenz (KI) nutzen kann, um mit Hilfe eines Lernalgorithmus komplexe Systeme zu steuern. Wie im Schulalltag ist aber eine enge Lehrer-Schüler-Beziehung wichtig. In diesem Bild ist die klassische Analytik der Lehrer oder die Lehrerin, welche das in Übungen erarbeitete Ergebnis verifiziert. Diesen Prozess der Erkenntnisgewinnung und Überprüfung nennen wir Lernen. Nur in diesem Zusammenspiel kann eine KI effektiv für die Umweltanalytik genutzt werden. Komplexe Prozesse können mit KI sehr schnell erfasst und technische wasserführende Anlagen könnten in Zukunft autonom gesteuert werden.

Anwendungsbeispiele für KI-genutzte vernetzte Sensorik

Legionellenmonitoring

In wassertechnischen Anlagen, wie zum Beispiel Verdunstungskühlanlagen oder Autowaschanlagen ist die Konditionierung des Wassers von großer Bedeutung. Ziel ist es, mit Hilfe von Bioziden und Korrosionsschutz, die Anlagen dauerhaft und sicher zu nutzen. Mittlerweile ist bekannt, dass in diesen Anlagen bei Temperaturen zwischen 45 – 65 °C sich Legionellen so vermehren können, dass sie eine Gefahr für den Menschen darstellen. Atmet ein Mensch die aus diesen Anlagen entstehenden Bioaerosole ein, so kann es zu einer sehr starken Lungenentzündung kommen, der Legionellen-Pneumonie.[1] Der Gesetzgeber hat mit der 42. Bundesimmissionsschutzverordnung (42. BImSchV) die Betreiber von Verdunstungskühlanlagen, Kühltürmen und Nassabscheidern in die Pflicht genommen, die Konzentration an Legionellen unterhalb eines Maßnahmenwertes zu halten und bestenfalls die Legionellen in den Anlagen zu eliminieren.[2] Diese Forderung kann zur Folge haben, dass eine betroffene Anlage erst einmal stillgelegt werden muss, was zu enorm hohen ökonomischen Verlusten führen kann. Da die Konzentration von Legionellen mit Kulturverfahren bestimmt werden muss und Legionellen sich nur sehr langsam vermehren lassen, erhält der Betreiber erst nach 12 Tagen ein Ergebnis. Neben der langen Wartezeiten sind falsch-negative Ergebnisse ein analytisches Problem.[2] Bei positiven Befunden über 100 kolonienbildenden Einheiten (KBE) in 100 mL – 10.000 KBE/100 mL (Prüfwert) ist der Betreiber verpflichtet, mit geeigneten Maßnahmen die Legionellenkonzentration zu reduzieren. Oberhalb des Maßnahmenwertes muss der Betreiber die Anlage der zuständigen Behörde melden. Wie kann hier die Sensorik genutzt werden? Die Aufgabe wäre es, dass durch intelligente Steuerung sehr gezielt in geringen Dosen chemische Wirkstoffe, wie zum Beispiel Biozide und Korrosionsschutz in wassertechnische Anlagen einzuleiten und durch eine sensorische Überwachung das Wachstum von Legionellen zu verhindern. Mit dieser Maßnahme könnte dem Betreiber geholfen werden, weil die Anlage ständig überwacht wird und das Risiko einer Legionellenvermehrung minimiert wird. Grundvoraussetzung für diesen Ansatz ist es aber, dass eine

KI aufgebaut wird, die nicht nur mit sensorischen Messdaten gefüttert wird, sondern im Vorfeld das Zusammenspiel zwischen Wasserchemie und Legionellenvermehrung quantitativ erfasst wird.

Kontinuierliche *Prozessüberwachung in Kläranlagen*
Die Abwasserbehandlung ist wichtig, damit eine umweltbelastende Emission von Schadstoffen in das Oberflächenwasser vermieden wird. Heutzutage wird das Spektrum an möglichen Kontaminationen auf Mikroschadstoffe und Pathogene erweitert, weil sie für den Menschen und dem Ökosystem gefährlich sind. Die biologische Abwasserbehandlung und zukünftig die 4. Reinigungsstufe sind für die Reduktion dieser Komponenten von großer Bedeutung. Eine effiziente biologische Abwasserbehandlung müsste aufwändig messtechnisch überwacht werden, damit die für Ammoniumoxidation und Denitrifizierung zuständigen Mikroorganismen optimal arbeiten können.[3] Aus Kostengründen und die Umsetzbarkeit in die Praxis, werden nur einfache Summenparameter in regelmäßigen Abständen erfasst, mit denen der Kläranlagenmeister die Abwasserbehandlung überwacht. In Kläranlagen ließen sich Sensorsysteme für eine optimierte Prozesskontrolle einsetzen, wenn sie relevante Parameter, wie zum Beispiel gelöstes Ammonium, Nitrat, Phosphat, Sauerstoff, Gesamtheit der organischen Kohlenstoff (TOC) oder den chemischen Sauerstoffbedarf (CSB), sowie mikrobiologische Parameter wie die Keimzahl und allgemeine Parameter wie Temperatur, Trübung und Volumenstrom kontinuierlich erfassen können. Zielsetzung wäre es die Abwasserbehandlung so zu steuern, dass Mikroschadstoffe, antibiotikaresistente Bakterien oder Pathogene effizient reduziert werden, ohne diese bestimmen zu müssen. Damit wäre es mit Sensorik in Zusammenspiel mit der KI möglich, dass die Ökosysteme nachhaltig stabilisiert sind und sich eventuell sogar geklärtes Abwasser für den Wiedergebrauch mit hoher Sicherheit nutzen lässt. Weitere Anwendung der intelligenten Sensorik in der Abwasserbehandlung ist die Reduzierung von klimaschädlichen Gasen, wie Lachgas und Methan, welche in der biologischen Abwasserbehandlung entstehen können und aktuell unkontrolliert in die Umwelt gelangen. Hier ist neben der Überwachung der Leitparameter und der Mikrobiologie, gleichzeitig der Einsatz einer Gassensorik für Methan und Lachgas von Nöten.

Wirkungsbezogene Analytik
Ein weiteres Einsatzszenario ist die wirkungsbezogene Analytik, welche in der Ökosystemanalyse zum Einsatz kommt. Wirkungsbezogene Analytik ist eine Methode, bei der nicht einzelne Wirkstoffe, sondern biologische Effekte der Gesamtprobe in ausgewählten Zielsystemen nachzuweisen.[4] Somit können in einem nicht-gerichteten (non-target) Ansatz, Substanzen entdeckt werden, welche mit einer toxikologischen Wirkung in Zusammenhang gebracht werden, ohne sie zuvor in Betracht gezogen zu haben. Da biologische Systeme für ein stetiges Wassermonitoring meistens sehr aufwendig zu handhaben sind, wäre es denkbar, dass eine Vernetzung mit Sensoren in Zusammenspiel mit der KI genutzt wird.

Algenmonitoring im Oberflächenwasser
Ein letztes Beispiel ist der Aufbau eines intelligenten Algenmonitoringsystems, das als Frühwarnsystem genutzt werden kann. Hier ist es wichtig, nicht nur zu erkennen, ob sich im Oberflächenwasser Algen gebildet haben, sondern ob diese Algen Toxine gebildet haben, welche eine Gefahr für Mensch und Tiere sein kann. Dieses Anwendungsbeispiel kommt aus der eigenen Forschung, welches konkret vernetzte Sensorik und KI nutzt. Zusammen mit der A.U.G. Signals Ltd. und der Hydroisotop GmbH arbeitet die TUM in einem AIF-ZIM-Projekt an einem intelligenten Algenmonitoringsystem, das zur Überwachung von Oberflächenwasser eingesetzt werden soll. Das Auftreten von Algenblüten tritt immer häufiger im Oberflächenwasser auf, weil Cyanobakterien anthropogene Veränderungen wie Eutrophierung der Gewässer oder Klimawandel für ihren eigenen Vorteil nutzen. Algenblüten sind nicht nur für den Tourismus schlecht, sie können sogar eine Gefahr für das Trinkwasser sein, wenn zum Beispiel Süßwasser-Lagunen genutzt werden müssen. Cyanobakterien bilden Toxine, welche für Tiere und Menschen gesundheitsschädlich sind. Es ist zum Beispiel bekannt, dass in Seen badende Hunde gestorben sind, weil diese zu viele Cyanotoxine aufgenommen haben. Ein Frühwarnsystem könnte in Echtzeit lokal Informationen über den Zustand eines Gewässers liefern und damit die Sicherheit für Menschen und Tiere erhöhen.

Intelligentes Algenmonitoring

Das TRITON-Wasser-Sensorsystem von AUG Signals besteht aus zwei Hauptkomponenten (Abb. 2).



Abb. 2: Das TRITON-Wasser-Sensorsystem bestehend aus einem Durchflussmesssystem für die UV-VIS-Absorptionsspektralanalyse, einer Multiparametermesssonde und ein Cloud-basiertes Datenmanagement-System.

Ein optisches Sensormodul liefert eine kontinuierliche UV-VIS-Absorptionsspektralanalyse im Bereich von 200 bis 850 nm, um gelöstes Nitrat und Gesamtnitrat zu bestimmen. Die zweite Multiparametersonde (Exo2 von YSI, Xylem Inc.) kann pH, Temperatur, Leitfähigkeit, Gesamtgehalt gelöster Feststoffe (*total dissolved solids*, TDS) und Gesamtschwebstoff (*total suspended solids*, TSS), Trübung und gelösten Sauerstoff bestimmen. Das Online-Monitoring-System erfasst diese Parameter parallel und in Echtzeit. Ein auf Machine-Learning beruhender Algorithmus wird angewendet, um Vorhersagemodelle für ein übermäßiges Wachstum von Cyanobakterien zu entwickeln. Dazu misst das TRITON-Wasser-Sensorsystem kontinuierlich die Zusammensetzung des Oberflächenwassers. Die gesammelten Daten werden in ein Cloud-basiertes Datenmanagement-System übertragen und in Echtzeit ausgewertet (Abb. 3). Über künstliche Intelligenz werden Vorhersagemodelle für ein übermäßiges Wachstum von Cyanobakterien erstellt. Dazu misst das Sensorsystem kontinuierlich im Oberflächenwasser.

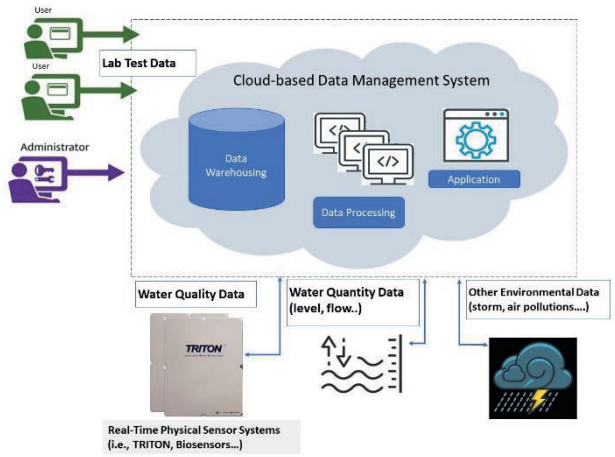


Abb. 3: Cloud-basiertes Datenmanagementsystem für die schnelle Erfassung und Auswertung von Sensordaten, Labortestdaten, Daten zur Erfassung der Wasserquantität und Metadaten aus der Umwelt.

Das physikalisch/chemische Sensorsystem wird für die Anwendung des Lernalgorithmus mit einem Biosensoranalysesystem kombiniert, welches in automatisierter Form Cyanotoxine, wie Microcystin, Anatoxin oder Saxitoxin, vollautomatisch bestimmt. Das Analyseprinzip beruht auf einen flussbasierten Chemilumineszenz-Mikroarray-Immunoassay.[5, 6] Für die Cyanotoxine wird ein indirekt kompetitiver regenerierbarer Mikroarray-Immunoassay angewendet, der gleichzeitig verschiedene Cyanotoxine innerhalb 7 Minuten quantifizieren kann. Einfach messbare Einflussgrößen werden für ein Vorhersagemodell herangezogen und mit Lerndaten und selektiven Biosensordaten abgeglichen. Dies ist wichtig, damit das Vorhersagemodell sich stetig verbessert und schlussendlich die Zielgrößen Algenwachstum und Toxinbildung mit hoher Treffsicherheit vorhergesagt werden können. Damit könnte man ein Frühwarnsystem zur Verfügung stellen, welches Behörden tagesaktuell eine Risikobewertung von Oberflächengewässern ermöglicht.

Diskussion und Ausblick

Physikalische und chemische Sensoren stehen bereits zur Verfügung. Oftmals sind sie, wie am Beispiel der Exo-Multiparametersonde zu sehen, sehr groß und teuer. Des Weiteren müssen die elektronischen Komponenten in einen klimatisierten Raum gestellt werden und es muss ein Stromanschluss existieren. Sie enthalten aber Vorrichtungen, wie eine kontinuierlich laufende Bürste, damit die Sonde dauerhaft im Oberflächenwasser eingesetzt werden kann. In diesem Sinne ist es eines der ersten Beispiele einer vernetzten Sensorik die im Feld Messdaten erzeugen kann.

Für einige wasseranalytische Fragestellungen existieren mittlerweile erste Sensorkonzepte.[7,8] Sie müssen jedoch soweit verbessert werden, dass sie feldtauglich werden, robust in komplexen Matrices wie Trinkwasser, Oberflächenwasser, Prozesswasser oder Abwasser mit hoher Präzision quantitative Daten liefern. Des Weiteren müssen sie weiter miniaturisiert werden, damit kostengünstige, mobile und vernetzte Sensorsysteme entstehen, die eine dezentrale Echtzeitanalytik ermöglichen. Durch die intelligente Vernetzung von physikalischen und chemischen Sensoren und das Zusammenführen der Daten auf einem Server können mit Hilfe des Internet-of-Things Monitoringsysteme aufgebaut werden, welche die chemische und hygienische Wasserqualität verbessern. Mit Hilfe von KI müssen Lernalgorithmen so entwickelt werden, dass die verhältnismäßige unintelligente Sensormessdaten mit Referenzanalytik und Biosensorik von Anfang an trainiert werden. Dies bedeutet, dass bestehende Prozesse nur dann mit Multisensorik und KI gesteuert werden können, wenn viele Messdaten bei definierter Variation des Prozesses generiert werden und diese

müssen immer wieder mit quantitativen (bio-)analytischen Methoden verifiziert werden.

Die Entwicklung einer kostengünstigen anwenderfreundlichen Multisensorik ist Gegenstand der aktuellen Forschung. Die Vernetzung der Sensorsysteme zusammen mit einer Echtzeitdatenübertragung und -auswertung hat ein enormes Potenzial im Rahmen der neuen kabellosen Übertragungswege im 5G-Netz, so dass wir das Internet-of-Things für Frühwarnsysteme zukünftig nutzen können. Biosensorsysteme lassen sich zur schnellen Verifizierung der Wasserqualität einsetzen, indem Spuren von Mikroschadstoffen, Pathogene oder Toxine quantitativ bestimmt werden. Für all diese Anwendungen ist noch viel Forschung notwendig. Aber die Errungenschaften aus der digitalen Welt müssen auf alle Fälle jetzt mit unseren Sensorsystemen integriert werden.

Wenn Sensoren autonom arbeiten, in Echtzeit Daten versenden und diese sogleich intern ausgewertet werden können, kann es zu einem Paradigmenwechsel in der Umweltanalytik führen. Die Wasserqualität kann dezentral sichergestellt werden. Zentrallabore, welche mit aufwändigen instrumentelle Analysesysteme ausgestattet sind, würden nur noch für eine quantitative Bestätigung der Wasserqualität genutzt werden müssen. Hoch komplexe dynamische Prozesse in der Umwelt und in technischen wasserführenden Anlagen könnten autonom geregelt werden, wodurch die Wasserqualität zu jedem Zeitpunkt sichergestellt werden kann. Damit könnten Menschen, Tiere und die Umwelt nachhaltig geschützt werden.

In der Wasserchemische Gesellschaft wurde eine neue Fachgruppe für Sensorik etabliert, die von Dr. Günther Proll vom Institut für Physikalische und Theoretische Chemie an der Eberhard Karls Universität Tübingen geleitet wird. In dieser Fachgruppe, sollen sich nicht nur die Sensoren vernetzen sondern auch die Wassersensoriker.

Literatur

1. WALSER, S. M.; GERSTNER, D. G.; BRENNER, G.; HÖLLER, C.; LIEBL, B.; HERR, C.W.W: Assessing the environmental health relevance of cooling towers – A systematic review of legionellosis outbreaks. In: *Int. J. Hyg. Environ. Health* 217 (2016), Nr. 2-3, S. 145-154.

2. CERVERO-ARAGO, S.; SCHRAMMEL, B.; DIETERSDORFER, E.; SOMMER, R.; LÜCK, C.; WALOCHNIK, J.; KIRSCHNER, A.: Viability and infectivity of viable but nonculturable *Legionella pneumophila* strains induced at high temperatures. In: *Water Res.* 158 (2019), S. 268-279.

3. LEE, M.W.; HONG, S.H.; CHOU, H.; KIM, J.-H.; LEE, D.S.; PARK, J.M. Real-time remote monitoring of small-scaled biological wastewater treatment plants by a multivariate statistical process control and neural network-based software sensors. In: *Process Biochem.* 43 (2008), Nr. 10, S. 1107-1113.

4. SCHMIDT, T.C.: Recent trends in water analysis triggering future monitoring of organic micropollutants. In: *Anal. Bioanal. Chem.* 410 (2018), S. 3933–3941.

.

5. HUEBNER, M.; BEN HADDADA, M.; METHIVIER, C.; NIESSNER, R.; KNOPP, D.; BOUJDAY, S.: Layer-by-layer generation of PEG-based regenerable immunosensing surfaces for small-sized analytes. In: Biosens. Bioelectron. 67 (2015), S. 334-341.

6. SZKOLA, A.; CAMPBELL, K.; ELLIOTT, C.T.; NIESSNER, R.; SEIDEL, M. Automated, high performance, flow-through chemiluminescence microarray for the multiplexed detection of phycotoxins. In: Anal. CHIM. ACTA, 787 (2013), S. 211-218.

7. ZHOU, B.; BIAN, C.; TONG, J.; XIA, S.: Fabrication of a miniature multi-parameter sensor chip for water quality assessment. In: *Sensors* 17 (2017), Nr. 157, S. 1-14.

8. POSTOLACHE, O.; PEREIRA, J.D.; GIRAO, ET.: Wireless sensor network-based solution for environmental monitoring: water quality assessment case study. In: *Sci. Meas. Technol. (2014)*, S. 1–7.

Danksagung

Der Autor möchte seinen Fördergebern seinen Dank ausdrücken. Aktuell laufen im Arbeitskreis von PD Dr. Michael Seidel folgende KI-bezogene Projekte: K2I, vom BMBF im Programm Digital Green Tech – FONA gefördert; LEMOSE2, vom BMBF im Programm KMU-innovativ gefördert und MARCA, welches von AIF-ZIM gefördert wird.

DOI 10.5162/15dss2021/P4.9

Stimuli-responsive Ferrogele zur Umweltüberwachung von Schwermetallen

Alice Mieting, Yi-Pin Wei, Daniela Franke, Margarita Günther, Gerald Gerlach

Institut für Festkörperelektronik, TU Dresden, Dresden, Deutschland
Kontakt: alice.mieting@tu-dresden.de

Einleitung

Für eine schnelle Bestimmung von Schadstoffkonzentrationen schwermetallbelasteter Gewässer direkt am Ort der Entstehung ist bislang keine kostengünstige Sensortechnik verfügbar [1]. Eine Lösung zur Etablierung einer effizienteren vor-Ort-Analytik könnte die Entwicklung eines Schwermetall-sensitiven Materials für die Anwendung in einem Drucksensor sein.

Ferrogele sind dafür ein vielversprechendes Material. Sie basieren auf einem hydrophilen Polymernetzwerk inkorporiert mit Eisenoxidpartikeln. Die enthaltenen Eisenoxidpartikel besitzen eine hohe Adsorption gegenüber Schwermetallen [2], [3] und das Polymernetzwerk kann aufgrund seiner viskoelastischen Eigenschaften in wässrigen Umgebungen das Volumen ändern [4]. Die resultierende Stimuli-responsive Volumenänderung kann schließlich über einen piezoresistiven Sensor in ein elektronisches Ausgangssignal übertragen werden [5].

In diesem Beitrag wird die Herstellung von Ferrogelen mittels nasschemischer in-situ Fällung von Eisenoxidpartikeln in Hydrogelen sowie die Charakterisierung der resultierenden Quelleigenschaften präsentiert. Dabei soll der Einfluss der folgenden Synthesebedingungen auf die Quelleigenschaften der Ferrogele untersucht werden:

1) Konzentration der Fällungsreagenzien und
2) Struktur des Hydrogels als Templat mit Ionenkoordinierenden Eigenschaften.

In Abb. 1A ist das Schema zur Herstellung der Ferrogele mit den verwendeten Fällungsreagenzien zur stöchiometrischen Bildung von Magnetit ($Fe^{II}(Fe^{III})_2O_4$) dargestellt. Um den Einfluss der gebildeten Menge an Eisenoxid auf die sensitiven Quelleigenschaften der Ferrogele zu bestimmen, werden Verdünnungsstufen des Fällungsansatzes angewendet. Zur Untersuchung der Templatstruktur wird ein nichtionisches Polyacrylamid Hydrogel (P(AAm)) und ein anionisches Copolymer mit Natriumacrylatgruppen (P(NaAc-co-AAm)) verwendet.

Die Quelleigenschaften der Ferrogele werden in Abhängigkeit von der Ionenstärke und des pH-Wertes sowie hinsichtlich der Quellkinetik charakterisiert. Anhand der Ergebnisse soll die potenzielle Anwendbarkeit der Ferrogele als Stimuli-sensitives Material für Drucksensoren gezeigt werden.

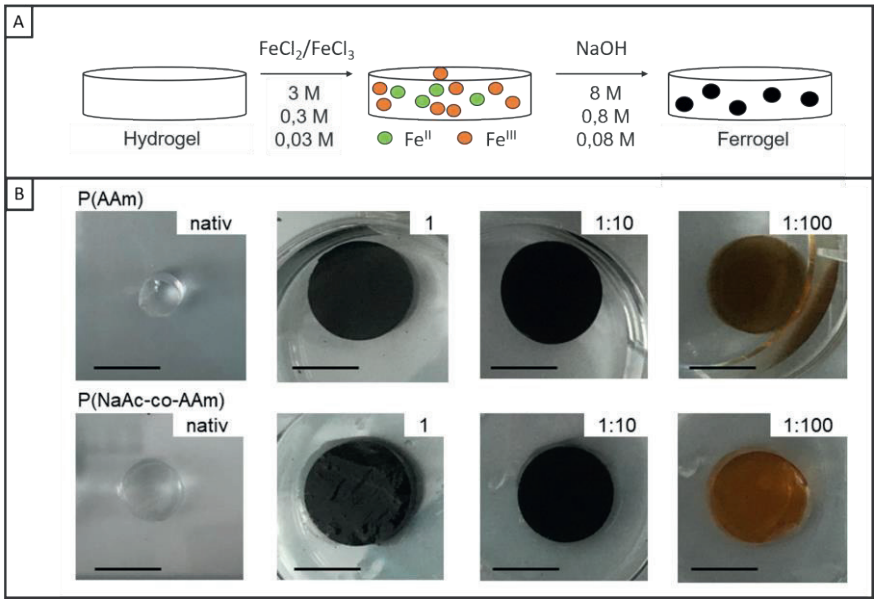


Abb. 1: (A) Übersicht der verwendeten Konzentrationen an Eisensalz- und NaOH-Lösungen zur in-situ Präzipitation von Eisenoxidpartikeln in Hydrogelen. (B) Darstellung der P(AAM) und P(NaAc-co-AAm) Hydrogele sowie der resultierenden Ferrogele in Abhängigkeit von den verwendeten Konzentrationen im Präzipitationsansatz (Maßstabsbalken entspricht 1 cm).

Methoden und Materialien

Synthese der Hydrogele

Für die Synthese der P(AAm) Hydrogele nach [6] wurden 1,6 mol/L des Monomers Acrylamid und 1,5 mol-% des Vernetzers *N,N'*-Methylen-bis-acrylamid in deionisiertem Wasser gelöst und auf Eis gekühlt. Zur Initiierung der freien radikalischen Polymerisation werden 0,27 mol-% Ammoniumperoxodisulfat und 2,1 mol-% *N,N,N',N'*-Tetramethylethylendiamin zur Lösung gegeben, resuspendiert, in 1 mL Glasröhrchen pipettiert und verschlossen über Nacht bei Raumtemperatur zur Polymerisation gelagert.

Für die Synthese der P(NaAc-co-AAm) Hydrogele wurden insgesamt 4,769 mol/L der Monomere Natriumacrylat und Acrylamid in einem Verhältnis von 5:95 eingesetzt und mit 1,0 mol-% des Vernetzers *N,N'*-Methylen-bis-acrylamid in deionisiertem Wasser gelöst und auf Eis gekühlt. Zur Initiierung der freien radikalischen Polymerisation werden 0,09 mol-% Ammoniumperoxodisulfat und 0,7 mol-% *N,N,N',N'*-Tetramethylethylendiamin zur Lösung gegeben, resuspendiert und ebenso in 1 mL Glasröhrchen pipettiert sowie verschlossen über Nacht bei Raumtemperatur zur Polymerisation gelagert.

Das Volumen der jeweiligen Syntheseansätze betrug 10 mL. Die polymerisierten Hydrogele wurden aus den Glasröhrchen entfernt und für 5 Tage in deionisiertem Wasser unter mehrmaligem Wechsel gewaschen. Von den zylinderförmigen Hydrogelen wurden ca. 2 mm dicke Scheiben angefertigt und vor der in-situ Fällung in mehreren Zyklen 1 M Natriumchloridlösung (NaCl) konditioniert, um reproduzierbare Ferrogele zu erhalten.

In-situ Fällung der Eisenoxidpartikel im Hydrogel

Zur Vorbereitung der Fällung wurden die Hydrogelscheiben mit Stickstoff in deionisiertem Wasser sauerstofffrei gespült und der Fällungsansatz vollständig in einer Stickstoff-gefluteten Handschuhbox (Sauerstoffkonzentration < 0,01 %) durchgeführt.

Die 3 M Eisenchloridlösung besteht aus Eisen(III)-chlorid-Hexahydrat und Eisen(II)-chlorid-Tetrahydrat in einem molaren Verhältnis von 2:1. Von dieser Lösung wurden eine 1:10 und eine 1:100 Verdünnung hergestellt. Im ersten Schritt der Fällung wurde das native Hydrogel in je 5 mL der entsprechend konzentrierten Eisenchloridlösung für 24 h gelegt.

Zur Fällung von Eisenoxid wurde eine 8 M Natriumhydroxidlösung und die jeweiligen 1:10 und 1:100 Verdünnungen hergestellt. Die überschüssige Eisensalzlösung wurde abgesaugt und je 5 mL der entsprechend konzentrierten NaOH-Lösung auf die Eisensalz-getränkten Hydrogele gegeben. Es erfolgte eine Lagerung des Fällungsansatzes über Nacht. Abschließend wurden die Ferrogele bis zur pH-Neutralität des Wassers mit deionisiertem Wasser gewaschen.

Die folgenden Experimente zur Charakterisierung der Ferrogele wurden jedoch unter Umgebungsbedingungen durchgeführt, so dass eine Oxidation von Magnetit (Fe_3O_4) zu Maghämit (γ-Fe_2O_3) anzunehmen ist.

Bestimmung des Quellgrades

Um die Stimulus-abhängigen Quelleigenschaften der Hydrogele und Ferrogele zu bestimmen, wurde jeweils die Masse der Proben ohne (m_0) und mit Stimulus (m_i) nach je 24 h ermittelt und der Quellgrad über folgenden Zusammenhang bestimmt:

$$\text{Quellgrad}\,[\%] = \frac{m_i - m_0}{m_0} * 100\% \qquad (1)$$

Ergebnisse

Abb. 1B zeigt die transparenten Hydrogele sowie die korrespondierenden Ferrogele, welche nach der in-situ Fällung in Abhängigkeit der eingesetzten Verdünnungen schwarz und hellbraun erscheinen. Weiterhin fällt eine deutliche Volumenzunahme der Ferrogele gegenüber den Hydrogelen auf. In Abhängigkeit der verwendeten Konzentration des Präzipitationsansatzes kann auf einen hohen (schwarz) bis niedrigen Gehalt (hellbraun) an Eisenoxidpartikeln im Hydrogel geschlossen werden.

Ionensensitivität der Ferrogele

In Abb. 2 ist der Quellgrad der Hydrogele und Ferrogele in einem Bereich von 1 nM bis 1 M NaCl aufgetragen. Erwartungsgemäß gibt es eine leichte Quellung von ca. 10 % des neutralen P(AAm) und eine sprunghafte Entquellung von ca. 40 % des anionischen Copolymers in 1 M NaCl.

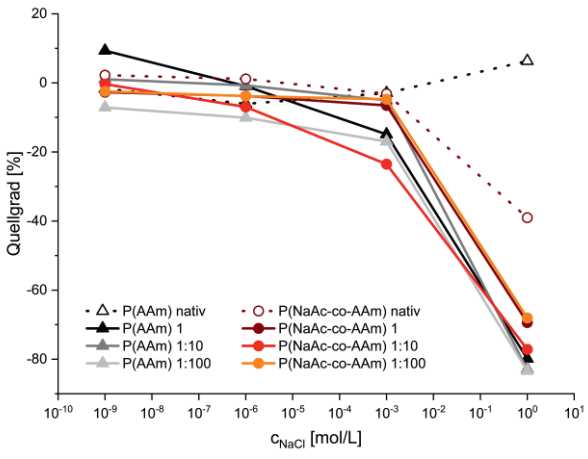


Abb. 2: Quellgrad der Hydrogele und Ferrogele gegenüber NaCl-Lösung verschiedener Ionenstärke.

Ebenso zeigen alle Ferrogele eine sprunghafte Entquellung in 1 M NaCl mit einem nahezu doppelten Quellgrad von ca. -80 %. Darüber hinaus entquellen Ferrogele, die aus verdünnten Fällungsansätzen hergestellt wurden, bereits bei Ionenstärken im nM- und µM-Bereich, sodass eine Steigerung der Sensitivität erzielt werden konnte.

pH-Sensitivität der Ferrogele

Die pH-abhängigen Quellkurven in Abb. 3 zeigen vor allem für die Ferrogele aus den Verdünnungsstufen eine nahezu lineare Quellgradänderung von pH 2 zu pH 7 um 20 bis 40 %. Bei pH 8 zeigt sich nochmal eine deutliche Steigerung oder teilweise eine geringe Abnahme des Quellgrades.

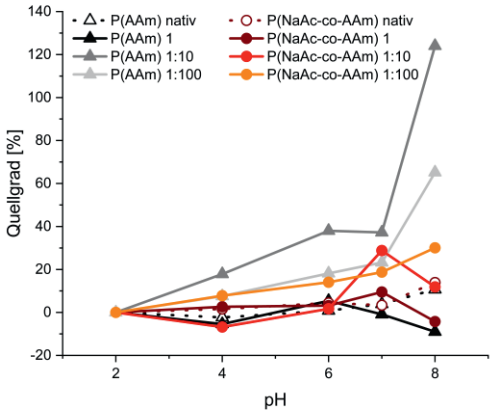


Abb. 3: pH-abhängiger Quellgrad der Hydrogele und Ferrogele.

Kinetik der Ferrogele

Wie Abb. 4 zeigt, ist auch die Ansprechzeit der Ferrogele gegenüber den Hydrogelen während der Entquellung deutlich gesteigert.

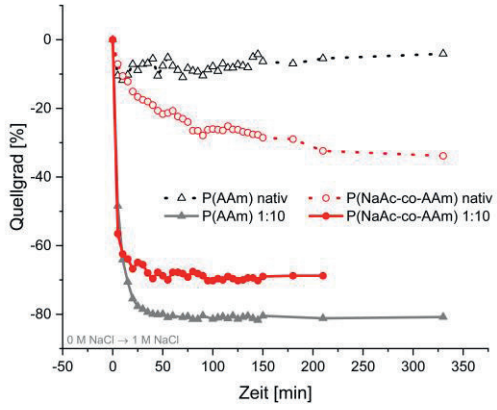


Abb. 4: Kinetik der Entquellung der Hydrogele und Ferrogele in 1M NaCl.

So erreichen die Hydrogele einen quasi-stationären Quellgrad nach über drei Stunden und die Ferrogele aufgrund der sprunghaften Entquellung bereits nach etwa 30 min.

Diskussion

Der Quellmechanismus neutraler und Ionen-sensitiver Hydrogele beruht auf unterschiedlichen Wechselwirkungen mit der umgebenden Ionen-haltigen Lösung. Neutrale Hydrogele quellen unter erhöhter Ionenstärke, bis der osmotische Druck der beiden Systeme Hydrogel und Umgebung ausgeglichen ist. Ionen-sensitive Hydrogele mit festgebundenen anionischen Acrylat-Gruppen (pKs-Wert: 4,2) liegen im neutralen pH-Bereich deprotoniert vor [7]. Die dadurch verursachten negativen Ladungen führen zu elektrostatischen Abstoßungen innerhalb des Polymernetzwerkes, sodass dieses im gequollenen Zustand vorliegt. Kommt es zur Diffusion von gelösten Ionen werden die gebundenen Ladungen neutralisiert und das Hydrogel entquillt.

Damit lassen sich zwei Effekte der durchgeführten Quellexperimente erklären:

(1) Die Ionen-sensitive Entquellung und pH-abhängige Quellung aller Ferrogele ist auf eine hohe Dichte an Oberflächen-aktiven Hydroxylgruppen der präzipitierten Eisenoxidpartikel zurückzuführen [8] bzw. kann auch davon ausgegangen werden, dass nicht ein reines Oxid, sondern ein Eisenoxidhydroxid entstanden ist [9]. Je nach pH-Wert besitzen die Eisenoxidpartikel entweder eine protonierte oder eine deprotonierte Oberflächenladung [10]. Der Quellgrad bei pH 7 zeigt, dass bei neutralem pH-Wert deprotonierte Oberflächenladungen vorliegen (Abb. 3), die wiederrum unter erhöhter Ionenstärke neutralisiert werden und damit zur Ionensensitiven Entquellung der Ferrogele führen (Abb. 2). Weiterhin verdeutlichen die Quellexperimente, dass vor allem Ferrogele aus geringer konzentrierten Präzipitationsansätzen linear verlaufende Quellkurven besitzen und damit besser als sensorisches Material in Drucksensoren geeignet sind.

(2) Ein geringerer Quellgrad der Copolymer-basierten Ferrogele gegenüber den P(AAm)-basierten Ferrogele kann auf eine zusätzliche Vernetzung der anionischen Copolymere durch die Eisenionen zurückgeführt werden. In der Literatur wird beschrieben, dass Eisenionen in Hydrogelen durch festgebundene, negativ geladene Gruppen koordiniert werden und damit eine zusätzliche physikalische Vernetzung der Hydrogelstruktur bewirken [11]. Der Effekt der physikalischen Vernetzung anionischer Hydrogele durch Eisenionen führt zur Verringerung der Elastizität des Hydrogels und könnte somit den geringeren Quellgrad des Copolymer-basierten Ferrogels erklären.

Zusammenfassend konnten Stimuli-responsive Ferrogele mittels in-situ Fällung hergestellt werden. Die Ferrogele besitzen eine Ionen-sensitive Entquellung bei neutralen pH-Werten über einen weiten Bereich variierender Ionenstärke. Vor allem Ferrogele aus verdünnten Präzipitationsansätzen weisen ein lineares Quellverhalten, eine kurze Ansprechzeit und einen hinreichend hohen Quellgrad auf. Damit erfüllen sie die Anforderungen, um als sensorisches Material im Drucksensor verwendet werden zu können.

Literatur

[1] P. Devi, A. Thakur, R. Y. Lai, S. Saini, R. Jain, and P. Kumar, “Progress in the materials for optical detection of arsenic in water,” *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 110, pp. 97–115, Jan. 2019.

[2] D. E. Giles, M. Mohapatra, T. B. Issa, S. Anand, and P. Singh, “Iron and aluminium based adsorption strategies for removing arsenic from water,” *J. Environ. Manage.*, vol. 92, no. 12, pp. 3011–3022, 2011.

[3] M. J. Uddin and Y. K. Jeong, “Review: Efficiently performing periodic elements with modern adsorption technologies for arsenic removal,” *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 27, no. 32, pp. 39888–39912, 2020.

[4] M. Guenther, T. Wallmersperger, and G. Gerlach, “Piezoresistive chemical sensors based on functionalized hydrogels,” *Chemosensors*, vol. 2, no. 2, pp. 145–170, 2014.

[5] M. Guenther and G. Gerlach, “Hydrogels for Chemical Sensors,” 2009, pp. 165–195.

[6] J. Erfkamp, M. Guenther, and G. Gerlach, “Hydrogel-based sensors for ethanol detection in alcoholic beverages,” *Sensors (Switzerland)*, vol. 19, no. 5, 2019.

[7] M. J. Krafcik and K. A. Erk, “Characterization of superabsorbent poly(sodium-acrylate acrylamide) hydrogels and influence of chemical structure on internally cured mortar,” *undefined*, vol. 49, no. 11, pp. 4765–4778, Nov. 2016.

[8] E. Darezereshki, A. khodadadi Darban, M. Abdollahy, and A. Jamshidi-Zanjani, “Influence of heavy metals on the adsorption of arsenate by magnetite nanoparticles: Kinetics and thermodynamic,” *Environ. Nanotechnology, Monit. Manag.*, vol. 10, no. January, pp. 51–62, 2018.

[9] J. P. Jolivet, C. Chanéac, and E. Tronc, “Iron oxide chemistry. From molecular clusters to extended solid networks,” *Chem. Commun.*, vol. 4, no. 5, pp. 477–483, 2004.

[10] W. Stumm, “The Inner-Sphere Surface Complex,” pp. 1–32, 1995.

[11] S. Kim, A. U. Regitsky, J. Song, J. Ilavsky, G. H. McKinley, and N. Holten-Andersen, “In situ mechanical reinforcement of polymer hydrogels via metal-coordinated crosslink mineralization,” *Nat. Commun.*, vol. 12, no. 1, pp. 1–10, 2021.

Danksagung

Die Autoren danken Alexander Kutscher vom Institut für Halbleiter- und Mikrosystemtechnik der TU Dresden für die Bereitstellung der Stickstoff-gespülten Handschuhbox. Weiterhin gilt der Dank der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) für die finanzielle Unterstützung im Rahmen des Graduiertenkollegs „Hydrogel-basierte Mikrosysteme“ (GRK 1865).

DOI 10.5162/15dss2021/P4.10

Entwicklung eines voltammetrischen *In-situ*-Sensorsystems zum Nachweis von As(III) und As(V)

Janek Weißpflog[1], Kathrin Trommer[1], Johannes Schwarz[1] und Michael Mertig[1,2]

[1]Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim, Deutschland
[2]Professur für Physikalische Chemie, Mess- und Sensortechnik, Technische Universität Dresden, Dresden, Deutschland
Kontakt: janek.weisspflog@ksi-meinsberg.de

Einleitung

In der bis 1990 betriebenen Bergbaugrube in Ehrenfriedersdorf wurde hauptsächlich Zinnerz abgebaut; zwei Spülhalden entstanden als Resultat dieser Zinnerzförderung. Nach der Schließung und Verwahrung der Grube wurden die bergmännischen Hohlräume geflutet. Die Grubenwässer weisen laut Hösel et al. [1] in der Folge eine hohe As- und Fe-Belastung auf. In den Spülhalden wurden die Rückstände der Zinnaufbereitung der letzten Bergbauperiode seit 1942 aufgehaldet. Die Haupterzminerale der Lagerstätte Ehrenfriedersdorf sind Zinnstein (Kassiterit, SnO_2), Arsenopyrit (FeAsS) und Löllingit ($FeAs_2$) [1]. Bevor eine Behandlungstechnologie zur Entfernung von Arsen aus Trinkwasser und Böden ausgewählt wird, muss in Erfahrung gebracht werden, welche Arsenspezies im Wasser oder Boden vorhanden ist. Die Mobilität und Toxizität von Arsenionen wird stark durch seine Speziation (Ladungszahl) beeinflusst. As(V) kommt in wässriger Lösung je nach pH-Wert in vier Formen vor: H_3AsO_4 (Arsenat, $pK_1 = 2{,}2$; anionisch bei neutralem pH), $H_2AsO_4^-$, $HAsO_4^{2-}$ und AsO_4^{3-}. In ähnlicher Weise kommt As(III) in fünf Formen vor: $H_4AsO_3^+$, H_3AsO_3 (Arsenit, $pK_1 = 9{,}2$; undissoziiert bei neutralem pH), $H_2AsO_3^-$, $HAsO_3^{2-}$, und AsO_3^-. Die ionischen Formen von As(V) dominieren bei pH >3, und As(III) ist bei pH <9 neutral und bei pH >9 ionisch [2]. Da die Nettoladung von As(III) bei natürlichen pH-Werten von $6 \leq pH \leq 9$ neutral ist, lässt sich diese Form nicht leicht entfernen. As(III) gilt zudem als mobiler und giftiger für lebende Organismen. Dagegen zählen organische Arsenarten als sehr viel weniger gesundheitsschädlich und können vom Körper leicht ausgeschieden werden. Außerdem ist As(III) in Böden mobiler als As(V). Organisches As ist im Vergleich zu anorganischen Formen von As weniger mobil. Daher ist die Umwandlung von As(III) → As(V) ein kritischer Schritt jedes Arsenbehandlungsverfahrens.

Die durchschnittliche Arsenkonzentration der Wässer in der Zinnerzgrube Ehrenfriedersdorf und deren Umgebung beträgt etwa 0,5 mg/l (vgl. TrinkwV: oberer Grenzwert $c_{max}(As) = 10$ µg/l). Die Redoxstabilität von As(III) und As(V) hängt vom pH-Wert und Eh-Wert in Lösung ab. Bei niedrigem pH-Wert herrscht As(III) zwischen 0 und 500 mV vor, wohingegen As(V) oberhalb von 500 mV stabil ist. Mit steigendem pH-Wert ist As(III) nur dann stabil, wenn der Eh-Wert kontinuierlich sinkt. Die Stabilität von As(V) nimmt mit steigendem pH-Wert über 0 mV zu [3-5]. Eisen und seine eventuelle Oxidation sind wichtige Einflussfaktoren für die Arsenspeziation in wässrigen Umweltproben. Ein niedriger Eisengehalt, wie es in vielen Grundwässern und Grubenentwässerungen mit hohem pH-Wert der Fall sein könnte, kann bei einem pH-Werten von über 4 eine beträchtliche Menge Arsenat ausgefällt werden [6].

Sowohl As(V) als auch As(III) bilden mit vielen Metallionen Chelate und Ausfällungen. $Ca_3(AsO_4)_2$ ist die stabilste As(V)-Spezies in gut oxidierten alkalischen Umgebungen. Unter reduzierenden Bedingungen und hohen Mn-Konzentrationen in den Böden wird die Löslichkeit von As durch $Mn_3(AsO_4)_2$ kontrolliert [3]. Samadzadeh et al. beschrieb den Sättigungsindex als geeignetes Kriterium für den Vergleich der Tendenz verschiedener Metalle, mit Arsen auszufallen [7]. Demnach bildet As(V) insbesondere im pH-Bereich von 4 – 12 feste Verbindungen mit vielen metallischen Kationen. Weiterhin wurde ein Fixierungsprozess beschrieben, bei dem mit As(V) kontaminierte Feststoffe durch die 1:1-Zugabe von Eisensulfat ($FeSO_4 \cdot 4\ H_2O$)-Lösung behandelt werden, um Eisen(III)-arsenat zu erzeugen. Es ist offensichtlich, dass die Verfügbarkeit von O_2 einer der Schlüsselfaktoren ist, die den Prozess steuern. $FeAsO_4$ ist eine unlösliche Verbindung [3]:

$$Fe(H_2O_6)^{2+} \rightarrow Fe(H_2O)_6^{3+} + e^- \quad (1)$$
$$Fe^{3+} + AsO_4^{3-} \rightarrow FeAsO_4 \quad (2)$$

Arsen kann also entweder direkt durch Metallkationen oder durch Co-Präzipitation mit metallischen Hydroxiden aus der Lösung ausgefällt werden. Bei der konventionellen Koagulation bilden sich große, nicht dispergierte Partikel aus einem Kolloid, z. B. hydratisiertes $Fe_2(SO_4)_3$ mit einem gelösten Stoff, z. B. $H_2AsO_4^-$ [3].

Oberhalb des pH-Werts von pH = 2,2 ist die Ladung der Arsensäure (As(V)) negativ. In Böden und Sedimenten sind die Oberflächen von Quarzkörnern und sekundären Tonmineralien mit pH-abhängigen Metalloxiden überzogen, deren Ladung positiv ist, bis etwa pH 8, wo der Nullpunkt der Ladung der meisten Aluminium- (Al) und Eisenoxide (Fe(III))

liegt. Arsenat wird daher elektrostatisch von Oberflächen aus Ferrihydrit, Goethit, Hämatit oder Al_2O_3 angezogen. Arsenat ist daher in der Umwelt weniger mobil als das nichtionische As(III). Die Adsorption von Arsenat nimmt mit abnehmendem pH-Wert zu, während das Adsorptionsmaximum von As(III) im Allgemeinen in der Nähe seiner ersten Dissoziationskonstante (9,22) liegt [3]. Die meisten derzeit angewandten Verfahren zur Entfernung von Arsen aus Trinkwasser beruhen auf der Oxidation, gefolgt von der Adsorption oder Co-Präzipitation von As(V) mit Eisen- und anderen Metalloxiden. Eine elektrochemische Untersuchung des Verhaltens von Arsen in wässrigen Lösungen wird das Verständnis für diese Reaktionen verbessern. Dies ist ein wichtiger Schritt zur Optimierung des Prozesses und zur effizienteren Entfernung von Arsen.

Für die Sensorik umweltrelevanter Schwermetallionen im Wasser sind elektrochemische Bestimmungsmethoden wie Voltammetrie und Potentiometrie gut etabliert. Beispielsweise wurden Elektroden für die spezifische Detektion von Cu^{2+}, NO_3^- und NH_4^+ entwickelt und extensiv charakterisiert [8,9]. Für eine effektive Anwendung der mittels Siebdrucktechnik hergestellten Elektroden sowie von miniaturisierten Stabelektroden wurden zudem miniaturisierte Referenzelektroden entwickelt.

In diesem Beitrag werden neuartige Siebdruckelektroden mit einer Drei-Elektroden-Anordnung beschrieben. Als Detektionsmethoden werden die Messtechniken Cyclovoltammetrie (CV) *Square-Wave-Anodic-Stripping*-Voltammetrie (SWASV), *Differential-Pulse-Anodic-Stripping*-Voltammetrie (DPASV) sowie *Kathodic-Stripping*-Voltammetrie (CSV) unter Verwendung eines tragbaren elektrochemischen Analysegeräts für die Untersuchungen eingesetzt.

Methoden und Materialien

Alle verwendeten Reagenzien waren von analytischer Qualität und wurden ohne weitere Aufbereitung verwendet. Alle wässrigen Lösungen wurden mit ultrareinem Wasser (Leitfähigkeit kleiner 0,058 µS/cm bei 298 K) aus einem ThermoScientific MicroPure UV-Wasserreinigungssystem hergestellt. Standards von As(III) und As(V) wurden von Sigma-Aldrich bezogen, ebenso wie Cu(II) und L-Ascorbinsäure. Die Chemikalien für die Herstellung der Acetat- und PBS-Pufferlösungen wie Eisessig, Salzsäure, Natriumhydroxid und di-Natriumhydrogenphosphat wurden bei Carl Roth erworben. Kaliumdihydrogenphosphat stammt von der Firma Laborchemie Apolda.

Elektrodenmaterial

Bei den voltammetrischen Messungen wurde die Dreielektrodentechnik verwendet, mit Pt oder Au-basierter Arbeitselektrode, Gegenelektrode (Pt) und Ag/AgCl als Referenzelektrode (Abb. 1). In der Anordnung mit drei Elektroden auf einer gemeinsamen Substratoberfläche hat die Referenzelektrode die Aufgabe, mit ihrem konstanten Potential für eine genauere Messung und Regelung zu sorgen. Das Potential der Arbeitselektrode wird gegen das der Referenzelektrode, durch die kein Strom fließt, gemessen. Damit wird der Fehler durch den ohmschen Spannungsabfall in der Lösung weitgehend eliminiert [10]. Um die Spannung wieder an das gewünschte Sollpotential anzugleichen, wird ein Strom von der Gegenelektrode zur Arbeitselektrode geschickt. Der eingesetzte Potentiostat PalmSens[4] (Niederlande) wird mit der Software PSTrace (Version 5.8) gesteuert.

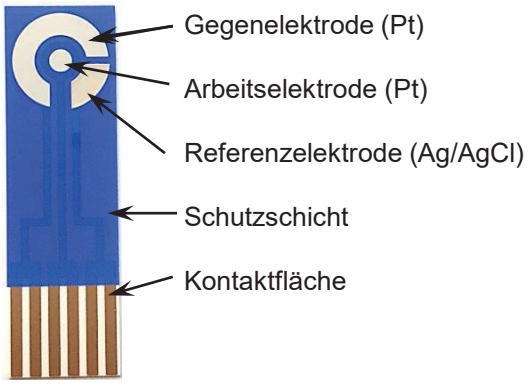


Abb. 1: Neu entwickelte Pt-basierte Siebdruckelektrode mit Drei-Elektroden-Anordnung (Pt-Arbeitselektrode, Pt-Gegenelektrode und Ag/AgCl-Referenzelektrode).

Voltammetrische Messungen

Die Optimierung der elektrochemischen Parameter und die quantitative Bestimmung von As(III), As(V) und Cu(II) wurden mit Hilfe der SWASV durchgeführt. Vor jeder Messreihe wurde eine cyclovoltammetrische Messung mit folgenden Parametern (E_{start} = 1,5 V; $E_{vertex1}$ = -1,5 V; $E_{vertex2}$ = 1,5 V; E_{step} = 0,1 V) durchgeführt. Anschließend wurden SWASV-Messungen mit den angegebenen Messbedingungen durchgeführt bis die Basislinie reproduzierbar war. Die Bestimmung von As(III), As(V), Cu(II), Fe(III) und Zn(II) erfolgte nach elektrochemischer Reinigung und Aktivierung der Elektrodenoberfläche durch Anlegen eines Anreicherungspotentials (E_{dep}) von -1,5 V bei einer Anreicherungszeit (t_{dep}) von 120 s. Die Anreicherung erfolgte unter Rühren, wobei ein Magnetrührer (Automatic Stirrer including Switch Box, EKTechnologies GmbH, Wesel) zum Einsatz kam. Nach einer Standzeit von 10 s wurden Voltammogramme aufgenommen, während der Potentialbereich in der voltammetrischen Zelle gegen eine Ag/AgCl-Elektrode von -1,5 V bis +1,5 V gescannt wurde. Die voltammetrischen Parameter für

die SWV waren Amplitude = 20 mV und Frequenz = 25 Hz. Für jede Messung wurden Doppel-Scans aufgezeichnet. Die Experimente wurden bei Raumtemperatur durchgeführt. Die dargestellten Voltammogramme wurden nicht basislinienkorrigiert.

Ergebnisse

CV-Untersuchungen von As in unterschiedlichen Elektrolytlösungen und bei pH-Werten

Voltammetrische Messungen werden durch die von den jeweiligen Elektrolyten abhängigen Potentialgrenzen bestimmt. Mit zunehmend niedrigerem pH-Wert wird die Bildung von H_2 bei negativem Anreicherungspotential gefördert. Je niedriger der pH-Wert, desto mehr verlagert sich die H_2-Bildung in positivere Bereiche. Aus diesem Grund wird die Verwendung von Anreicherungspotentialen, die negativer als -2,0 V bei pH~12 und negativer als -0,5 V bei pH~2 sind, gegen Ag/AgCl nicht empfohlen. Dagegen fördert ein zu hohes Potential, z. B. bei einer Pre-Konditionierung bzw. Reinigung, die Oxidation der Elektrodenoberflächen.

Abb. 2 zeigt Voltammogramme in Lösungen mit As(III) = 1 mg/l in unterschiedlichen Elektrolyten und pH-Werten (PBS, pH = 5; 6; 7 und 8; Acetatpuffer, pH = 4,6; HCl, pH = 2,0). Im Potentialbereich (-1,2 → +1,5 V) und bei den pH-Werten (pH = 2,0 und pH = 4,60) sind die stabilen Formen des Arsens elementares As, As(III) als $HAsO_2$, As(V) als H_3AsO_4 (pH < 3,60) oder $H_2AsO_4^-$ (3,60 < pH < 7,26) und Arsingas (AsH_3). Mögliche Reaktionen, sind nachfolgend zusammengefasst [11]:

$$H_3AsO_4 + 2\,H^+ + 2\,e^- \rightarrow HAsO_2 + 2\,H_2O \quad (3)$$
$$H_2AsO_4^- + 3\,H^+ + 2\,e^- \rightarrow HAsO_2 + 2\,H_2O \quad (4)$$
$$HAsO_2 + 3\,H^+ + 3\,e^- \rightarrow As + 2\,H_2O \quad (5)$$
$$H_3AsO_4 + 5\,H^+ + 5\,e^- \rightarrow As + 4\,H_2O \quad (6)$$
$$As + 3\,H^+ + 3\,e^- \rightarrow AsH_3 \quad (7)$$
$$HAsO_2 + 6\,H^+ + 6\,e^- \rightarrow AsH_3 + 2\,H_2O \quad (8)$$
$$H_3AsO_4 + 8\,H^+ + 8\,e^- \rightarrow AsH_3 + 4\,H_2O \quad (9)$$

Die Messkurven zeigen, dass in allen Elektrolytlösungen sechs Hauptpeaks mit unterschiedlicher Intensität und Peaklage auftreten. Die Peaks bei E = +1,0 V → +1,3 V in anodischer Richtung scheinen der Sauerstoffentwicklung sowie bei E = +0,9 V → +0,5 V der Reduktion der Oxidschicht zu entsprechen. Die Peaks für die Reduktion der Oxidschicht verschieben sich zu negativeren Werten, je geringer der pH-Wert ist. Der dem Peak bei E = +1,0 V → +1,3 V vorausgehende Basisstrom ist positiv und stellt neben der O_2-Entwicklung die Bildung der PtO-Schicht dar. Die Position des Oxidationspotentials von Pt relativ zum Peak bei E = +1,0 V → +1,3 V stimmt mit dem von Cabelka et al. vorgeschlagenen elektrokatalytischen Mechanismus für die Oxidation von As(III) überein [12].

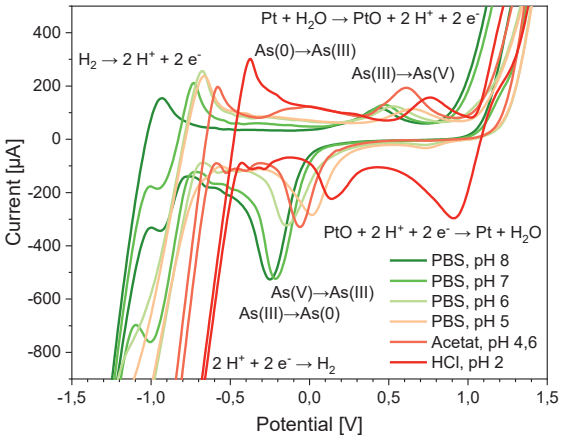


Abb. 2: Cyclovoltammetrische Untersuchung mit der angegebenen Elektrodenkonfiguration von As(III) für c(As(III)) = 1 mg/l in verschiedenen Pufferlösungen; Darstellung des jeweils 50. CV-Zyklus.

Die Peaks bei E = +0,3 V → +0,8 V erscheinen bei einem hohen anodischen Potential, das der Oxidation von As(III) → As(V) zugeordnet werden kann. Auf der kathodischen Seite des Voltammogramms verschwindet der hohe negative Strom bei E = -0,6 V → -1,3 V, der die Wasserstoffentwicklung darstellt, oder er wird stark reduziert und zudem bei höherem pH-Wert zu negativeren Potentialen verschoben. Die Peaks bei E = +0,2 V → -0,2 V in kathodischer Richtung sowie bei E = -0,3 V → +0,2 V entsprechen der Reduktion von As(V) → As(III) und As(III) → As(0) bzw. der Oxidation von As(0) → As(III). Die Messergebnisse stimmen mit den Ergebnissen früherer Untersuchungen überein [12,13]. Außerdem verschiebt sich der kathodische Peak bei E = +0,2 V → -0,2 V (Reduktion von PtO) mit Erniedrigung des pH-Werts zu höheren Potentialen. Dieser liegt nach der Oxidation von As(III) zu As(V) bei einem um etwa 0,3 V negativeren Potential vor. Das könnte durch eine langsame Reduktion desselben Zwischenprodukts, $PtOAs(OH)_3$, erklärt werden, die im elektrokatalytischen Mechanismus vorgeschlagen wird. Es zeigte sich bei den verschiedenen verwendeten pH-Werten, dass die Signalintensität bei der Oxidation von As(0) → As(III) unterschiedlich ist. Dieser scheint bei einem Acetatpuffer (pH = 4,6) und Salzsäure (pH = 2) intensiver zu sein, als bei den verwendeten PBS-Puffern. Dies könnte auf das Vorhandensein von mehr Arsen an der Platinelektrode bei niedrigerem pH-Wert zurückzuführen sein, das aus der Reduktion zu As(-III) bei dem niedrigeren Potential (E = -0,6 V → -1,3 V) und der chemischen Anreicherung von mehr Arsen resultiert: As(-III) + As(III) → 2 As(0) [14].

Nachweis von As(III) durch ASV

Nachfolgend werden SWASV-Untersuchungen zum direkten Nachweis von Arsenspezies sowie zur Signalverbesserung vorgenommen. Abb. 3 (a) zeigt die Auswirkung der Variation der As(III)-Konzentration von 0 – 80 µg/l Arsen(III) bei pH = 2,0 in 0,01 mol/l HCl bei einem Peak-Potential von E = +0,06 V. Bis zum Erreichen von c(As(III)) = 80 µg/l konnte eine hinreichende Linearisierung mit einer Signalintensität von 1,35 µA erzielt werden. Infolgedessen zeigte sich bei gleichbleibender c(As(III)) eine lineare Erhöhung des Peakstroms mit der Erhöhung von c(Cu(II)) (Abb. 3 (b)). Für c(Cu(II)) = 100 µg/l wurde eine Signalintensität von 1,75 µA und für c(Cu(II)) = 500 µg/l von 3,2 µA erhalten. Dieser Trend zeigt zudem die Probleme, welche bei der Detektion von Arsenspezies auftreten können, wenn sie in Gegenwart von Cu(II) vorliegen. Andererseits können bei gleichbleibender Arsenkonzentration Cu(II) zur Intensitätserhöhung bspw. als Zusatz in Elektrolytlösungen genutzt werden. Neben dem charakteristischen Peak für As(III) konnte aber Cu(II) bei einem Peak-Potential von E = -0,13 V gut getrennt von As(III) nachgewiesen werden.

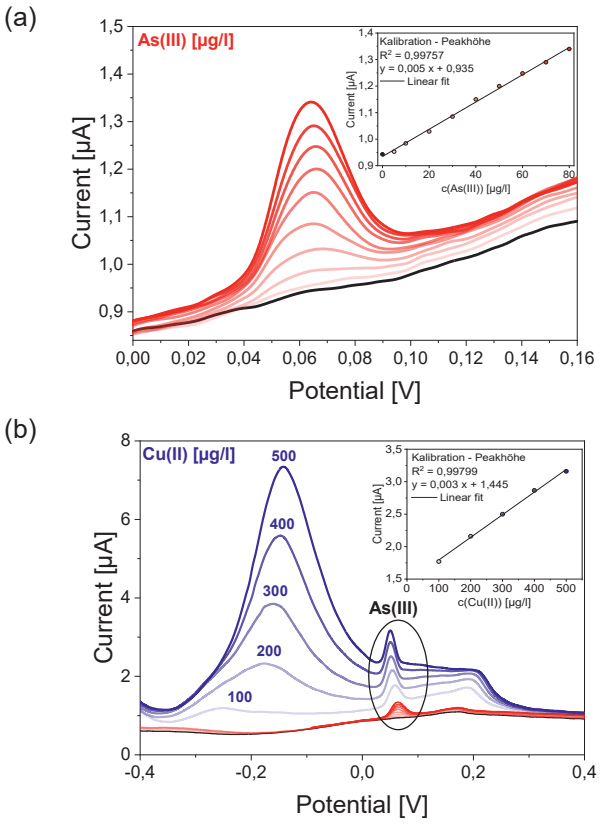


Abb. 3: Anodische-Stripping-Voltammogramme (a) für 0 – 80 µg/l As(III) ohne Cu(II) und (b) für 80 µg/l As(III) und Variation von c(Cu(II)) = 0 – 500 µg/l in 0,01 mol/l HCl, pH = 2,0. Der Ausschnitt zeigt die lineare Kalibrierungskurve die aus den entsprechenden Stripping-Voltammogrammen extrahiert wurde; schwarze Linie: reine Elektrolytlösung.

Nachweis von As(V) durch CSV

Eine weitere Methode der Bestimmung von Arsenspezies ist die CSV. Das ist eine übliche Methode zur Bestimmung anorganischer und organischer Anionen. Bei diesen gibt es keine Anreicherungspotential bzw. –zeit und das Voltammogramm wird in kathodische Richtung aufgenommen. Für die „Co-Elektrolyse“ wurde auch hier Cu(II) verwendet. Nach der Adsorption aus der Cu(II)-haltigen Lösung kann durch Oxidation oder Reduktion aus der intermetallischen Verbindung die Arsenspezies herausgelöst werden. Kathodische Voltammogramme zeigen in der Regel nur einen Peak, der im Einzelnen dem Übergang zum As(-III) entspricht. Zum Vergleich zeigen sich bei der anodischen Stripping-Analyse mehrere Peaks, die der Oxidation des Analyten, des Kupfers sowie weiterer Bestandteile in der Elektrolytlösung zuzuordnen sind. Der kathodische Verlauf von As(III) in einem Konzentrationsbereich von 0 – 140 µg/l ist in Abb. 4 (a) dargestellt. Durch die Konzentrationserhöhung sind keine Potentialänderungen in den Voltammogrammen nachweisbar. Durch den Zusatz von Cu(II) in der Elektrolytlösung konnte nach nachfolgender Erhöhung von c(As(III)) eine Signaländerung detektiert werden.

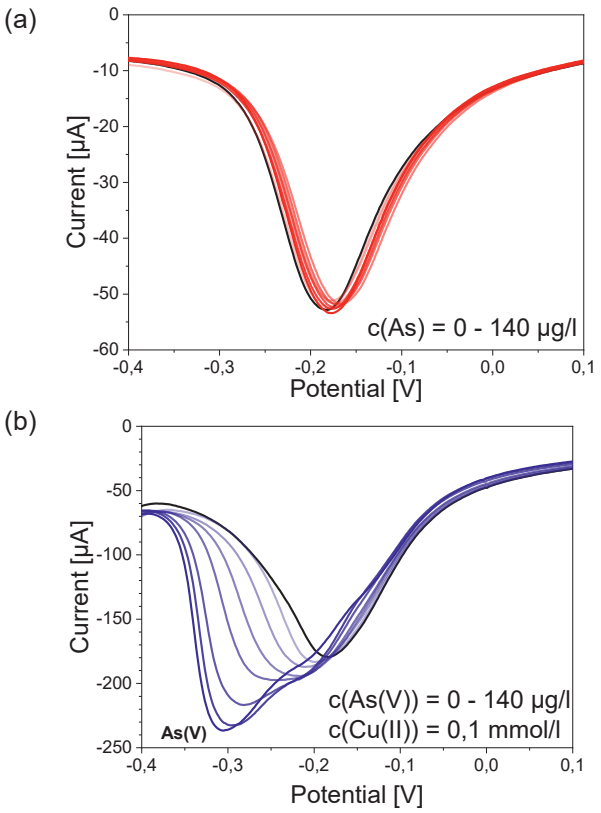


Abb. 4: Kathodische-Stripping-Voltammogramme (a) für 0 – 80 µg/l As(III) ohne Cu(II) und (b) bei Zusatz von Kup-

ferionen mit einer Konzentration von c(Cu(II)) = 0,1 mmol/l und Variation von c(As(V) = 20 – 140 µg/l in PBS, pH = 7,0; schwarze Linie: reine Elektrolytlösung.

Einfluss von Reduktionsmitteln auf die vorliegende Arsenspezies

Der Einfluss von Ascorbinsäure auf die voltammetrischen Messungen sollte klären, inwieweit die vorliegende Arsenspezies durch ein zugesetztes Reduktionsmittel beeinflusst werden kann. Hierfür wurde eine Stammlösung aus 100 µg/l As(III) für mindestens 3 Monate gelagert um diese zur Oxidation zu bringen (s. Abb. 5 (a)). Nach der angegebenen Zeit ist eine deutliche Oxidation anhand der Voltammogramme in Form eines zunehmenden As(V)-Peaks bei E = +0,48 V neben dem As(III)-Peak bei E = ±0 V sichtbar. Nach dem Zusatz von 10 mg/l Ascorbinsäure zu der Stammlösung und erneuter SWASV-Messung konnte kein As(V)-Peak bei E = +0,48 V nachgewiesen werden. Stattdessen zeigte sich ein intensiverer, gut ausgeprägter linearer Verlauf beim As(III)-Peak (s. Abb. 5 (b)).

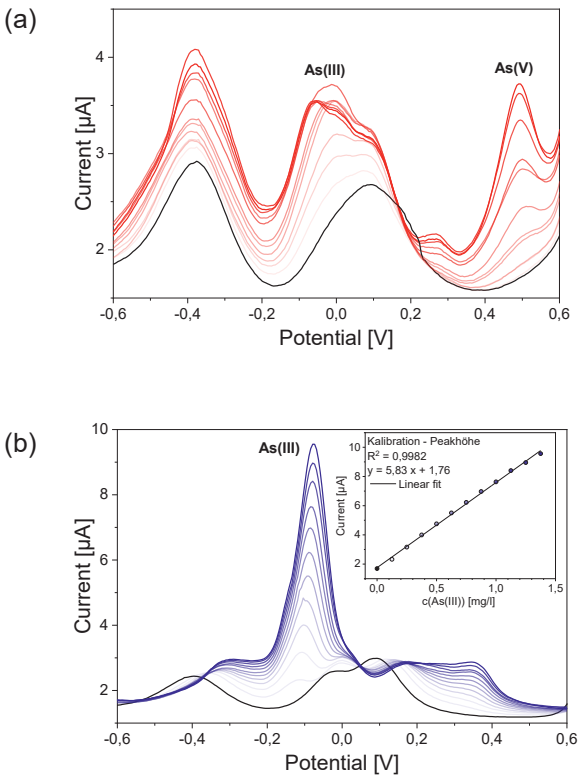


Abb. 5: Anodische-Stripping-Voltammogramme mit c(As(III) = 0,125 – 1,375 mg/l in Acetatpuffer, pH = 4,6; E_{dep} = -1,0 V; t_{dep} = 300 s für (a) ohne den Zusatz von Ascorbinsäure und (b) mit dem Zusatz von Ascorbinsäure c(AA) = 10 mg/l. Der Ausschnitt zeigt die lineare Kalibrierungskurve die aus den entsprechenden Stripping-Voltammogrammen extrahiert wurde; schwarze Linie: reine Elektrolytlösung.

Diskussion

Es wurde eine elektrochemische Untersuchung von Arsenspezies in sauren Lösungen mittels cyclischer Voltammetrie an einer Pt-Arbeitselektrode durchgeführt. Ein gut definierter Peak bei E = +0,3 → +0,8 V wird auf die Oxidation von As(III) → As(V) zurückgeführt. Die entsprechende Reduktion von As(V) wird im Potentialbereich -0,6 – +1,2 V durch die Überlagerung von As(III) → As(0) nicht beobachtet. As(V) ist in diesem Bereich vermutlich nicht elektrochemisch aktiv und hat keine Auswirkungen auf die Wasserstoffentwicklung. Mit höherem pH-Wert des Elektrolyten verschiebt sich die Wasserstoffentwicklung auf Pt in Richtung negativerer Potentiale und findet gleichzeitig mit der Arsinproduktion statt. Mit Hilfe der SWASV wurde das Verhalten von Arsenspezies durch die Zugabe von Cu(II) durch SWASV und CSV in wässrigen Lösungen untersucht. Die Untersuchungen decken einen Potentialbereich zwischen -1,5 und +1,5 V ab, wobei dem As(III)/As(V)-Redoxprozess besondere Aufmerksamkeit gewidmet wurde. Es konnte gezeigt werden, dass durch den Zusatz von Cu(II) die Signalintensität von Arsenspezies in Lösung erhöht werden konnte. Bei der SWASV konnten gut getrennte Peaks für As(III) (E = +0,06 V) und Cu(II) (E = -0,13 V) nachgewiesen werden und ermöglichten so eine genaue und reproduzierbare Kodierung. Hierdurch zeigt sich die Möglichkeit noch geringere Nachweisgrenzen (≤ 20 µg/l As(III)) für die Bestimmung von As zu erreichen. Bei der CSV konnte dagegen nur ein Peak nachgewiesen werden. Durch die Verwendung eines Reduktionsmittels konnte signifikant das Vorliegen der Arsenspezies hin zu As(III) beeinflusst werden. Diese Ergebnisse zeigen, dass die ASV oder die CSV für einen sicheren, schnellen Vor-Ort-Nachweis von As(III) und Cu(II) in realen Wasserproben geeignet sind.

Literatur

[1] HÖSEL, G.; HOTH, K.; JUNG, D.; LEONHARDT, G.; MANN, M.; MEYER, H.; TÄGL, U. (1994): Das Zinnerz-Lagerstättengebiet Ehrenfriedersdorf/Erzgebirge, Bergbaumonographie, Bergbau in Sachsen Band 1; Hrsg: LFUG und Oberbergamt, Freiberg.

[2] PETRUSEVSKI, B., SHARMA, S., SCHIPPERS, J. C., & SHORDT, K. (2007). Arsenic in drinking water. Delft: IRC International Water and Sanitation Centre, 17(1), 36-44.

[3] NAIDU, R., SMITH, E., OWENS, G., & BHATTACHARYA, P. (2006). Managing arsenic in the environment: from soil to human health. CSIRO publishing.

[4] RAVENSCROFT, P., BRAMMER, H., & RICHARDS, K. (2009). Arsenic Pollution: A Global Synthesis, RGS-

IBG Book Series, A John Wiley and Sons Ltd. Publication, London.

[5] NRIAGU, J. O., BHATTACHARYA, P., MUKHERJEE, A. B., BUNDSCHUH, J., ZEVENHOVEN, R., & LOEPPERT, R. H. (2007). Arsenic in soil and groundwater: an overview. Trace Metals and other Contaminants in the Environment, 9, 3-60.

[6] BEDNAR, A. J., GARBARINO, J. R., RANVILLE, J. F., & WILDEMAN, T. R. (2005). Effects of iron on arsenic speciation and redox chemistry in acid mine water. Journal of Geochemical Exploration, 85(2), 55-62.

[7] SAMADZADEH YAZDI, M. R., & KHODADADI DARBAN, A. (2010). Effect of arsenic speciation on remediation of arsenic-contaminated soils and waters.

[8] SCHWARZ, J., TROMMER, K., & MERTIG, M. (2016). Novel Screen-Printed All-Solid-State Copper (II)-Selective Electrode for Mobile Environmental Analysis. American Journal of Analytical Chemistry, 7(07), 525.

[9] SCHWARZ, J., TROMMER, K., & MERTIG, M. (2018). Solid-contact ion-selective electrodes based on graphite paste for potentiometric nitrate and ammonium determinations. American Journal of Analytical Chemistry, 9(12), 591.

[10] SCHOLZ, S.: Qualifizierung eines Voltammetrie-Messsystems, Freie Universität Berlin, Dissertation, 2013.

[11] BRUSCIOTTI, F., & DUBY, P. (2007). Cyclic voltammetry study of arsenic in acidic solutions. Electrochimica acta, 52(24), 6644-6649.

[12] CABELKA, T. D., AUSTIN, D. S., & JOHNSON, D. C. (1984). Electrocatalytic Oxidation of As (III): I. Voltammetric Studies at Pt Electrodes in. Journal of the Electrochemical Society, 131(7), 1595.

[13] WEI, Z., & SOMASUNDARAN, P. (2004). Cyclic voltammetric study of arsenic reduction and oxidation in hydrochloric acid using a Pt RDE. Journal of applied electrochemistry, 34(2), 241-244.

[14] REEVES, R. M. (1978). , AJ Bard (Ed.) Encyclopedia of Electrochemistry of the Elements, Vol. VII, Dekker, New York, NY (1976).

Danksagung

Das dieser Arbeit zugrunde liegende Vorhaben wird mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung im Programm „WIR! – Wandel durch Innovation in der Region“ unter dem Förderkennzeichen 03WIR1906E gefördert und im Rahmen des Projektes „rECOmine – Ressourcenorientierte Umwelttechnologien für das 21. Jahrhundert“ umgesetzt. Das Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V. wird mitfinanziert durch Steuermittel auf der Grundlage des vom Sächsischen Landtag beschlossenen Haushaltes.

DOI 10.5162/15dss2021/P4.11

Voltammetrische Bestimmung von Schwermetallionen in Umweltproben mit elektrochemischen All-Solid-State-Sensoren

Jingying Yao[1], Johannes Schwarz[1], Kathrin Trommer[1], Michael Mertig[1,2]
1 Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., 04736 Waldheim, Deutschland
[2] Physikalische Chemie, Technische Universität Dresden, 01062 Dresden, Deutschland
Kontakt: jingying.yao@ksi-meinsberg.de

Einleitung

Schadstoffe wie Blei und Cadmium kommen in den südlichen Gebirgsregionen von Sachsen geogen in wässrigen Umweltproben stark erhöht vor. Sowohl durch natürliche Auslaugungen als auch durch zusätzliche anthropogene Freisetzungen gelangen relevante Frachten davon in das Grundwasser und in die Oberflächengewässer dieser Region. Das führt teils zu Einstufungen von Wasserkörpern in den schlechten Zustand nach EU-WRRL und zur Verfrachtung wesentlicher Stofffrachten in den Unterlauf der Elbe. Entsprechend der Trinkwasserverordnung (TWVO) betragen die zulässigen Grenzwerte für Cd(II)-Ionen 3 µg/l und für Pb(II)-Ionen 10 µg/l.

Für die Erfassung dieser Prozesse und für das Ergreifen von notwendigen Maßnahmen sind systematische Messkampagnen erforderlich. Bisher basierten diese vorrangig auf Laboranalysen. Etablierte Laboranalysenmethoden für die Bestimmung von Metallionen, wie Atomabsorptionsspektrometrie (AAS), induktiv-gekoppeltes Plasma mit optischer Emissionsspektrometrie (engl.: *inductively coupled plasma with optical emission spectrometry*, ICP-OES) sowie Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (engl.: *inductively coupled plasma mass spectrometry*, ICP-MS) erfordern jedoch hoch qualifiziertes Personal, eine aufwendige Laborinfrastruktur sowie den Einsatz spezifischer Chemikalien. Sie besitzen außerdem den Nachteil, dass die Analysenergebnisse typischerweise erst mit einem erheblichen Zeitverzug vorliegen, was beispielsweise eine gezielte Reaktion auf eventuelle Sonderfälle unmöglich macht.

Die Entwicklung einer kostengünstigen Vor-Ort-Analytik mit feldtauglichen Analysatoren zur In-situ-Überwachung des Schadstoffaufkommens in Grund- und Oberflächenwässern ist deshalb von großer Wichtigkeit. Durch Vor-Ort-Messungen kann der Aufwand verringert und gleichzeitig die Flexibilität erhöht werden. Dadurch kann ein unmittelbarer Nutzen sowohl bei der behördlichen Arbeit als auch beim Betreiben des aktiven oder des Sanierungsbergbaus gewährleistet werden.

Die anodische Stripping-Voltammetrie ermöglicht aufgrund ihrer hohen Empfindlichkeit generell den elektrochemischen Nachweis von Blei- und Cadmiumionen im Spurenbereich [1,2]. Sie kann auch leicht mit kostengünstigen und einfach zu verwendenden Instrumenten gekoppelt werden. Bei der Anreicherung des Analyten an der Arbeitselektrode werden die gelösten Metallionen reduziert. Danach wird das gesamte abgeschiedene Metall wieder in Lösung gebracht, in dem es oxidiert wird, wobei die Arbeitselektrode als Anode fungiert (Abb. 1). Der gemessene Anodenspitzenstrom ist proportional zur Metallkonzentration.

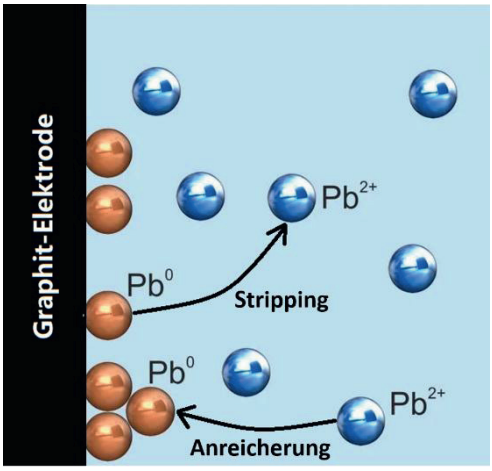


Abb. 1: Schematische Darstellung der anodischen Stripping-Voltammetrie an einer Graphitelektrode.

Seit der Erfindung der Polarographie von Heyrovsky hat sich Quecksilber aufgrund der hohen Wasserstoffüberspannung, die seine Verwendung bei negativen Potentialen ermöglicht, als bevorzugte Elektrode für die elektrochemische Stripping-Analyse etabliert. Aufgrund der Toxizität der Quecksilberelektrode wurden die Bismut-Modifikationen als potenzielle Alternative zum Nachweis von Schwermetallionen entwickelt.

Es gibt drei Methoden zur Modifizierung mit Bismut: (1) die Modifikation der Elektrode mit metallischem Bismutpulver oder Bismut-Precursor (Bismut-Fluorid, Bi_2O_3 und $(BiO)_2CO_3$) [3-5]; (2) Ex-situ-Plattierungsverfahren: Bismut wird dabei vor der Analyse auf die Elektrodenoberfläche elektroplattiert [6]; (3) In-situ-Plattierungsverfahren: Bismut wird während der Analyse aus der Analytlösung auf der Elektrodenoberfläche abgeschieden [7-10]. In der Literatur wurde u.a. berichtet, dass eine „geschmolzene Legierung“ von Schwermetallionen durch Zugabe einer bestimmten Konzentration von Bismut-Ionen zur Lösung an der Elektrodenoberfläche gebildet wird und dadurch die

Empfindlichkeit des Sensors verbessern kann [11-13].

In dieser Arbeit wurden die Detektionen von Pb(II) und Cd(II) mit Hilfe der Methode 3 (In-Situ-Plattierungsverfahren) untersucht.

Materialien und Methoden

Chemikalien

Die Chemikalien Bismut-AAS-Standardlösung ROTI®Star (c (Bi) als Bi in 3 % HNO_3), Blei-AAS-Standardlösung ROTI®Star (c (Pb) als Pb in 2 % HNO_3) und Cadmium AAS-Standardlösung ROTI®Star (c (Cd) als Cd in 2 % HNO_3) wurden von Carl Roth bezogen, ebenso Natriumhydroxid und Essigsäure als Bestandteile des verwendeten Acetat-Puffers (pH 4,6). Alle Lösungen wurden mit entionisiertem Wasser hergestellt.

Geräte

Die voltammetrischen Messungen wurden mit einem PalmSens4-Potentiostat / Galvanostat / Impedance Analyzer (PalmSens) durchgeführt. Es wurden selbst hergestellte Ag/AgCl-Elektroden als Referenz-Elektrode, Pt-Draht-Elektroden als Gegenelektrode und Graphit-Paste-Elektroden als Arbeitselektrode verwendet.

Methoden

Wie in der Einleitung beschrieben, wurde die anodische Stripping-Voltammetrie wegen ihrer hohen Sensitivität für die Detektion von Blei- und Cadmium-Ionen eingesetzt. Die Messungen wurden bei Raumtemperatur (20 °C – 22 °C) durchgeführt. *Differential-Pulse-Voltammetrie* wurde als Messmethode ausgewählt (Messbereich von -1,3 V bis +0,2 V, Potential-Schritt 0,005 V und Scanrate 0,025 V/s). Die Anreicherungszeit betrug 300 s. Als Anreicherungspotential wurde -1,3 V eingestellt.

Ergebnisse und Diskussion

Blei-Ionen Bestimmung ohne Bi-Lösung

Für die Messungen wurde 20 ml Acetat-Puffer (pH 4,6) als Elektrolyt verwendet. Während der Anreicherung wurde die Lösung kräftig gerührt und der Rührer nach der Anreicherung gestoppt. Die Proben wurden erst ohne Zugabe der Blei-Standard-Lösung gemessen. Danach wurde die Messung bei Zugabe der Blei-Lösung wiederholt.

Die Detektion von Pb(II) wurde zuerst ohne Bismut durchgeführt. In Abb. 2 oben sind die Messkurven der stripping-voltammetrischen Bestimmungen von Pb(II) an der Graphit-Paste-Elektrode dargestellt. Der Pb(II)-Peak befindet sich bei -0,55 V. Die Abhängigkeit des Peak-Stroms von der Konzentration (Abb. 2 unten) zeigt, dass Pb(II) erst bei Konzentrationen höher als 200 µg/l sicher detektiert werden kann.

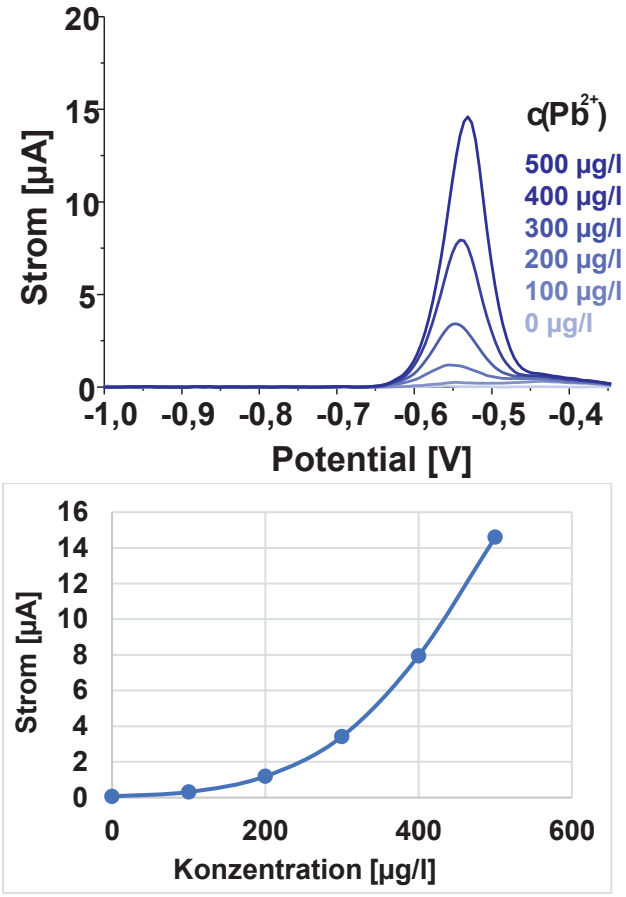


Abb. 2: Stripping-voltammetrische Einzelbestimmungen von Pb(II) (oben) und Kalibrierkurve (unten) ohne Zugabe von Bismut.

Blei-Ionen Bestimmung mit Bi-Lösung

Unter gleichzeitiger Zugabe von Bismut-Standard-Lösung als Modifikator wurden die Messungen an Pb(II) unter den gleichen Bedingungen wie oben beschrieben durchgeführt. Die Konzentration der Bi-Lösung betrug 1 mg/l.

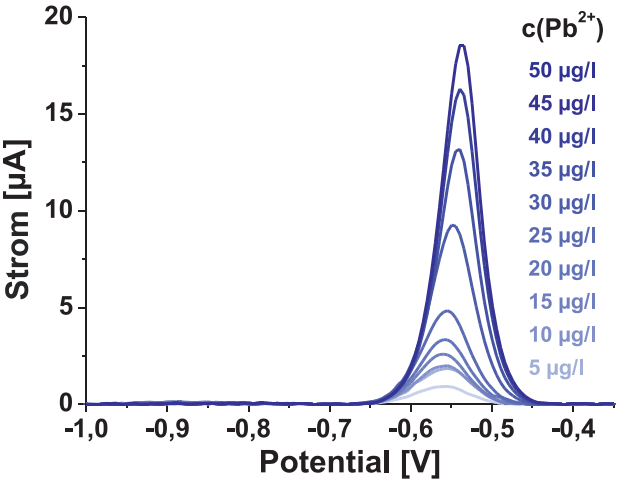


Abb. 3: Stripping-voltammetrische Einzelbestimmungen von Pb(II) unter Zugabe von Bismut Standard-Lösung (1 mg/l).

In Abb. 3 wird der Pb(II)-Peak ebenfalls bei -0,55 V beobachtet, allerdings ist die Nachweisgrenze zu niedrigeren Konzentrationen hin verschoben. Jetzt ist eine Pb(II)-Konzentration von 5 µg/l gut detektierbar. Dieser Wert ist niedriger als der Grenzwert für Pb(II) in Trinkwasser.

Cadmium-Ionen Bestimmung ohne Bi-Lösung

Für die Messungen wurde 20 ml Acetat-Puffer (pH 4,6) als Elektrolyt verwendet. Während der Anreicherung wurde die Lösung kräftig gerührt und der Rührer nach der Anreicherung gestoppt. Die Proben wurden erst ohne Zugabe und dann nach Zugabe der Cadmium-Standard-Lösung gemessen.

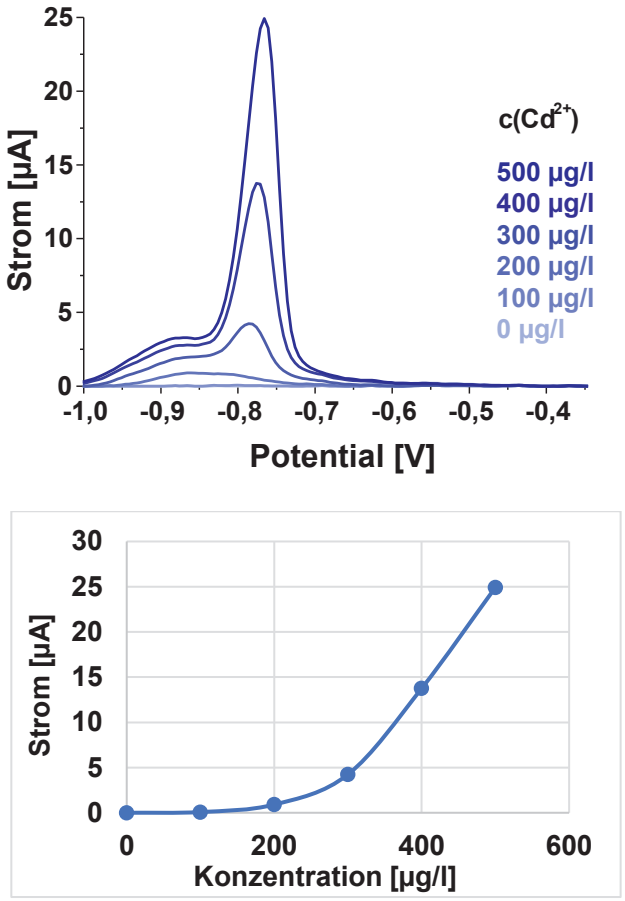


Abb. 4: Stripping-voltammetrische Einzelbestimmungen von Cd(II) (oben) und Kalibrierkurve (unten) ohne Zugabe von Bismut-Ionen.

Die Detektionen von Cadmium-Ionen wurden erst ohne Bismut durchgeführt. Die Messkurven der voltammetrischen Bestimmung von Cd(II) an der Graphit-Paste-Elektrode sind in Abb. 4 oben dargestellt. Im Vergleich zu den Messkurven von Pb(II) tritt der Cd(II)-Peak bei -0,78 V auf. Das bedeutet auch, dass sich die Signale von Pb(II) und Cd(II) gut trennen lassen. Die beobachtete untere Nachweisgrenze von Cd(II) ohne Zugabe von Bi-Lösung ist mit ca. 250 µg/l ebenfalls hoch. Außerdem sind Schulter-Peaks zu sehen, die die Auswertung der Messdaten beeinflussen.

Cadmium-Ionen Bestimmung mit Bi-Lösung

Die Bestimmung von Cd(II) wurde dann unter den gleichen Bedingungen wie oben beschrieben mit Zugabe von Bi-Lösung (1 mg/l) durchgeführt. Abb. 5 zeigt die Ergebnisse der Messungen.

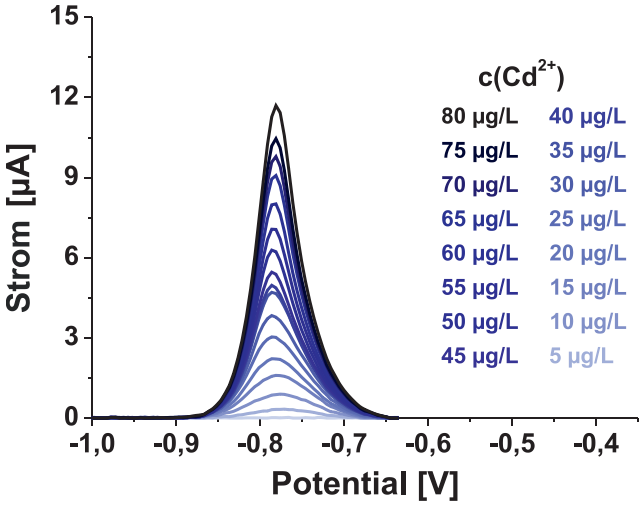


Abb. 5: Stripping-voltammetrische Einzel-Bestimmungen von Cd(II) unter Zugabe von Bismut-Standard-Lösung (1 mg/l).

Das spezifische Peak-Potential für Cd(II) beträgt ebenfalls -0,78 V wie bei den Messungen ohne Bi-Lösung, es wird keine Verschiebung beobachtet. Wie bei den Messungen für Pb(II) wird durch die Bi-Zugabe die Nachweisgrenze deutlich zu niedrigeren Konzentrationen hin verschoben. Ab einer Konzentration von 5 µg/l ist Cd(II) nachweisbar. Es treten auch keine Schulter-Peaks mehr auf.

Einfluss der Bi-Konzentration für die Messungen

Die Ergebnisse von Abb. 3 und Abb. 5 zeigen, dass die Zugabe von Bi-Lösung einen positiven Einfluss auf die Detektion von Pb(II) und Cd(II) hat. Im weiteren wurden deshalb Experimente bei Zugabe von Bi(III) unterschiedlicher Konzentration durchgeführt, um die optimale Bi-Konzentration für die Detektion herauszufinden. Die Untersuchungen wurden am Beispiel von Pb(II) durchgeführt.

Für die Bestimmungen wurde die Konzentration von Bi-Lösung auf jeweils 500 µg/l, 750 µg/l, 1000 µg/l und 1250 µg/l eingestellt. Der Konzentrationsbereich von Pb(II) für die Messungen betrug 0-100 µg/l. Die Messungen wurden jeweils mit der gleichen Elektrode durchgeführt.

In Abb. 6 sind alle Messkurven dargestellt. Die Sensitivität der Elektrode steigt erst mit der Erhöhung der Bi-Konzentration, dann sinkt sie wieder. Bei der Bi-Konzentration von 1000 µg/l ist die Empfindlichkeit der Elektrode für Pb(II) am höchsten.

DOI 10.5162/15dss2021/P4.11

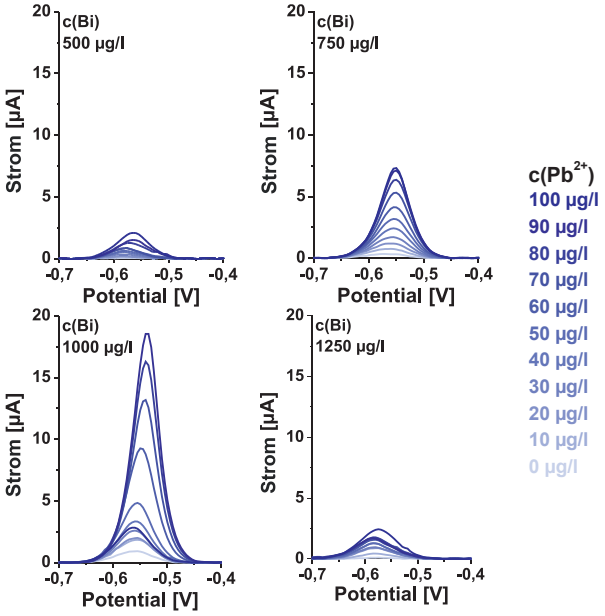


Abb. 6: Stripping-voltammetrische Bestimmungen von Pb(II) bei unterschiedlichen Bi-Konzentrationen.

Simultane Bestimmungen für Blei- und Cadmium-Ionen ohne Bi-Lösung

Für die Messungen wurde 20 ml Acetat-Puffer (pH 4,6) als Elektrolyt verwendet. Während der Anreicherung wurde die Lösung kräftig gerührt und der Rührer nach der Anreicherung gestoppt. Pb(II)-Lösung und Cd(II)-Lösung wurden nacheinander tropfenweise zugegeben.

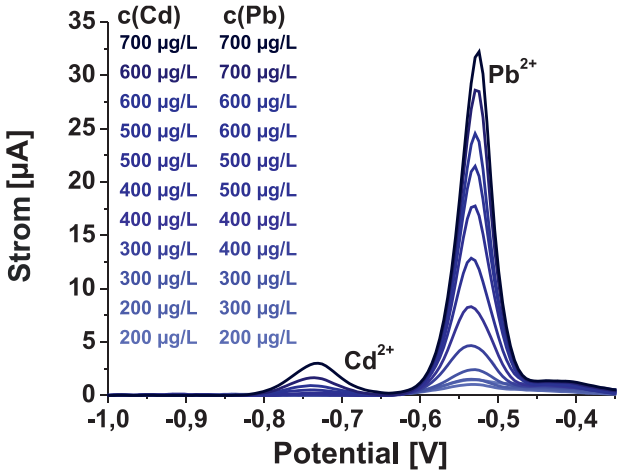


Abb. 7: Simultane Bestimmungen von Pb(II) und Cd(II) ohne Zugabe von Bismut-Ionen.

Die simultane Detektion von Blei- und Cadmium-Ionen wurde zuerst ohne Bismut durchgeführt. Abb. 7 zeigt die Messkurven der stripping-voltammetrischen Bestimmung von Pb(II) und Cd(II) an der Graphit-Paste-Elektrode. Die Peaks von Pb(II) und Cd(II) sind gut getrennt. Aber im Vergleich zu den Einzelbestimmungen sind für beide Ionen leichte Verschiebungen des Peakpotentials zu sehen. Anstatt bei -0,55 V befindet sich der Peak für Pb(II) bei ungefähr -0,52 V, während der Peak von Cd(II) bei -0,73 V anstatt bei -0,78 V auftritt. Da beide Verschiebungen in die gleiche Richtung gehen, könnte das an der Referenzelektrode liegen. Bei gleicher Konzentration ist das Signal für Pb(II) deutlich höher als das für Cd(II). Die Nachweisgrenze für Pb(II) bleibt gleich der der Einzel-Bestimmung, wobei insgesamt das Signal von Pb(II) durch die simultane Zugabe von Cd(II) anwächst. Das heißt, dass die Existenz von Cd(II) in der Analytlösung als Katalysator für die Bestimmung von Pb(II) wirkt.

Simultane Bestimmungen für Blei- und Cadmium-Ionen mit Bi-Lösung

Die simultanen Messungen von Pb(II) und Cd(II) mit Bi-Lösung wurden so durchgeführt, dass eine bestimmte Konzentration von Pb(II) und Cd(II) zuerst in den Acetat-Puffer gegeben wurde. Danach wurde Bi-Lösung Schritt für Schritt zugegeben, damit der Einfluss der Bi-Konzentration auf die Signalhöhe zu sehen ist. Wie in Abb. 7 gezeigt, weisen die Pb(II) im Vergleich zu Cd(II) mit der gleichen Konzentration wesentlich höhere Peaks auf. Deswegen wurde die Konzentration für die jetzt beschriebenen Messungen auf 1 µg/l Pb(II) und 5 µg/l Cd(II) festgelegt. Die Bi-Konzentration wurde von 0 - 1500 µg/l variiert.

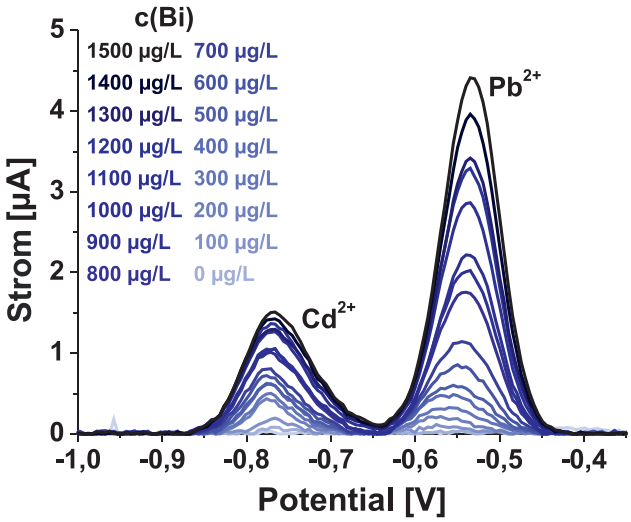


Abb. 8: Simultane Bestimmungen von Pb(II) und Cd(II) bei Zugabe von Bi-Lösung.

In Abb. 8 sind die Ergebnisse der simultanen Bestimmungen für Pb(II) und Cd(II) bei Zugabe von Bi-Lösung dargestellt. Die Peaks von den beiden Ionen sind gut getrennt. Anders als die Ergebnisse im Abb. 6 zeigen, steigt hier die Sensitivitäten für beide Ionen mit steigender Bi-Konzentration auch für Bi-Konzentration >1000 µg/l stetig an. Dabei ist das Wachstum der Signalstärke für Cd(II) geringer als das für Pb(II).

Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde die Bestimmung für Pb(II) und Cd(II) mit Graphit-Paste-Elektroden untersucht. Wegen ihrer hohen Sensitivität wurde die anodische Stripping-Voltammetrie als Untersuchungsmethode gewählt. Die Ergebnisse zeigen, dass die gesetzlich geforderten Nachweisgrenzen nur mit einem reinen Anreicherungsschritt nicht erreichbar sind. Die Nachweisgrenze für die Pb(II) beträgt in diesem Fall ca. 200 µg/l (Abb. 2) und für die Cd(II) ca. 250 µg/l (Abb. 4).

Um höhere Sensitivitäten zu erreichen wurde Bi-Lösung als Modifikator bei den Messungen eingesetzt. Sowohl für die Einzelmessungen als auch für die simultanen Messungen beider Ionen hat die Zugabe der Bi-Lösung einen positiven Einfluss. Für die Einzeldetektion von Pb(II) ist die Nachweisgrenze mit der Zugabe von 1000 µg/l Bi-Lösung von 200 µg/l auf 5 µg/l gesunken. Mit dieser Bi-Konzentration wurde als untere Detektionsgrenze für die Bestimmung von Cd(II) ebenfalls 5 µg/l erreicht.

Der Einfluss der Konzentration von Bi-Lösung wurde ebenfalls untersucht. Generell steigen die Sensitivitäten der Elektrode für beide Ionen mit steigender Bi-Konzentration, aber das Wachstum des Signals für Cd(II) ist geringer als das für Pb(II).

Literatur

[1] PANDEY, S.K, SINGH, P., SINGH, J., SACHAN, S., SRIVASTAVA, S., SINGH, S.K., *Nanocarbon based electrochemical detection of heavy metals*, Electroanalysis 28 (2016) 2472–2488

[2] ABD, E.D., YOUSSEF, A.K., *Hyphenation of ionic liquid albumin glassy carbon biosensor or protein label-free sensor with differential pulse stripping voltammetry for interaction studies of human serum albumin with fenoprofen enantiomers*, Anal. Chim. Acta 772 (2013) 68–74.

[3] ZHANG, Z., YU, K., BAI, D., Zhu, Z., *Synthesis and Electrochemical Sensing Toward Heavy Metals of Bunch-like Bismuth Nanostructures,* Nanoscale Res. Lett. 5 (2010) 398-402.

[4] PAULIUKAITE, R., METELKA, R., SVANCARA, I., KROLICKA, A., BOBROWSKI, A., VYTRAS, K., NORKUS, E., KALCHER, K., *Carbon paste electrodes modified with Bi_2O_3 as sensors for the determination of Cd and Pb*, Anal. Bioanal. Chem. 374 (2002) 1155-1158.

[5] KROLICKA, A., PAULIUKAITE, R., SVANCARA, I., METELKA, R., BOBROWSKI, A., NORKUS, E., KALCHER, K., VYTRAS, K., *Bismuth-film-plated carbon paste electrodes*, Electrochem. Commun., 4 (2002) 193-196.

[6] KROLICKA, A., BOBROWSKI, A., *Bismuth film electrode for adsorptive stripping voltammetry – electrochemical and microscopic study*, Electrochem. Commun., 6 (2004) 99-104.

[7] HOCEVAR, S. B., OGOREVC B., WANG, J., PIHLAR, B., *A Study on Operational Parameters for Advanced Use of Bismuth Film Electrode in Anodic Stripping Voltammetry*, Electroanalysis 14 (2002) 1707-1712.

[8] PING J., WANG, Y., WU, J., YING, Y., *Development of an electrochemically reduced graphene oxide modified disposable bismuth film electrode and its application for stripping analysis of heavy metals in milk*, Food Chem. 151 (2014) 65–71.

[9] GUO, Z., YUAN, Y., HUI, W., GANG, L., WANG, Z., *Sensitive stripping voltammetric determination of Cd(II) and Pb(II) by a Bi/multi-walled carbon nanotube-emeraldine base polyaniline-Nafion composite modified glassy carbon electrode,* Electrochim. Acta 220 (2016) 267–275.

[10] LIAN, Z., XU, L., HUANG, B., JIA, N., LIANG, T., YAO, S., *Simultaneous determination of Cd(II) and Pb(II) using square wave anodic stripping voltammetry at a gold nanoparticle-graphene-cysteine composite modified bismuth film electrode*, Electrochim. Acta 115 (2014) 471–477.

[11] WANG, W. J., CAI, Y. L., LI, B. C., ZENG, J., HUANG, Z. Y., CHEN, X. M., *A voltammetric sensor for simultaneous determination of lead, cadmium and zinc on an activated carbon fiber rod*, Chin. Chem. Lett. 29 (2018) 111–114.

[12] ZHANG, Y., LI, C., SU, Y., MU, W., HAN, X., *Simultaneous detection of trace Cd(II) and Pb(II) by differential pulse anodic stripping voltammetry using a bismuth oxycarbide/nafion electrode*, Inorganic chemistry communications 111(2020)

[13] ARDUINI, F., CALVO, J. Q., AMINE, A., PALLESCHI, G., MOSCONE, D., *Bismuth-modified electrodes for lead detection*, Trends in Analytical Chemistry, 20 (2010) 1295-1304.

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wird vom Sächsischen Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie finanziell unterstützt (FKZ: 33-8128/157/1). Das Kurt-Schwabe-Institut wird mitfinanziert durch Steuermittel auf der Grundlage des vom Sächsischen Landtag beschlossenen Haushaltes.

DOI 10.5162/15dss2021/P4.12

Glyphosat geprägte Polymere als kostengünstige und robuste künstliche selektive Sorptionsmittel für die Modifizierung von low-cost Sensoren

Mashaalah Zarejousheghani [1,2], Parvaneh Rahimi [1], Helko Borsdorf [2], Stefan Zimmermann [3] and Yvonne Joseph [1]

[1]Instituts für Elektronik- und Sensormaterialien, Fakultät für Werkstoffwissenschaft und Werkstofftechnologie, Technische Universität Bergakademie Freiberg, Freiberg, Deutschland
[2]Department Monitoring and Exploration Technologies, Helmholtz Centre for Environmental Research-UFZ, Leipzig, Deutschland
[3]Department of Sensors and Measurement Technology, Institute of Electrical Engineering and Measurement Technology, Leibniz University Hannover, Hannover, Deutschland
mashaalah.zarejousheghani@esm.tu-freiberg.de

Einleitung

Weltweit wächst die Besorgnis über Gesundheitsrisiken, die von der Kontamination der natürlichen Wasserressourcen ausgehen. Die dauerhafte Exposition gegenüber bestimmten Chemikalien kann schwere und dauerhafte gesundheitliche Folgen haben, die sich durch eine frühzeitige Erkennung leicht vermeiden lassen. So steht Glyphosat, das weltweit am häufigsten verwendeten Herbizid, im Verdacht, krebserregend zu sein und wird zudem maßgeblich für das Insektensterben verantwortlich gemacht. Der Nachweis von Glyphosat ist aufgrund seiner hohen Polarität in wässrigen Lösungen und des Fehlens von Absorptions- oder Fluoreszenzeigenschaften sehr schwierig. Daher ist eine verbesserte Glyphosat-Analyse erforderlich [1]. Von den selektiven künstlichen Bio(mimetik)rezeptoren gehören molekular geprägte Polymere (MIPs) zu den vielversprechenden Kandidaten für die Modifizierung von Sensoren, insbesondere von Einwegsensoren, da sie kostengünstig und einfach herzustellen, leicht zu konstruieren und langzeitstabil sind. Sie eignen sich für eine Vielzahl von Zielanalyten [2].

MIPs können mit kovalenten, nicht-kovalenten oder semikovalenten Methoden synthetisiert werden [3]. Aufgrund der inhärenten Vorteile des nicht-kovalenten Ansatzes ist dies immer noch die an der häufigsten verwendeten Methode zur Entwicklung geprägter Polymere. Beim nichtkovalenten Ansatz sind die meisten intermolekularen Wechselwirkungen, die für die Anordnung der funktionellen Monomere um die Templatmoleküle verantwortlich sind, Wasserstoffbrücken, elektrostatische oder ionische Wechselwirkungen, Van-der-Waals-Kräfte (VDW), π-π-Wechselwirkungen und hydrophobe Effekte. Während die Wasserstoffbrücken-Wechselwirkung die am häufigsten genutzte nicht-kovalente intermolekulare Wechselwirkung ist, können Wechselwirkungen zwischen entgegengesetzt geladenen Ionen zu stärkeren intermolekularen Wechselwirkungen führen (kovalente Bindungen: ~500 kJ/mol; ionische Wechselwirkung: bis zu 60 kJ/mol; Wasserstoffbrückenbindung: bis zu 40 kJ/mol, Ladungs-Dipol-Wechselwirkungen: bis zu 8 kJ/mol; Dipol-Dipol-Wechselwirkung: ~1kJ/mol; VDW-Wechselwirkungen: 0,1-1 kJ/mol) [4]. Wir haben bereits die Anwendbarkeit der ionischen Wechselwirkung für die Synthese eines hochselektiven geprägten Polymers für negativ geladenes Acesulfam, einen bekannten anthropogenen Marker, unter Verwendung von (Vinylbenzyl)trimethylammoniumchlorid (VBTA) als effizientes Ionenpaar-Reagenz gezeigt [5-7]. Wir glauben, dass quaternäre Ammoniumkationen mit Vinylgruppen zu den effizientesten und praktischsten funktionellen Monomeren gehören, die die Synthese selektiver geprägter Polymere für negativ geladene Zielmoleküle wie Glyphosat ermöglichen könnten.

Zur Prägung glyphosatempfindlicher Polymere als wichtige Modellverbindung für elektrisch geladene und gut wasserlösliche chemische Verbindungen wurde ein kleiner Pool von quaternären Ammoniumkationen enthaltenden funktionellen Monomeren systematisch genutzt. Die gleichzeitigen Wechselwirkungen zwischen drei positiv geladenen Monomeren und Glyphosat wurden dabei zunächst mit Hilfe einer statistischen Experimentplanungsmethode bewertet. Anschließend wurden die verschiedenen geprägten Polymere an der Goldoberfläche einer Quarzkristall-Mikrowaage (QCM)mit optimierten und nicht optimierten Glyphosat-Monomer-Verhältnissen synthetisiert. Die funktionellen Monomere erwiesen sich als hocheffizient, wenn sie zusammen und im optimierten Verhältnis verwendet werden. Die modifizierte QCM wurde für die Bestimmung von Glyphosat in Wasserproben verwendet und mit Standardanalysenmethoden verglichen. QCM mit synthetisiertem MIP zeigte eine deutliche Verbesserung der Selektivität und Empfindlichkeit des Sensors gegenüber Glyphosat im Vergleich zu (Aminomethyl)phosphonsäure (AMPA), die als primäres Abbauprodukt von Glyphosat bekannt ist [8].

Methoden und Materialien

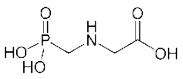
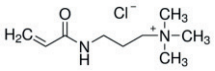
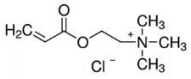
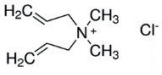
Die in dieser Studie verwendeten Chemikalien waren Ethylenglykoldimethacrylat (EGDMA) (CAS-Nr. 97-90-5), 2,2′-Azobis(2-methylpropionitril) (AIBN) (CAS-Nr. 78-67-1), (3-Acrylamidopropyl)trimethylammoniumchlorid-Lösung (75 Gew.-% in H2O) (CAS-Nr. 45021-77-0), [2-(Acryloyloxy)ethyl]trimethylammoniumchlorid-Lösung (80 Gew.-% in H2O) (CAS-Nr. 44992-01-0), Diallyldimethylammoniumchlorid (CAS-Nr. 7398-69-8), Glyphosat (CAS-Nr. 1071-83-6), (Aminomethyl)phosphonsäure (AMPA) (CAS-Nr. 1066-51-9), Dichlordimethylsilan (DCDMS) (CAS-Nr. 75-78-5), 9-Fluorenylmethoxycarbonylchlorid (Fmoc-Cl 97%) (CAS-Nr. 28920-43-6) und Borax wasserfrei (CAS-Nr. 1330-43-4)

wurden von Sigma-Aldrich bezogen. Chloroform (CAS-Nr. 67-66-3), Acetonitril (CAS-Nr. 75-05-8), Schwefelsäure 95 % (CAS-Nr. 7664-93-9) und Wasserstoffperoxidlösung 30 % (CAS-Nr. 7722-84-1) wurden von MERCK (Darmstadt, Deutschland) bereitgestellt. Allylmercaptan (>70,0 %) (CAS-Nr. 870-23-5) wurde von Tokyo Chemical Industry Co, Ltd. (TCI) beschafft.

Die folgenden Instrumente wurden für die Synthese und Bewertung der geprägten und nicht geprägten Polymere verwendet: eine VL-6LMUV-Lampe (6 W, 312 nm), ein Topometrix TMX-2010 Rasterkraftmikroskop (AFM), ein TENSOR II von Bruker (Leipzig, Deutschland), ein Tropfenkonturanalysator von KRÜSS GmbH (Hamburg, Deutschland), ein Niederdruckplasmasystem von Diener electronic GmbH (Ebhausen, Deutschland), eine Röntgenphotoelektronenspektroskopie, die auf einem Thermo Fisher Scientific ESCALAB 250Xi Spektrometer durchgeführt wurde, die goldbeschichteten 5 MHz QCM-Sensorkristalle von Micro-Vacuum (Budapest, Ungarn) und eine kommerzielle mikrofluidische Quarzbeschichtungszelle von QSense mit laminarer Strömung und einem Volumen von 140 µL (40 µL über dem Quarz) wurde für die Fließinjektionsanalyse (FIA) verwendet.

Central Composite Design (CCD) wurde zur statistischen verwendet, um die gesamten Parameter der Prozesse mit einer begrenzten Anzahl von Versuchen zu untersuchen. In dieser Untersuchung wurden die Freiheitsgrade durch 16 Durchläufe abgebildet, wobei jeder Durchlauf eine andere Kombination der Mengen an quaternären Ammoniumkationen bei konstanter Glyphosatkonzentration aufweist.

Tab. 1: Glyphosat und funktionelle Monomere

Glyphosate		
(3-Acrylamidopropyl)trimethylammonium chloride		A
[2-(Acryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride		B
Diallyldimethylammonium chloride		C

Glyphosat und funktionelle Monomere wurden gemischt und die optimalen Verhältnisse wurden mit Hilfe der CCD ermittelt. Um die optimierten und nicht optimierten Verhältnisse zu vergleichen, wurden beide verwendet, um molekular geprägte und nicht geprägte Polymere auf der Goldoberfläche von QCMs zu synthetisieren.

Ergebnisse

Abbildung 1 zeigt Kontaktwinkelmessungen der nicht modifizierten (Au) und modifizierten QCMs (AM: Allylmercaptan, MIP: Molecularly imprinted polymer, NIP: non imprinted polymer; A, B, C: verwendete Monomere).

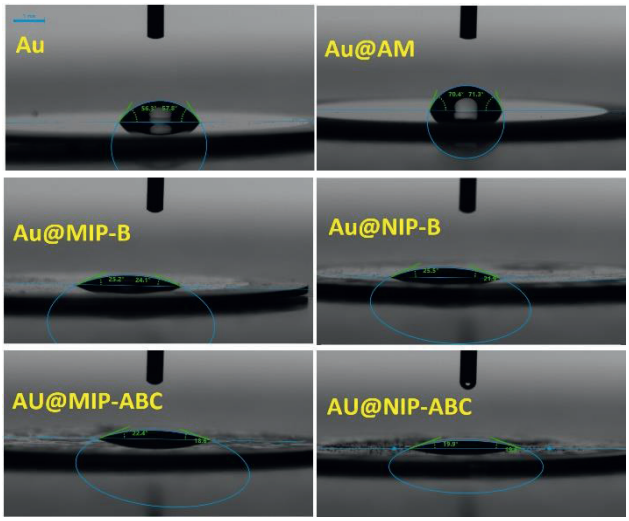


Abb. 1: Kontaktwinkel-Bilder für Au- und QCMs

Die Abbildung 2 zeigt die FTIR Spektren für die nicht modifizierte und die modifizierten QCM.

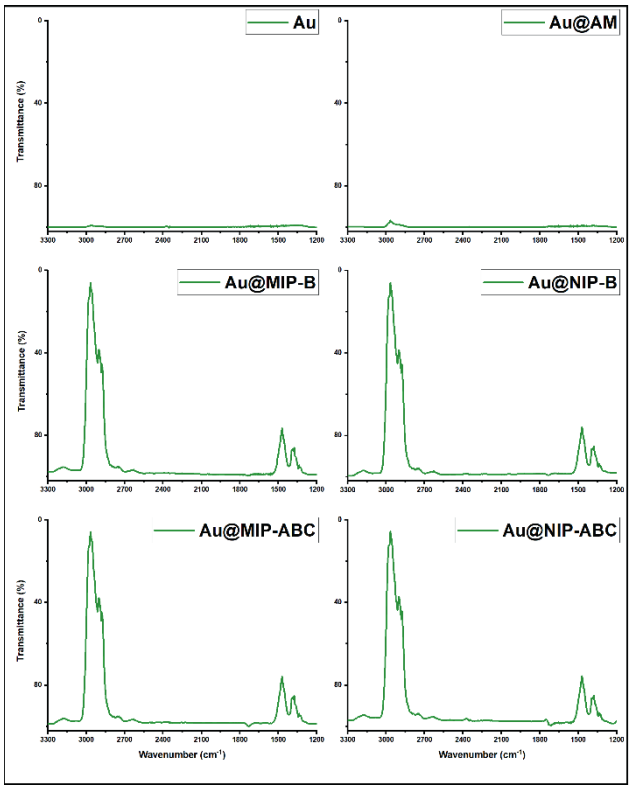


Abb. 2: FTIR Spektren für Au- und QCMs

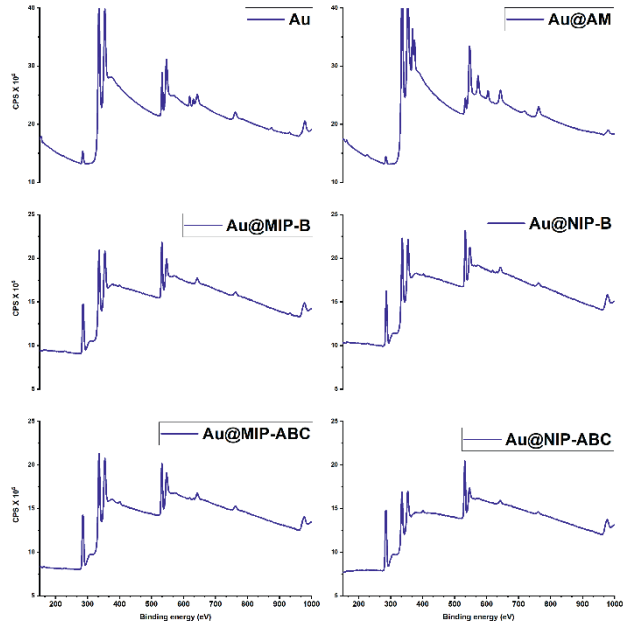


Abb. 3: XPS Spektren für Au- und QCMs

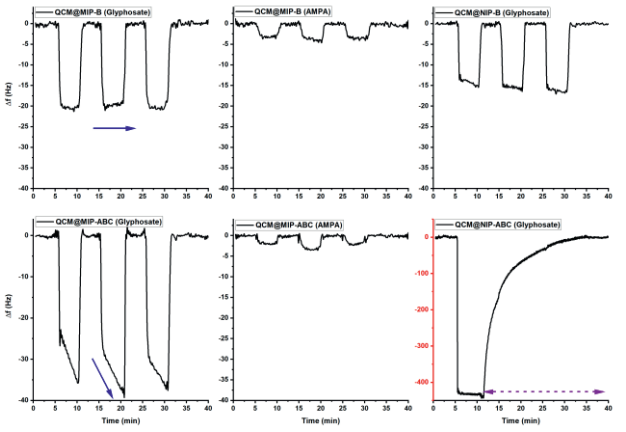


Abb. 4: Messungen von Glyphosat und AMPA bei 3 mM mit QCMs, die mit verschiedenen geprägten und nicht geprägten Polymeren modifiziert wurden

Die Abbildung 3 zeigt die XPS Spektren für die nicht modifizierte und die modifizierten QCM und Abbildung 4 zeigt die QCM Messungen für Glyphosat und AMPA.

Diskussion

Glyphosat ist eine polare Chemikalie, die in Wasser sehr gut löslich ist, insbesondere bei höheren pH-Werten. Unter alkalischen Bedingungen kann das Glyphosatmolekül leicht deprotoniert werden und ein Molekül bilden, das mit negativen Ionen elektrisch geladen ist. Sowohl Glyphosat als auch Kationen (A, B und C) wurden in alkalischem Wasser aufgelöst und ihre Wechselwirkungen systematisch mit der statistischen CCD-Methode bewertet. Die Ergebnisse zeigten, dass das Kation B die effizienteste Wechselwirkung mit Glyphosat aufweist. Das Kation A könnte ebenfalls mit Glyphosat interagieren, jedoch in geringerer Stärke. Bei höherer Konzentration könnte Kation A sogar negative Auswirkungen haben. Das optimale Kationenverhältnis für 1 mmol Glyphosat wurde mit B = 3 mmol, C = 3 mmol und A = 2 mmol ermittelt.

Nach Bewertung der Wechselwirkungen zwischen Glyphosat und Kationen wurden zwei verschiedene geprägte Polymere und ihre verwandten nicht geprägten Polymere synthetisiert, wobei i) das Verhältnis der Kationen Glyphosat:B:A:C (1:3:3:2 mmol) und ii) Glyphosat:B (1:3 mmol) optimiert wurden.

Abbildung 1 zeigt die Veränderungen der Kontaktwinkel von QCMs vor und nach der Modifikation. Die Oberfläche der QCM wurde mit FTIR- und XPS-Methode charakterisiert. Die Ergebnisse zeigten, dass FTIR nicht empfindlich genug war und die XPS-Ergebnisse belegten die Oberflächenmodifikationen mit verschiedenen geprägten und nicht geprägten Polymeren (Abbildungen 2-3).

Die Bindung von Glyphosat und seinem primären Abbauprodukt, AMPA, wurde an der Oberfläche von geprägten und nicht geprägten Polymeren untersucht (Abbildung 4). Die Ergebnisse zeigen, dass das geprägte Polymer, das nur mit dem Kation B (MIP-B) synthetisiert wurde, eine Selektivität gegenüber Glyphosat aufweist. Es kann die Zielsubstanz sehr schnell adsorbieren und die adsorbierte Zielsubstanz kann auch leicht abgewaschen werden. Die mit MIP-B und NIP-B modifizierten QCMs wurden zur Messung von Glyphosat in verschiedenen Konzentrationen verwendet.

Bei MIP-ABC ist während der Probeninjektion eine starke Diffusion zu beobachten, was zeigt, dass die Glyphosatmoleküle stark von der MIP-ABC-Polymermatrix angezogen werden. Andererseits konnte das nicht geprägte Polymer, das mit drei Kationen synthetisiert wurde (NIP-ABC), Glyphosatmoleküle deutlich besser adsorbieren, als das entsprechend geprägte Polymer. Interessanterweise benötigt das an NIP-ABC adsorbierte Glyphosat (während 5 Minuten) eine längere Zeit zur vollständigen Desorption (≈ 35 Minuten). Anhand dieser interessanten Daten haben wir ein einfaches Modell entwickelt, das die Wechselwirkungen beschreibt, die die Glyphosatadsorption durch verschiedene synthetische Polymere steuern (Abbildung 5). Wir glauben, dass auf der Grundlage dieses Modells empfindlichere und selektivere modifizierte Sensoren entwickelt werden könnten.

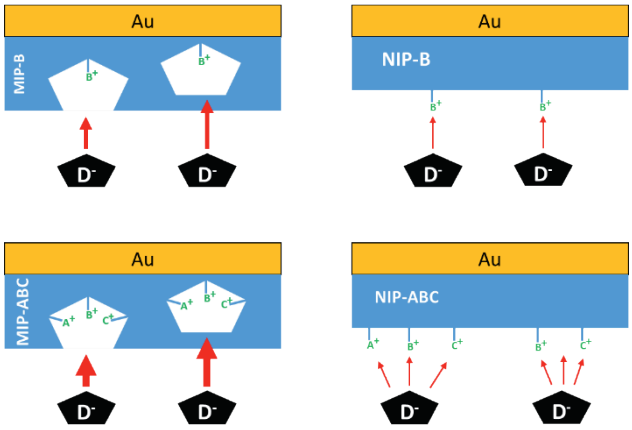


Abb. 5: Ein einfaches Modell, das die Wechselwirkungen beschreibt, die die Adsorption von Glyphosat durch verschiedene synthetische Polymere steuern.

Um einen empfindlichen Sensor für die schnelle Überwachung von Glyphosatmolekülen zu entwickeln, muss die Dichte der Erkennungsstellen auf der Oberfläche erhöht werden. Zu diesem Zweck könnten die mit der QCM mit NIP-ABC erzielten Ergebnisse als Inspiration für neue Ideen dienen. Glyphosatmoleküle konnten stark an der Oberfläche dieses Polymers adsorbieren. Dies deutet darauf hin, dass Glyphosatmoleküle als Chelatbildner stark mit zufällig verteilten und stabilisierten Kationen an der Oberfläche des NIP-ABC-Polymers interagieren können. Angeregt durch diese interessanten Ergebnisse wollen wir eine neue Synthesestrategie für die Herstellung hochselektiver geprägter Polymere für gut wasserlösliche Verbindungen entwickeln. Diese neue Strategie ist die 2-D-Polymerisation an der Oberfläche der Sensoren.

Literatur

[1] Huhn, C. More and enhanced glyphosate analysis is needed. Anal. Bioanal. Chem. 2018, 410, 3041–3045, doi:10.1007/s00216-018-1000-3.

[2] Zarejousheghani, M.; Rahimi, P.; Borsdorf, H.; Zimmermann, S.; Joseph, Y. Molecularly Imprinted Polymer-Based Sensors for Priority Pollutants. Sensors 2021, 21, 2406, doi:10.3390/s21072406

[3] Zarejousheghani, M.; Lorenz, W.; Vanninen, P.; Alizadeh, T.; Cämmerer, M.; Borsdorf, H. Molecularly Imprinted Polymer Materials as Selective Recognition Sorbents for Explosives: A Review. Polymers (Basel) 2019, 11, doi:10.3390/polym11050888.

[4] MOLECULARLY IMPRINTED MATERIALS. Science and technology; CRC PRESS: [S.l.], 2020, ISBN 0367578190

[5] Zarejousheghani, M.; Schrader, S.; Möder, M.; Mayer, T.; Borsdorf, H. Negative electrospray ionization ion mobility spectrometry combined with paper-based molecular imprinted polymer disks: A novel approach for rapid target screening of trace organic compounds in water samples. Talanta 2018, 190, 47–54, doi:10.1016/j.talanta.2018.07.076.

[6] Zarejousheghani, M.; Schrader, S.; Möder, M.; Schmidt, M.; Borsdorf, H. A new strategy for accelerated extraction of target compounds using molecularly imprinted polymer particles embedded in a paper-based disk. J. Mol. Recognit. 2018, 31, doi:10.1002/jmr.2629.

[7] Zarejousheghani, M.; Schrader, S.; Möder, M.; Lorenz, P.; Borsdorf, H. Ion-exchange molecularly imprinted polymer for the extraction of negatively charged acesulfame from wastewater samples. J. Chromatogr. A 2015, 1411, 23–33, doi:10.1016/j.chroma.2015.07.107.

[8] Zarejousheghani, M.; Jaafar, A.;Wollmerstaedt, H.; Rahimi, P.; Borsdorf, H.; Zimmermann, S.; Joseph, Y. Rational Design of Molecularly Imprinted Polymers Using Quaternary Ammonium Cations for Glyphosate Detection. Sensors 2021, 21, 296, doi: 10.3390/s21010296

DOI 10.5162/15dss2021/P4.13

Zeitaufgelöste Messungen mit einem LSPR-Sensorsystem am Beispiel des Spurenstoffs Diclofenac

Kevin Thomschke[1], Marisa Rio[2], Nadja Steinke[1], Michael Seidel[3], Fabian Dortu[4], Damien Bernier[4], Steffen Howitz[5], Thomas Härtling[1,6] und Christiane Schuster[1]

[1]Fraunhofer Institut für keramische Technologien und Systeme IKTS, Dresden, Deutschland
[2]Fraunhofer Center for Smart Agriculture and Water Management – AWAM, Vila Real, Portugal
[3]Institut für Wasserchemie und Chemische Balneologie, TU München, München, Deutschland
[4]MULTITEL asbl., Mons, Belgien
[5]Gesellschaft für Silizium-Mikrosysteme mbH, Radeberg, Deutschland
[6]Institut für Festkörperelektronik, TU Dresden, Dresden, Deutschland
Kontakt: kevin.thomschke@ikts.fraunhofer.de

Einleitung

Seit Jahren gelangen Rückstände umweltschädlicher Pharmazeutika über Abwässer in die Umwelt, da viele Substanzen nicht oder nur unzureichend in konventionellen Kläranlagen entfernt werden können [1]. Mangels geeigneter Messsysteme ist insbesondere die Vor-Ort-Überwachung der Schadstoffe, die im ng/L- bis µg/L-Bereich vorliegen, derzeit nicht möglich.

Gegenwärtige Methoden zum analytischen Spurenstoffnachweis, z.B. mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatografie, sind kostspielig und erfordern eine Laborumgebung [2]. Damit ist insbesondere keine instantane Überwachung von Schwellenwerten im Sinne einer Wächterfunktion möglich, um bei Überschreitung weitere Verfahrensstufen in der Kläranlage oder zusätzliche quantitative Analysen einzuleiten. Aus diesem Grund wird hier ein Biosensor vorgestellt, mit welchem die Wasserqualität anhand des Schmerzmittels Diclofenac (DCF) als Leitsubstanz für eine Schwellenwertbestimmung direkt beurteilt werden kann.

Für die Detektion von DCF in wässrigen Medien nutzt das vorgestellte Sensorsystem ein nanostrukturiertes Goldsubstrat, auf dessen Oberfläche lokalisierte Oberflächenplasmonen (*localized surface plasmon*, LSP) angeregt werden. Im Resonanzfall (*localized surface plasmon resonance*, LSPR) sind diese LSP sensitiv gegenüber Änderungen des Brechungsindexes in unmittelbarer Nähe der Oberfläche (<50nm), welche als spektrale Verschiebung des Transmissionsspektrums ausgelesen werden können.

Die Nanostruktur fungiert dabei als Transduceroberfläche, über welche mittels einer Oberflächenfunktionalisierung Molekülanbindungen anhand der dabei auftretende oberflächennahen Brechzahländerung zeitaufgelöst detektiert werden. An der Oberfläche der Nanostruktur werden DCF-Moleküle immobilisiert. Durch einen Anti-DCF Antikörper [3], welcher an die immobilisierten DCF-Moleküle bindet, wird die Brechzahländerung induziert.

Das Sensorsubstrat wird im Transmissionsaufbau optisch durch LEDs angeregt. Mittels einer spektralen Ausleseeinheit (Multitel asbl., Mons, Belgien) werden optische Spektren ausgelesen. Die Besonderheit dabei ist, dass diese kontinuierlich in Zeitabständen von ca. 1 s automatisiert aufgenommen werden. Ein integrierter Algorithmus wertet die optischen Spektren in Echtzeit bzgl. ihrer Resonanzlage aus. Die Messergebnisse werden in einem Sensorgramm als Lage der plasmonischen Resonanz über der Zeit dargestellt. Somit kann der zeitliche Verlauf der Molekülanbindung auf der Oberfläche aufgezeigt werden. Die Einbindung des Sensorsubstrats in ein mikrofluidisches System (MicCell, GeSiM mbH Radeberg, Deutschland) gewährleistet zudem die Automatisierung und Reproduzierbarkeit der Messung.

Die Verwendung des LSPR-Sensorsystems zur Detektion von konkreten DCF-Konzentrationen wurde bereits nachgewiesen [4], dabei ergab sich ein Arbeitsbereich von 4,7 – 12,4 µg/L [5]. Diese Art der Messung mittels indirektem Assay beruht auf einer Vorinkubation der Probe für einen gewissen Zeitraum, so dass die Messung nicht unmittelbar geschieht.

In diesem Beitrag soll die Anwendung des Sensorsystems zur Schwellwertüberwachung gezeigt werden. Dazu wird der zeitliche Verlauf des DCF-Gehaltes eines Analyten kontinuierlich überwacht. Zur Anwendung kommt hierfür ein Verdrängungsassay, in welchem die Oberfläche des nanostrukturierten Goldsubstrats mit einem Anti-DCF Antikörper abgesättigt wird, wodurch eine maximale Verschiebung der Lage der plasmonischen Resonanz erreicht wird. Im nächsten Schritt wird der Analyt über die Sensoroberfläche geführt. Es wird erwartet, dass sich abhängig von der DCF-Konzentration in der Probe Antikörper von der Oberfläche ablösen und an das DCF in der Flüssigkeit binden. Dies ist unmittelbar über eine Signaländerung im Sensorgramm nachweisbar. Über die Dynamik der Signaländerung soll so mit dem Sensorsystem detektiert werden, ob Maßnahmen im Wasseraufbereitungsprozess notwendig sind, z.B.

Medienseparation, Zuschalten weiterer Reinigungsstufen, Filteraustausch oder weitere Analytik.

Methoden und Materialien

Aufbau des LSPR-Sensorsystems

Die Herstellung der nanostrukturierten Goldsubstrate mittels Nanoimprint-Lithografie und anschließender Gold-Besputterung, sowie die Oberflächenfunktionalisierung erfolgt wie in [4] dargelegt.

Das Sensorsubstrat umfasst zwei mikrofluidische Kanäle mit je zwei nanostrukturierten Bereichen. Eine dieser nanostrukturierten Flächen wird DCF-oberflächenfunktionalisiert und dient als Messfläche. Um äußere Einwirkungen wie Temperatureffekte oder unspezifische Bindungen auszugleichen, wird das Signal der Messfläche mit dem Signal einer zweiten passivierten nanostrukturierten Fläche in der Signalauswertung referenziert.

Das Sensorsubstrat wird in eine Trägerplattform eingesetzt und über eine Anschlussplatte mit dem mikrofluidischen System verbunden. Die Anregung der LSPs erfolgt über LEDs mit einer zentralen Wellenlänge von 875 nm. Unterhalb der Trägerplattform wird das transmittierte Licht jedes nanostrukturierten Bereiches mit je einer optischen Faser aufgefangen und zur spektralen Analyse in die Ausleseeinheit (BIOPHOTON020, Multitel asbl.) geleitet. Daraus werden durch ein Transmissionsgitter vier parallele Dispersionsspektren erzeugt, welche mit Hilfe eines CMOS-Sensors in digitale Pixelreihen umgewandelt werden. Die so aufgenommenen Bilder werden von dem integriertem Linux-Betriebssystem verarbeitet und zunächst auf einen spektralen Bereich zwischen 750 – 950 nm begrenzt. Je Faser wird eine Pixelreihe mit 3088 Pixeln aufgenommen, aus welchen anschließend anhand der Intensität der Pixel die optischen Spektren extrahiert werden. Die Bestimmung der Resonanzlage erfolgt über die Anpassung einer Lorentz-Funktion mittels Levenberg-Marquardt-Algorithmus. Der Scheitelpunkt der angepassten Lorentz-Funktion entspricht der Resonanzwellenlänge zum Zeitpunkt des aufgenommenen Spektrums und wird als Datenpunkt im Sensorgramm angezeigt.

Ablauf einer Messung

Zu Beginn der Messsequenz wird zunächst die plasmonische Resonanz in phosphatgepufferter Salzlösung (PBS, pH 7,4) aufgenommen. Diese dient als Basislinie und ist der Ausgangswert für den weiteren Verlauf der Messung. Dafür werden 2 ml PBS mit einem konstanten Volumenstrom von 10 µl/s über das Substrat gespült. Zur Absättigung der Oberfläche wird ein monoklonaler Anti-DCF Antikörper mit einer Antikörperkonzentration von 4 µg/l in 1000 µl PBS über die Oberfläche geführt. Daraufhin werden 1000 µl Probenvolumen, die den Analyten DCF in Konzentrationen von 50, 100, 250 und 500 µg/L in PBS enthalten, mit einem Volumenstrom von 1,5 µl/s durch den mikrofluidischen Kanal geleitet. Abschließend wird nochmals PBS durch den Kanal gespült, um die Resonanzlage nach der DCF-haltigen Probe aufzuzeichnen, welche als verschobene Basislinie den Endwert der Messung darstellt.

Ergebnisse

Auswertung der Sensorgramme

Die zu Beginn jeder Messung aufgenommene Basislinie dient als Ausgangswert zur Bestimmung der Verschiebung der plasmonischen Resonanz. Im Folgenden steigt der Kurvenverlauf im Sensorgramm durch die Antikörperanbindung zunächst stark an bis alle Bindungsstellen nahezu abgesättigt sind (hier verkürzt, um die eingesetzte Antikörpermenge zu reduzieren). Die Experimente zeigen, dass unter den gegeben Assay-Bedingungen mit dem monoklonalen Antikörper eine maximale Resonanzverschiebung von ca. 2,1 nm erreicht wird.

Durch das anschließende Durchströmen des mikrofluidischen Kanals mit einer DCF-haltigen Probe kommt es zum Abfallen des Messsignals. Das immobilisierte DCF an der Oberfläche steht mit dem DCF in der freien Phase in Konkurrenz um die Bindungsstelle des Antikörpers. Dabei ist das DCF in der freien Phase der bevorzugte Bindungspartner, wodurch sich Antikörper von der Oberfläche ablöst, an das DCF in der Probe bindet und von der strömenden Probe abtransportiert wird. Die Ablösung, oder Verdrängung, ist proportional zur DCF-Konzentration in der Probe [6]. Dies wird durch Messergebnisse bestätigt. Die Signaländerung ist konzentrationsabhängig. Die Sensorgramme für die DCF-Konzentrationen 50, 100, 250, 500 µg/l sind in Abb. 1 zu sehen.

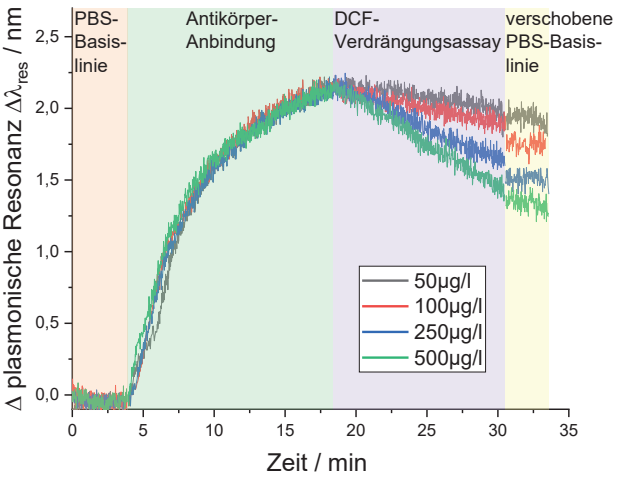


Abb. 1: referenziertes Sensorgramm für zeitaufgelöste Antikörper-Anbindung und -Verdrängung.

Der Signalabfall kann im DCF-Verdrängungsassay als Maß für die Dynamik der Signaländerung

herangezogen werden. Dieser wird hier linear angepasst. Weiterhin kann die Signaländerung als Differenz zwischen der Resonanzlage nach der Antikörperanbindung (maximale Resonanzverschiebung) und der Resonanzlage nach dem DCF-Verdrängungsassay (verschobene PBS-Basislinie) beschrieben werden. Die Ergebnisse werden in Tab. 1 zusammengefasst.

Tab. 1: DCF-Konzentrationen c_{DCF} und deren Signaländerungen (lineare Steigung p und Differenz der Resonanzlagen$(\lambda_{res,max} - \lambda_{res,DCF})$).

c_{DCF} $[^{\mu g}/_{l}]$	p $[^{nm}/_{min}]$	$(\lambda_{res,max} - \lambda_{res,DCF})$ $[nm]$
50	-0.015	0.168
100	-0.02	0.344
250	-0.047	0.589
500	-0.062	0.760

Die Dynamik der Signaländerung liegt bei einer DCF-Konzentration von 50 µg/l bei -0.015 nm/min, während das Signal sich um 0.168 nm verringert. Dies entspricht ca. 8 % der hier maximalen durch den Antikörper initiierten Resonanzverschiebung. Bei höheren Konzentrationen wird der Unterschied deutlicher. Bei einer DCF-Konzentration von 500 µg/l erhöht sich der Signalabfall auf -0.062 nm/min. Entsprechend erhöht sich der Signalunterschied auf 0.76 nm. Dies entspricht einem Signalabfall von ca. 36.2 %.

Diskussion

Die Experimente haben gezeigt, dass sich das LSPR-Sensorsystem zur Schwellwertüberwachung eignen kann. Die Signaländerung ist wie erwartet konzentrationsabhängig. Allerdings liegen die in diesem Beitrag nachgewiesene Konzentrationsstufen über dem für den Anwendung in einer Kläranlage sinnvollen Bereich. Abwässer von Kläranlagen weisen gewöhnlich einen DCF-Gehalt von 1 bis 10 µg/l auf [7].

Es wird vermutet, dass durch die hohe Bindungsaffinität des verwendeten Antikörpers die Bindung des an der Oberfläche immobilisierten Antigen-Antikörper-Komplexes zu stark ist, um genügend Antikörper abzulösen und so auch bei geringeren Konzentrationen eine entsprechende Signalverminderung zu bewirken. Die Bindungsaffinität wird durch die Dissoziationskonstante beschrieben. Diese liegt bei dem vorliegenden monoklonalen Antikörper bei $1.5*10^{-10}$ M [3]. Ein Antikörper mit geringerer Bindungsaffinität könnte das Verdrängungsassay auch für geringere Konzentrationen einsetzbar machen. Dies soll Gegenstand zukünftiger Experimente sein.

Die Weiterverfolgung dieser Art der Messung ist jedoch vielversprechend, denn sie birgt einen Vorteil gegenüber der direkten Messung der DCF-Konzentration mittels indirektem Assay. Die Probe muss keiner Vorbehandlung unterzogen werden und kann unmittelbar vermessen werden. Idealerweise wird die Probe bzw. das Abwasser kontinuierlich vermessen. So können bei auftretenden Konzentrationsspitzen unmittelbar Gegenmaßnahmen getroffen werden.

Der Anwendungsbereich ist dabei nicht auf DCF beschränkt, denn mit anderen Oberflächenfunktionalisierungen kann das Sensorsystem zukünftig ebenfalls zur Detektion von anderen Molekülen, auch in Form von Multiplexing, zum Einsatz kommen.

Literatur

[1] SATHISHKUMAR, P., MEENA, R. A. A., PALANISAMI, T., ASHOKKUMAR, V., PALVANNAN, T., & GU, F. L.: Occurrence, interactive effects and ecological risk of diclofenac in environmental compartments and biota - a review. In: Science of the Total Environment, 698 (2020), 134057

[2] HERNANDO, M. D., HEATH, E., PETROVIC, M., AND BARCELÓ, D.: Trace-level determination of pharmaceutical residues by LC-MS/MS in natural and treated waters. A pilot-survey study. In: Analytical and Bioanalytical Chemistry, 385(2006), Nr. 6, S. 985–991

[3] HÜBNER, M.: Development of Immunological Methods for the Detection of Micropollutants in Fresh Water Samples. Technische Universität München, Dissertation, 2015

[4] STEINKE, N.; DÖRING, S.; WUCHRER, R.; KROH, C.; GERLACH, G. & HÄRTLING, T.: Plasmonic sensor for on-site detection of diclofenac molecules. In: *Sensors and Actuators B: Chemical*, 288 (2019), S. 594–600

[5] THOMSCHKE, K.: Validation of a plasmonic immunosensor for the on-site detection of diclofenac. Hochschule für Wirtschaft und Technik Dresden, Masterarbeit, 2021

[6] GELINSKY-WERSING, D.: Kinetisches Modell für die Prozessanalyse von Displacement-Assays mit mono- und bivalenten Antikörpern. Technische Universität Dresden, Dissertation, 2018

[7] REEMTSMA, T., WEISS, S., MUELLER, J., PETROVIC, M., GONZÁLEZ, S., BARCELO, D., VENTURA, F., & KNEPPER, T. P.: Polar pollutants entry into the water cycle by municipal wastewater: A European perspective. In: *Environmental Science & Technology*, 40 (2006), Nr. 17, S. 5451–5458

DOI 10.5162/15dss2021/P4.14

Quantifizierung von *Legionella spp.* mittels isothermaler Amplifikation auf einem Chemilumineszenz-basierten Mikroarray

Gerhard Schwaiger[1], Michael Seidel[1]

[1]Lehrstuhl für Analytische Chemie und Wasserchemie, TU München, München, Deutschland
Kontakt: Gerhard.Schwaiger@tum.de

Einleitung

Die Anzahl an Legionellose-Erkrankten in Deutschland stieg in den letzten Jahren stetig. Im Jahr 2019 waren es mehr als 1500 erkrankte Menschen [1]. 2020 ist das erste Jahr, in dem die Fallzahlen rückläufig sind. Grund dafür sind laut RKI die Corona-bedingten Schutzmaßnahmen [1]. Legionellose ist eine schwere Lungenentzündung, die in 10 bis 15 % der Fälle tödlich enden kann. Ausgelöst wird diese durch Legionellen, meist *Legionella pneumophila*, ein 2-5 µm großes, grammnegatives und stäbchenförmiges Bakterium. Legionellen kommen in fast allen Süßwassersystem vor und können sich durch Biofilme als auch durch Einnistung in Amöben hervorragend vor Umwelteinflüssen schützen. Eine Infektion tritt meist über Aerosole auf, deshalb sind neben Duschen, Kühltürmen und Verdunstungskühlanlagen auch Luftfiltersysteme ein Risiko. Bioaktive Luftfilteranlagen, wie sie in der Schweinemast verwendet werden, sind bisher noch wenig untersucht und können aufgrund lebender Mikroorganismen nicht mit Bioziden behandelt werden. Sie dienen zur Reinigung der Luft, bei dem ein Gasstrom mit einer Flüssigkeit in Kontakt gebracht wird und Luftschadstoffe, wie Ammoniak von den Mikroorganismen abgebaut werden. Derzeit sind in Deutschland etwa 1200 Stück im Einsatz. Für eine Risikobewertung von solchen Anlagen wird eine schnelle und sichere Detektionsmethode benötigt, um Monitoring-Versuche über einen längeren Zeitraum durchzuführen. Kultivierung, wie sie nach der EN ISO 1731:2017 angewandt wird, benötigt 7-10 Tage und unterschätzt meist die Anzahl an vorhandenen Legionellen, da ein Teil in einem lebendigen, aber nicht-kultivierbaren Zustand vorliegt. Außerdem können aufgrund der hohen Biodiversität in den Realproben Agarplatten überwachsen werden. Deshalb wurde ein Chemilumineszenz (CL) basierter DNA-Mikroarray entwickelt, der mit einem einfachen und kostengünstigen Versuchsaufbau schnelle Ergebnisse liefert und zusätzlich Vor-Ort-Messungen ermöglicht.

Methoden und Materialien

Für diesen Mikroarray wurde die Rekombinase-Polymerase-Amplifikation (RPA) als Nukleinsäureamplifikationstest (NAT) verwendet [2,3]. Die RPA funktioniert ähnlich wie die eine PCR, jedoch wird zum Auftrennen der Doppelstränge kein Temperaturzyklus benötigt. Die RPA nutzt dabei eine Rekombinase und ist damit eine isothermale NAT, was einen einfacheren Versuchsaufbau ermöglicht. Kombiniert mit einem Mikroarray wird der Assay als heterogene, asymmetrische RPA (haRPA) bezeichnet. Das Prinzip der haRPA ist in Abbildung 1 dargestellt.

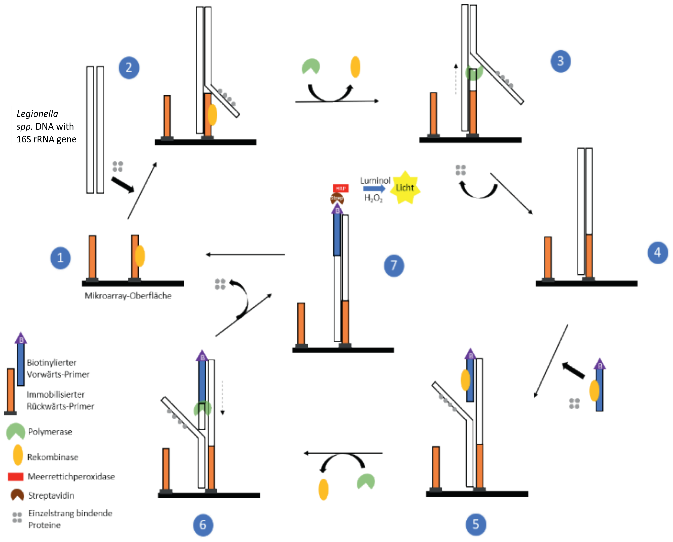


Abb. 1: Schematische Darstellung haRPA auf einer Mikroarray-Oberfläche, gekoppelt mit einer Chemilumineszenz-basierten Detektion. 1) Die Mikroarray-Oberfläche trägt immobilisierte Rückwärts-Primer. 2) Die Doppelstrang-DNA kann von der Rekombinase, gebunden am immobilisierten Primer, aufgetrennt werden. Einzelstrang bindende Proteine stabilisieren diesen Zustand. 3) Die Polymerase verdrängt die Rekombinase und fängt mit der Amplifikation an. 4) Die Amplifikation des ersten Strangs ist vollendet. 5) Ein biotinylierter Vorwärts-Primer, gebunden an einer Rekombinase bindet am oberen Ende des ersten Amplikons. 6) Der zweite Strang wird von der DNA Polymerase amplifiziert. 7) Das immobilisierte Amplikon kann nun durch den biotinylierten Vorwärts-Primer

einen Streptavidin-Meerrettichperoxidase-Komplex binden und durch eine enzymatische Reaktion der Peroxidase mit Luminol und H_2O_2 zu einem Chemilumineszenz-Signal führen.

Der Mikroarray-Chip besteht aus Polycarbonat, der mit einem modifizierten Polyetheramin (Jeffamine ED-2003) per Siebdruckverfahren beschichtet wird. An dieser Oberfläche werden *Legionella spp.* spezifische Rückwärts-Primer immobilisiert. Die Primer sind mit einem 5´-NH_2-C_{12}-tag modifiziert und werden durch einer EDC/NHS Kopplung per Mikrodosierungsverfahren ortsaufgelöst auf dem Mikroarray gebunden. Der Rückwärtsprimer hat zusammen mit seinem Vorwärtsprimer das 16S rRNA von *Legionella spp.* als Zielgen. Für die Messung werden die Reagenzien der RPA, als auch die extrahierte Probe zusammen pipettiert und für 10 Minuten bei 39 °C inkubiert. Anschließend wir die Reaktion in den Mikroarray injiziert und für weitere 30 Minuten bei 39 °C inkubiert. Der Reaktionsansatz enthält neben dem Enzympellet der RPA auch einen biotinylierten Vorwärtsprimer. Durch diesen Primer sind die immobilisierten Amplikons mit einem Biotin markiert und dienen als Ankerpunkt der Detektionsreaktion. Die Detektion startet durch das Binden eines Streptavidin-Meerrettichperoxidase-Komplex an die biotinylierten Amplikons, dass über den Mikroarray gepumpt wird. Danach wird ein 1:1 Gemisch aus Luminol und Peroxidase in den Mikroarray injiziert und durch die Meerrettichperoxidase wird eine Chemilumineszenz-Reaktion (CL) katalysiert das mit einer CCD Kamera detektiert wird. Die Intensität des CL-Signals ist dabei abhängig von der Ausgangskonzentration an *L. spp.* DNA in der Probe. Bei einer Analyse von Realproben ist neben der haRPA auch eine effektive Konzentrations- und Extraktionsmethode nötig. Dafür wird die Probe zuerst mit einem Vorfilter (⌀ 5 µm) behandelt um grobe Matrixbestandteile abzutrennen. Anschließend wird 100 mL mit einem PC-Sterilfilter (⌀ 0,22 µm) gefiltert. Nach der Elution wird die DNA extrahiert. Zusätzlich kann die haRPA noch durch die Zugabe von Propidium Monoazid (PMA) vor der Extraktion erweitert werden, um nur lebende Zellen zu detektieren. PMA kann dabei die Zellmembran von nicht intakten Zellen passieren und an die DNA binden. Die Amplifizierung dieser DNA sowie von freier DNA wird dabei blockiert. Der finale Arbeitsablauf ist in Abbildung 2 dargestellt.

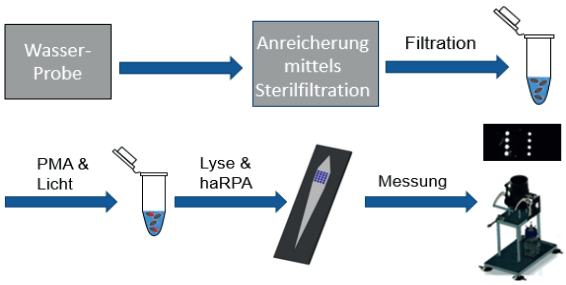


Abb. 2: Schematische Darstellung des finalen Arbeitsablaufs der haRPA mit vorheriger Konzentration durch Sterilfiltration.

Ergebnisse

Der Assay wurde zuerst mit DNA-Verdünnungen von *Legionella spp.* optimiert. Nach der Etablierung eines geeignetes Konzentrations- und Extraktionsverfahrens wird der Assay mit *Legionella spp.* kalibriert und anschließend werden Realproben von ausgewählten Schweinemastbetrieben über einen Zeitraum von einem Jahr analysiert. Abbildung 3 zeigt die Kalibrierung mit *Legionella spp.* mittels haRPA (Abb. 3) ohne filtration.

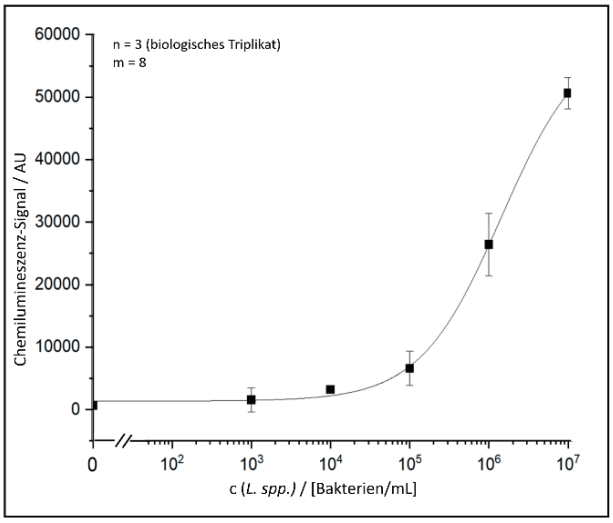


Abb. 3: Kalibrierung der haRPA mit *L. spp.* Verdünnungen in Mineralwasser. Die Verdünnungen sowie die DNA-Extraktion wurden als Triplikat angefertigt.

Die haRPA erreicht eine Nachweisgrenze von 9,2 x 10^3 Bakterien/mL. Zum Vergleich der Sensitivität des Assays, wurden die identischen Proben wurden zusätzlich mit einem kommerziellen qPCR-Kit (Analytik Jena) für die Detektion von Legionellen gemessen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4 zu sehen.

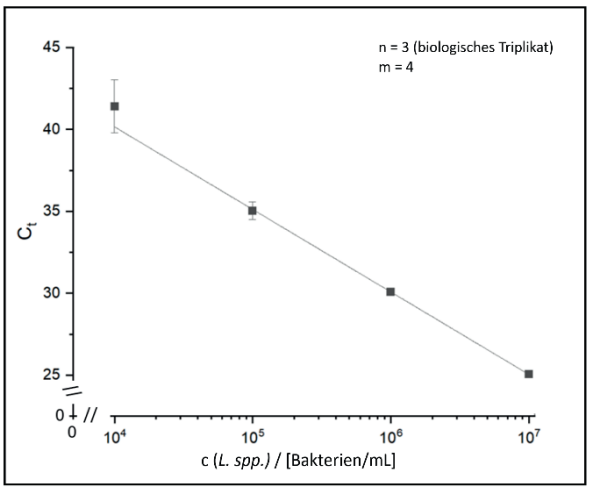


Abb. 4: qPCR Ergebnisse der in Abb. 3 genutzten Proben.

Die qPCR weist eine niedrigste noch messbare *L. spp.* Konzentration von 10^4 Bakterien/mL auf. Die haRPA ist damit vergleichbar mit den aus der qPCR gewonnen Daten. Es wurde noch keine Konzentration mittels Sterilfiltation bei den dargestellten Kalibrierungen durchgeführt.

Diskussion und Ausblick

Die Sensitivität des Gesamtassay muss in weiteren Schritten verbessert werden. Im nächsten Schritt wird eine Konzentrierung mittels Sterilfiltration integriert. Außerdem wird parallel an einem zweiten spezies-spezifischen Primersets für *Legionella pneumophila*, die für den Menschen gefährlichste Legionellen-Spezies, gearbeitet. Durch das Immobilisieren des jeweiligen Rückwärts-Primers beider Primerpaare auf der Chipoberfläche soll somit eine Multiplexanalyse ermöglicht werden (siehe Abbildung 5).

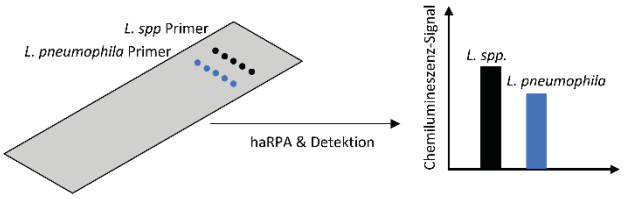


Abb. 5: Prinzip einer Multiplex-Analyse mit der haRPA.

Mit einer Messung ist dann sowohl eine Unterscheidung als auch Quantifizierung von der Gesamt-Legionellenzahl sowie der Anteil an *Legionella pneumophila* möglich. Um zusätzlich lebende von toten Zellen zu unterscheiden kann die haRPA durch Zugabe von PMA zu einer Integritäts-haRPA erweitert werden. Da nur lebende Zellen infektiös sind, ist dadurch eine bessere Abschätzung von potentiellen Gesundheitsrisiken möglich.

Literatur

[1] ROBERT KOCH INSTITUT: Legionärskrankheit in Deutschland (2010 bis 2020). *Epidemiologisches Bulletin (42)*, 2021

[2] KOBER, C. ; NIESSNER, R. ; SEIDEL, M.: Quantification of viable and non-viable *Legionella spp.* by heterogeneous asymmetric recombinase polymerase amplification (haRPA) on a flow-based chemiluminescence microarray. In: *Biosens. Bioelectron.* 2018, 100, 49-55

[2] KUNZE, A. ; DILCHER, M. ; ABD EL WAHED, A. ; HUFERT, F. ; NIESSNER, R. ; SEIDEL, M.:, On-Chip Isothermal Nucleic Acid Amplification on Flow-Based Chemiluminescence Microarray Analysis Platform for the Detection of Viruses and Bacteria. In: *Anal. Chem*. 2016, 88, 898-905

DOI 10.5162/15dss2021/P4.15

Signalverstärkersystem basierend auf der Pheromon-gekoppelten Bildung eines Fluoreszenzproteins in Hefen

Alfred Kick[1], Julia Lenhart[1], Lisa Heike Tranelis[2], Julia Döring[2], Maria Patschin[2], Kai Ostermann[2], Michael Mertig[1,3]

[1]Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim, Deutschland
[2]Umweltmonitoring und Endokrinologie - Fakultät Biologie, Technische Universität Dresden, Deutschland
[3]Physikalische Chemie, Technische Universität Dresden, Deutschland
Kontakt: alfred.kick@ksi-meinsberg.de

Einleitung

Arzneimittelrückstände und deren Metabolite im Wasserkreislaufsystem sind ein weltweites Problem, da diese Stoffe potenziell gesundheitsschädlich sein können [1]. Auf die erste EU-Beobachtungsliste wurde u.a. der Wirkstoff Diclofenac gesetzt [2], eines der weltweit am häufigsten eingesetzten Medikamente, welches zur Familie der nichtsteroidalen Entzündungshemmer/Antirheumatika gehört. Bei oraler Gabe von Diclofenac werden 60 bis 70 % des Wirkstoffs über den Urin ausgeschieden. Die mittlere Diclofenac-Konzentration im Abwasser beträgt 0,11 bis 2,3 µg/l, in Krankenhausabwässern kann sie auf bis zu 6,88 µg/l und in Abwässern der pharmazeutischen Industrie auf 203 µg/l (0,69 µM) ansteigen [3].

Ziel der Arbeit ist die Entwicklung eines Sensorprinzips auf Grundlage genetisch modifizierter Hefen [4]. Diese Hefen (*Saccharomyces (S.) cerevisiae*) sollen in Ganzzellsensoren zur Detektion von Arzneimittelrückständen in Umweltproben [5, 6] genutzt werden. Im Speziellen soll Diclofenac in geringen Konzentrationen sicher nachgewiesen werden können.

Das hier verwendete Sensorprinzip (Abb. 1) beruht auf der Bildung des Hefe-Pheromons [7] (α-Faktor) durch einen genetisch modifizierten Hefestamm, der bei Anwesenheit von Diclofenac den α-Faktor, ein Peptid aus 13 Aminosäuren (Trp-His-Trp-Leu-Gln-Leu-Lys-Pro-Gly-Gln-Pro-Met-Tyr), bildet. Hierbei wird der *PDR5*-Promoter der Hefe genutzt. Der α-Faktor führt dann in einem zweiten Stamm zur Aktivierung des *FIG1*-Promoters und damit zur Bildung eines fluoreszierenden Proteins (mNeonGreen). Die Bildung des α-Faktors, bei sonst gleichen Bedingungen, ist im Wesentlichen von der Diclofenac-Konzentration abhängig, die innerhalb der Detektionszeit als konstant angesehen wird. Damit wächst die α-Faktor-Konzentration näherungsweise linear mit der Zeit an. Unter diesen Voraussetzungen kann die Bildungsrate des mNeonGreen als proportional zur α-Faktor-Konzentration angenommen werden. Damit erhöht sich die Bildungsrate dieses Fluoreszenzproteins mit der Zeit. Durch die Kumulation des α-Faktors in der Zellsuspension erhöht sich auch die Produktion des mNeonGreen, wodurch - neben dem Ansteuern einer großen Zahl entsprechender Zellen - eine Signalverstärkung im Vergleich zur direkten Detektion des Diclofenac über den *PDR5*-Promoter erreicht werden kann [4]. Wie in Abb. 1 (links) angedeutet, ist es weiter auch möglich, das Signal zu erhöhen, in dem die Zelldichte, insbesondere der Aktorhefe, durch geeignete Kultivierungsbedingungen erhöht wird.

Methoden und Materialien

Genetisch modifizierte Hefen

Die Transformation der *S. cerevisiae*-Hefestämme erfolgte analog zu der Arbeit von Schuller *et al*. [4]. Es wurde ein Stamm generiert (*S. cerevisiae* BY4742ΔMFα1 [MAT*α his3Δ1 leu2Δ0 lys2Δ0 ura3Δ0 YPL187w*::kanMX4]), welcher das Plasmid p426 PDR5-MFα1 enthält. Dadurch produziert der Stamm in Anwesenheit von Diclofenac α-Faktor. Entsprechend wurde eine Aktorhefe (*S. cerevisiae* BY4741Δbar1Δfar1 [MATa *his3Δ1 leu2Δ0 met15Δ0 ura3Δ0 YIL015w*::kanMX4 *YJL157c*::natMX6]) mit dem Plasmid p426 FIG1-mNeonGreen entwickelt. Dieser Stamm reagiert mit der Produktion des Fluoreszenzproteins mNeonGreen in Abhängigkeit der Anwesenheit des Pheromons α-Faktor. Somit erfolgt eine indirekte Detektion von Diclofenac. Die Auswertung erfolgt mittels Fluoreszenzspektroskopie.

Kultivierung der Hefestämme

Die Experimente wurden in Minimalmedium (1,9 g/l Hefe-Stickstoff-Basis ohne Aminosäuren, 5 g/l Ammoniumsulfat, 20 g/l Glucose) supplementiert mit entsprechenden Aminosäuren durchgeführt. Die Supplementierung für die Aktorhefe erfolgte mit 60 mg/l L-Histidin, 80 mg/l L-Leucin und 20 mg/l L-Methionin; für die Sensorhefe mit 60 mg/l L-Histidin, 80 mg/l L-Leucin und 30 mg/l L-Lysin (Carl Roth GmbH + Co. KG).

Vorkulturen wurden in SC-Ura Medium (1,9 g/l Minimalmedium mit 1,926 g/l *Kaiser SC Ura Drop-out* (ein Medium ohne Uracil; ForMedium™) über Nacht bei 30 °C im Schüttler bei 180 rpm angelegt. 2 ml der jeweiligen Vorkultur wurde zweimal mit Minimalmedium gewaschen und zentrifugiert (3000 rcf, 7 min). Um eine gewünschte Zelldichte (Start-OD_{600}) einzustellen, wurden die optische Absorption bei 600 nm mit dem NanoDrop-Spektrophotometer (Thermo Fisher Scientific Inc.) in einer Küvette (1 cm Schichtdicke) gemessen und das Pellet im entsprechenden Volumen des Minimalmediums resuspendiert.

Fluoreszenzspektroskopie

Zur Messung der Fluoreszenzintensitäten der Zellsuspensionen wurden ein Mikroplatten-Reader (Synergy™ H1, BioTek Instruments, Inc.) verwendet (30 °C, doppel-

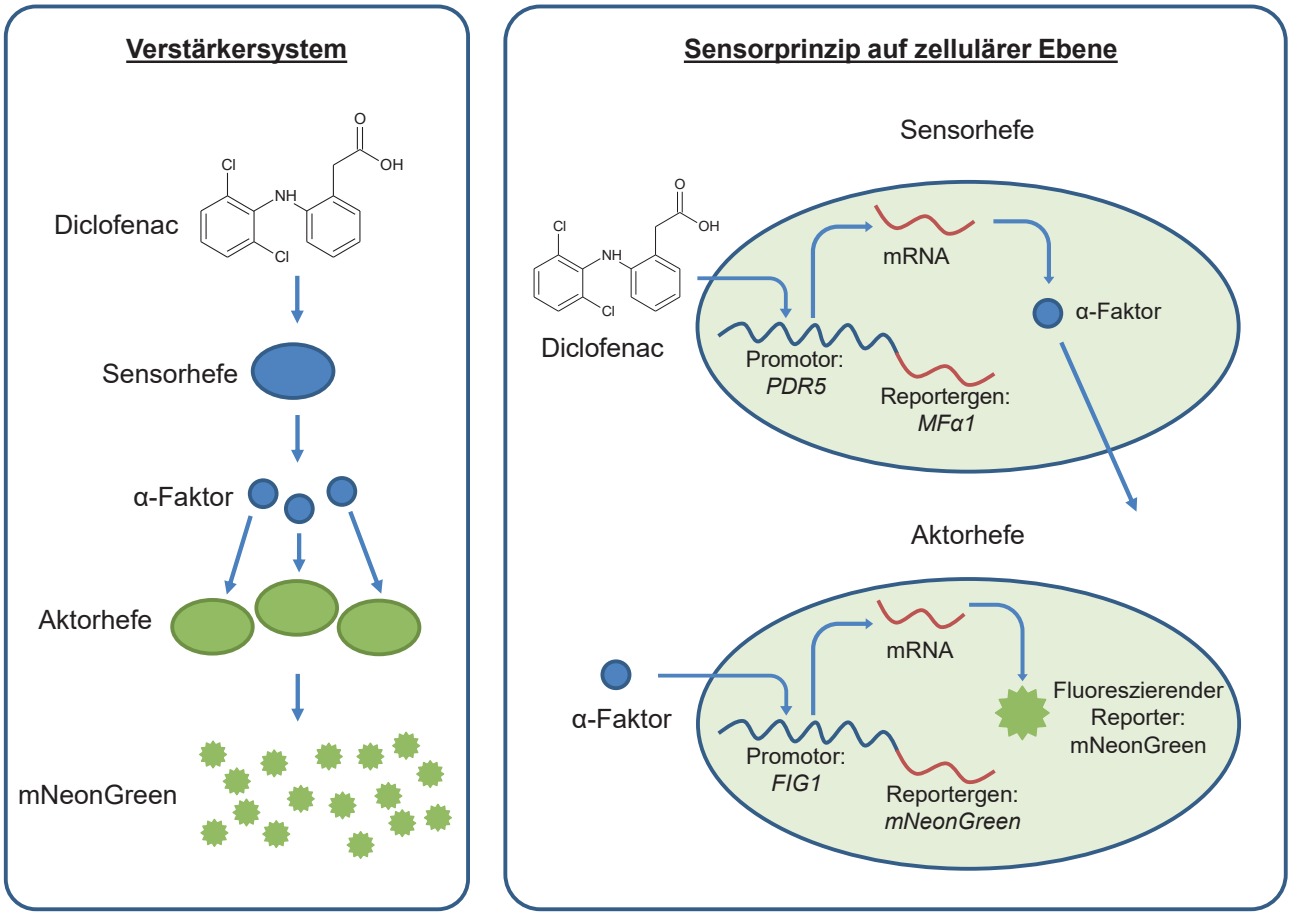


Abb. 1: Prinzip des Signalverstärkersystems und der zelluläre Wirkmechanismus von Diclofenac und α-Faktor in den genetisch modifizierten Hefestämmen.

orbitales Schütteln). Je 250 µl der Zellsuspensionen wurden in 96-Well-Platten gegeben (F-Boden, BRAND plates® - cell Grade™ premium; BRAND GmbH & Co KG). Die Wells wurden durch eine gasdurchlässige Membran abgedeckt (Breathe-Easy, Diversified Biotech). Die Fluoreszenz wurde bei 485 nm Anregungs- und 525 nm Emissionswellenlänge durch den Boden der Wells ausgelesen. Die Auswertung der Kinetik der Fluoreszenzintensitäten erfolgte als Änderung zum Wert beim Start der Messungen im jeweiligen Well.

Diclofenac im Gemisch von Sensor- und Aktorhefe

Die Detektion von Diclofenac wurde durch seine Wirkung in einer Mischung von Sensor- und Aktorhefen untersucht. Dabei wurden die Zelldichten von Sensor- und Aktorhefe von OD600 = 0,1 bzw. OD600 = 1 gewählt. Je 3 Wells wurden mit 250 µl dieser Hefesuspensionen befüllt wobei Suspensionen mit 1 µM Diclofenac (als Natriumsalz; Sigma-Aldrich) und ohne Diclofenac getestet wurden.

Wirkung des α-Faktors auf die Aktorhefe

Zur Prüfung der Wirkung des α-Faktors auf die Aktorhefe, wurden je 3 Wells mit 250 µl Hefesuspensionen (OD_{600} = 2) befüllt wobei Suspensionen mit 50 nM α-Faktor (Zymo Research Corporation) und ohne α-Faktor untersucht wurden.

Separate Nutzung der Sensor- und Aktorhefe

Bei diesem Experiment wurde 2 Kolben mit je 25 ml Suspension der Sensorhefe (Start-OD_{600} = 1) über 5 h bei 30 °C im Schüttler kultiviert. In einen Kolben wurden zu Beginn 10 µM Diclofenac dazugegeben. Danach wurden die Suspensionen zentrifugiert (3000 rcf, 1 min) und je 125 µl Überstand mit 125 µl Aktorhefe (mit frischem Minimalmedium gewaschene Vorkultur, OD_{600} = 2) gemischt. Damit wurde die Fluoreszenz der Aktorhefe in je 3 Wells mit und ohne vorherige Einwirkung von Diclofenac auf die Sensorhefe untersucht.

Ergebnisse und Diskussion

Abb. 2 zeigt die Wirkung des α-Faktors auf den Hefestamm, der das Fluoreszenzprotein bildet. Man kann zeigen, dass nach etwa einer Stunde die Fluoreszenzintensität in der Hefekultur mit 50 nM α-Faktor im Vergleich zur Kontrolle ohne α-Faktor deutlich ansteigt. Die Fluoreszenzintensität in den Wells ohne α-Faktor steigt ebenfalls an; dieser Anstieg ist aber vergleichsweise gering (nach 10 Stunden < 10000 RFU). Er resultiert sehr wahrscheinlich aus der Synthese des Fluoreszenzproteins durch eine basale Aktivität des *FIG1*-Promotors auch ohne Wirkung des α-Faktors. Bei 25 nM α-Faktor konnte in Vorversuchen nur eine schwache Erhöhung der Fluoreszenzintensität nach 6 h detektiert werden. Dies deutet darauf hin,

dass es unter den gegebenen Versuchsbedingungen eine Schwellenkonzentration des α-Faktors ($c_{\alpha,s} < 25$ nM) gibt, welche für die Steigerung der mNeonGreen-Bildung notwendig ist.

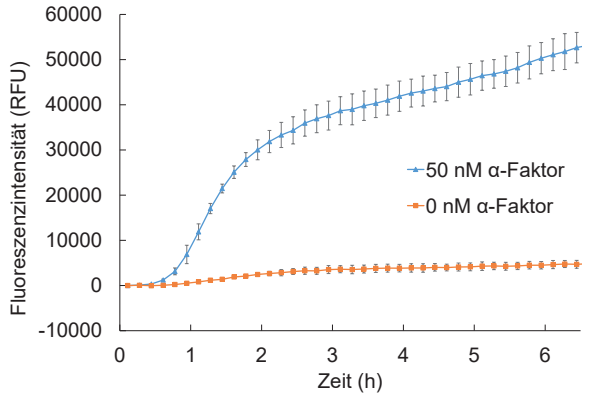


Abb. 2: Kinetik der Fluoreszenzintensität der Aktorhefe-Suspension bei: 0 nM und 50 nM α-Faktor. Start-OD_{600} = 2. Mittelwerte und Standardabweichungen aus je 3 Wells.

Im nächsten Experiment wurde untersucht, ob bei Verwendung einer Mischung aus Sensor- und Aktorhefe die Detektion von Diclofenac möglich ist. Dazu wurde die Menge der Sensorhefe auf 10 % der Menge an Aktorhefe eingestellt, um die Konzentration des basal produzierten α-Faktors in Abwesenheit von Diclofenac gering zu halten. Jedoch erkennt man in Abb. 3, dass in diesem Fall trotzdem eine deutliche Produktion des Fluoreszenzproteins stattfindet. Diese ist zwar deutlich geringer als im Medium mit 1 µM Diclofenac, begrenzt jedoch die angestrebte Quantifizierung von kleineren Diclofenac-Konzentrationen in Wasserproben unbekannter Zusammensetzung.

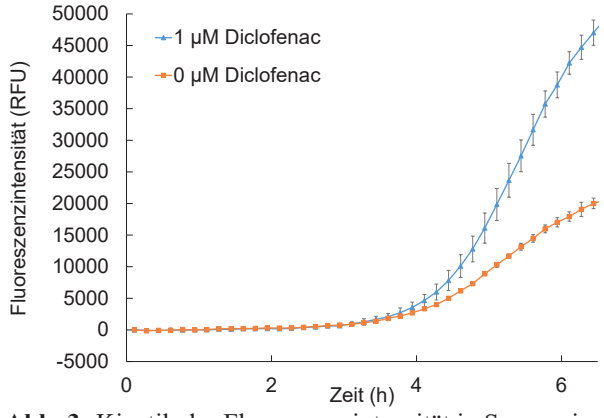


Abb. 3: Kinetik der Fluoreszenzintensität in Suspensionen aus Sensorhefe (Start-OD_{600} = 0,1) und Aktorhefe (Start-OD_{600} = 1); ohne Diclofenac oder mit 1 µM Diclofenac. Mittelwerte und Standardabweichungen aus je 3 Wells.

Da in anderen Versuchen (hier nicht gezeigt) auch durch weitere Verringerung des Anteils an Sensorhefe das gleiche Problem auftrat, wurde im Weiteren angenommen, dass ggf. durch die unmittelbare Nachbarschaft der Aktor- und Sensorhefezellen in der Suspension lokal eine zu hohe Konzentration an basal produziertem α-Faktor auftritt und dieses eine starke Fluoreszenzprotein-Bildung hervorruft, obwohl die auf das Gesamtvolumen bezogene mittlere α-Faktor-Konzentration ($\bar{c}_\alpha$) kleiner als die bereits erwähnte Schwellenkonzentration ist ($\bar{c}_\alpha < c_{\alpha,s}$) (Abb. 4).

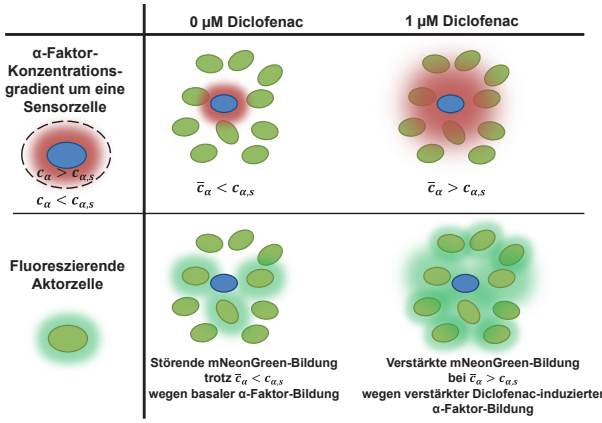


Abb. 4: Veranschaulichung der Konzentrationsverteilung des α-Faktors in einer Mischung aus Sensor- und Aktorhefe. c_α- α-Faktor-Konzentration, $\bar{c}_\alpha$- mittlere α-Faktor-Konzentration, $c_{\alpha,s}$- Schwellenkonzentration des α-Faktor.

Daher wurde diese Annahme in einem Experiment überprüft, wo die Sensorhefe in Abwesenheit der Aktorhefe zunächst mit Diclofenac versetzt wird. Nach einer bestimmten Einwirkzeit bildet sich in Abhängigkeit der Diclofenac-Konzentration der α-Faktor, welcher dann homogen im Überstand der zentrifugierten Zellsuspension vorliegt. Die Zugabe dieses Überstandes in eine Suspension mit Aktorhefe sollte dann zur Bildung des Fluoreszenzproteins in Abhängigkeit von der α-Faktor-Konzentration ohne lokal überhöhte Pheromon-Konzentrationen führen. Die Messwerte in Abb. 5 bestätigen diese Annahme.

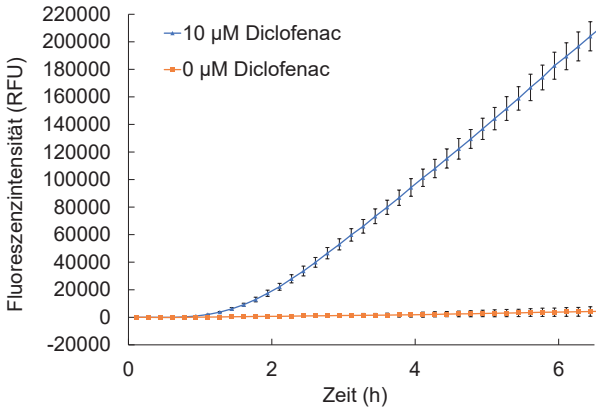


Abb. 5: Kinetik der Fluoreszenzintensität der Aktorhefe-Suspension nach Zugabe des Überstandes aus einer Sensorhefe-Suspension (5 h Eiwirkzeit mit 0 µM bzw. 10 µM Diclofenac). Start-OD_{600} = 1 Mittelwerte und Standardabweichungen aus je 3 Wells.

Die Konzentration des basal produzierten α-Faktors nach 5 h ist bei anschließender homogener Verteilung in eine Suspension der Aktorhefe nicht ausreichend, um eine signifikante Erhöhung der Fluoreszenzintensität innerhalb der Detektionszeit zu bewirken. Die entstandene Konzentration an α-Faktor beim Einwirken von 10 µM auf die Sensorhefe zeigt hingegen bereits nach 1,5 Stunden einen signifikanten Anstieg der Fluoreszenzintensität. Mit diesem Vorgehen kann eine falschpositive Detektion von Diclofenac vermieden werden.

Zusammenfassung

In dieser Arbeit wird die erfolgreiche Detektion von Diclofenac mittels genetisch modifizierter Hefen durch Implementierung eines α-Faktor-gekoppelten Signalverstärkersystems gezeigt. Das Problem der basalen Produktion des α-Faktors wird durch die separate Nutzung von Sensor- und Aktorhefen gelöst. Mit der Einwirkzeit des Diclofenacs auf die Sensorhefe von etwa 5 Stunden, kann die Detektion nach spätestens 10 h ab Zugabe der Diclofenac-haltigen Probe abgeschlossen werden.

Literatur

[1] Umweltbundesamt: *Empfehlungen zur Reduzierung von Mikroverunreinigungen in den Gewässern*, 2018, https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/1410/publikationen/uba_pos_mikroverunreinigung_final_bf.pdf

[2] *Richtlinie 2013/39/EU des Europäischen Parlaments und des Rates zur Änderung der Richtlinien 2000/60/EG und 2008/105/EG in Bezug auf prioritäre Stoffe im Bereich der Wasserpolitik*, 2013

[3] VIENO, N.; SILLANPÄÄ, M.: Fate of diclofenac in municipal wastewater treatment plant - A review. In: *Environ Int* 69 (2014), S. 28–39

[4] SCHULLER, A.; RÖDEL, G.; OSTERMANN, K.: Tuning the Sensitivity of the PDR5 Promoter-Based Detection of Diclofenac in Yeast Biosensors. In: *Sensors* 17 (2017), S. 1506–1522

[5] SCHIRMER, C.; POSSECKARDT, J.; KICK, A.; REBATSCHEK, K.; FICHTNER, W.; OSTERMANN, K.; SCHULLER, A.; RÖDEL, G.; MERTIG, M.: Encapsulating genetically modified Saccharomyces cerevisiae cells in a flow-through device towards the detection of diclofenac in wastewater. In: *J Biotechnol* 284 (2018), S. 75–83

[6] SCHIRMER, C.; J. POSSECKARDT, J.; SCHRÖDER, M.; GLÄSER, M.; HOWITZ, S.; SCHARFF, W.; MERTIG, M.: Portable and low-cost biosensor towards on-site detection of diclofenac in wastewater. In: *Talanta* 203 (2019) 242–247

[7] GROß, A.; RÖDEL, G.; OSTERMANN, K.: Application of the yeast pheromone system for controlled cell–cell communication and signal amplification. In: *Lett Appl Microbiol* 52 (2011), S. 521–526

Danksagung

Die vorgestellten Arbeiten sind Teil eines vom Europäischen Fond für Regionale Entwicklung (EFRE) gefördert Projektes (FKZ 100388387). Die Autoren bedanken sich bei der SAB für die finanzielle Unterstützung. Das Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V. wird mitfinanziert durch Steuermittel auf der Grundlage des vom Sächsischen Landtag beschlossenen Haushaltes.

DOI 10.5162/15dss2021/P4.16

Detektion von Pflanzenviruspartikeln mittels eines feldeffekt-basierten kapazitiven Biosensors

Melanie Welden[1,2], Farnoosh Vahidpour[1], Tim Wendlandt[3], Arshak Poghossian[4], Michael Keusgen[2], Christina Wege[3] und Michael J. Schöning[1,5]

[1]Institut für Nano- und Biotechnologien (INB), FH Aachen, Jülich, Deutschland
[2]Institut für Pharmazeutische Chemie, Philipps Universität Marburg, Marburg, Deutschland
[3]Institut für Biomaterialien und Biomolekulare Systeme, Universität Stuttgart, Stuttgart, Deutschland
[4]MicroNanoBio, Düsseldorf, Deutschland
[5]Institut für Biologische Informationsprozesse (IBI-3), Forschungszentrum Jülich GmbH, Jülich, Deutschland
Kontakt: m.welden@fh-aachen.de

Einleitung

Pflanzenviren tragen wesentlich zu Ernteverlusten bei, wodurch hohe wirtschaftliche Kosten verursacht werden [1, 2]. Das wohl bekannteste Pflanzenvirus stellt das Tabakmosaikvirus (TMV) dar, welches das erste entdeckte Virus der Geschichte und heute eines der am besten erforschten Viren ist. TMV sind weit verbreitet und infizieren z.B. Tabak, Tomate, Paprika und andere Mitglieder der Familie *Solanaceae*, sowie Pflanzen in etwa 30 weiteren Familien. Für Säugetiere sind TMV hingegen nicht pathogen [3, 4]. Der durch TMV verursachte weltweite Schaden beläuft sich auf bis zu 100 Millionen USD pro Jahr [5, 6]. TMV hemmen das Wachstum der infizierten Pflanzen und verursachen typische, mosaikartige Muster auf den Blättern. TMV-Partikel haben eine nanoröhrenartige Struktur mit einer Länge von 300 nm, einem Außendurchmesser von 18 nm und einem inneren Kanal mit 4 nm Durchmesser. Jedes TMV-Nanoröhrchen besteht aus einer Einzelstrang-RNA, die zwischen 2130 schraubenförmig angeordneten, identischen Hüllprotein-Untereinheiten eingebettet ist. TMV können sich über die Atmosphäre verbreiten und mechanisch von Pflanze zu Pflanze übertragen werden [7].

Um Kontrollstrategien zu entwickeln, ist eine zuverlässige und frühzeitige Erkennung von Pflanzenviruskrankheiten vor Ort nötig. Um dies zu realisieren, sind tragbare Biosensoren von großem Interesse [8,9].

In dieser Studie wurde ein feldeffektbasierter SiO_2-Gate-Elektrolyt-Isolator-Halbleiter-Sensor für den markierungsfreien elektrostatischen Nachweis von TMV-Partikeln als Modell-Pflanzenpathogen eingesetzt (siehe Abb. 1) [10]. Die kapazitiven Feldeffekt-Sensoren wurden hinsichtlich ihrer TMV-Empfindlichkeit mit Hilfe von „Konstant-Kapazitäts“ (ConCap)-Messungen elektrochemisch und mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) physikalisch charakterisiert. Mit dem entwickelten Sensor konnten biotinylierte TMV-Partikel aus einer Suspension mit einer TMV-Konzentration von nur 0,001 mg/mL nachgewiesen werden. Es zeigte sich eine klare Korrelation zwischen dem aufgenommenen Sensorsignal und der TMV-Dichte auf der SiO_2-Transduceroberfläche, die anhand von REM-Aufnahmen ermittelt wurde.

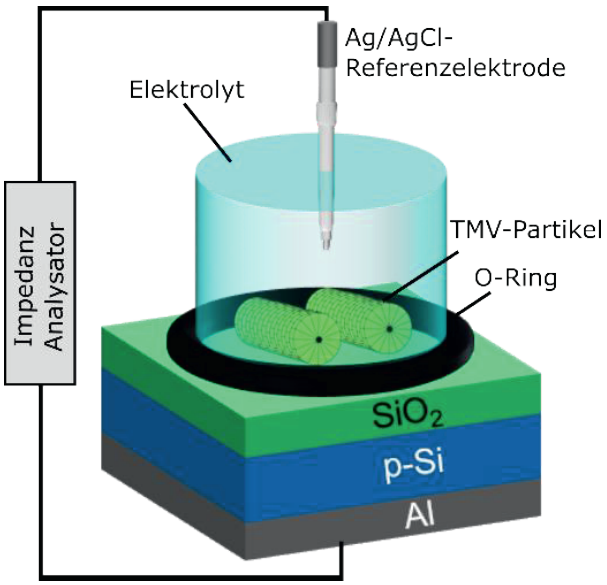


Abb. 1: Schematischer Aufbau eines TMV-modifizierten Feldeffektsensors mit SiO_2 als Gate-Isolator.

Methoden und Materialien

Herstellung der EIS-Sensorchips

Zur Herstellung der Al/p-Si/SiO_2-Schichtstrukturen, wurde ein p-dotierter Silizium (p-Si) Wafer (~385 µm Dicke, 1-5 Ωcm) für 30 Minuten bei 1000 °C in O_2-Atmosphäre thermisch oxidiert, wodurch eine 30 nm dicke SiO_2-Gate-Isolatorschicht erzielt wurde. Eine während des Oxidationsprozesses unerwünscht gebildete SiO_2-Schicht auf der Rückseite des p-Si wurde durch Ätzen mit Flusssäure entfernt. Anschließend wurden auf der Rückseite des Wafers 300 nm Aluminium abgeschieden, um einen elektrischen Kontakt zum p-Si herzustellen. In einem letzten Schritt wurde der produzierte Wafer für 10 Minuten in N_2-Atmosphäre bei 400 °C getempert. Um einzelne Sensorchips zu erhalten, wurde der Wafer in 10 ×

10 mm² vereinzelt. Vor dem Gebrauch wurden die Sensorchips in einem Ultraschallbad für je 5 Minuten mit Aceton, Isopropanol, Ethanol und deionisiertem Wasser gereinigt.

Vorbereitung der TMV-Lösungen

Als Modell-Pflanzenviruspartikel wurde eine genetisch veränderte TMV-Variante mit einem exponierten Cysteinrest auf jedem Hüllprotein verwendet [10, 11]. Diese TMV-Variante wurde bereits in früheren Arbeiten zur dichten Immobilisierung von Enzymen auf Biosensoren eingesetzt [12, 13]. Dafür wurden bifunktionelle Maleimid-Polyethylenglykol-Biotin-Linker (EZ-Link Maleimid-PEG_{11}-Biotin (Thermo Scientific, Rockford, IL, USA)) kovalent an die Thiolgruppen der Cysteinreste gebunden. Diese funktionalisierten TMV-Partikel wurden in der vorliegenden Arbeit als Modell-Viruspartikel eingesetzt. Die TMV-Stammlösung (5 mg/mL in 10 mM Natrium-Kalium-Phosphatpuffer (NKP, 10 mM NaH_2PO_4 (Merck, Darmstadt, Deutschland) und 10 mM K_2HPO_4 (Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland), pH 7) wurde bei 4 °C gelagert. Für die TMV-Beladungsexperimente wurden unterschiedlich konzentrierte TMV-Lösungen durch Verdünnen der TMV-Stammlösung mit 0,1 M NKP-Puffer (pH 7,0) hergestellt.

Elektrochemische Charakterisierung der EIS-Biosensoren mittels Feldeffektmessungen

EIS-Sensoren sind sensitiv gegenüber Potenzialänderungen an der Grenzfläche Gate-Isolator/Elektrolyt. Im Falle eines p-Typ-Halbleiters, wie er in der vorliegenden Studie verwendet wurde, reduziert die Adsorption von negativ geladenen Teilchen, wie es TMV-Partikel sind, die Breite der Raumladungszone im Halbleiter, wodurch die Gesamtkapazität der Sensorstruktur erhöht wird. Bei der Charakterisierung der EIS-Sensoren mittels „Kapazitäts-Spannungs“ (C-V)-Messungen führt dies zu einer Verschiebung der Messkurve hin zu positiveren (bzw. weniger negativen) Spannungswerten, was insbesondere im Verarmungsbereich der C-V-Kurve erkennbar ist. Im ConCap-Messmodus, der in dieser Arbeit zur elektrochemischen Charakterisierung angewendet wurde, wird die Kapazität im Verarmungsbereich der C-V-Kurve bei ~60% der maximalen Kapazität konstant eingeregelt. Dies geschieht durch das Anlegen einer vorzeicheninvertierten Spannung an der Referenzelektrode, wodurch Potentialänderungen an der Gate-Oberfläche kompensiert werden, die durch die Adsorption der TMV-Partikel entstehen. Auf diese Weise wird das Messsignal des Biosensors dynamisch über die Zeit aufgenommen.

Für den Nachweis von TMV-Partikeln mit den SiO_2-EIS-Sensoren wurden die EIS-Sensorchips in eine selbstgebaute Messkammer montiert und mit einem O-Ring abgedichtet, wie in Abb. 1 dargestellt. Dabei waren 0,5 cm^2 der SiO_2-Isolatoroberfläche während der elektrochemischen Messungen in Kontakt mit der Elektrolytlösung und für die TMV-Adsorption zugänglich. Die Referenzelektrode (Ag/AgCl, Metrohm, Filderstadt, Deutschland) wurde in die Messlösung getaucht und mit einem Impedanzanalysator (Zahner Zennium, Zahner Elektrik, Kronach, Deutschland) kontaktiert. Der Al-Rückseitenkontakt wurde ebenfalls über eine Kabelverbindung mit dem Impedanzanalysator elektrisch verbunden und somit der Stromkreis geschlossen. Die ConCap-Messungen wurden in 0,33 mM phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS, pH 7) vor und nach Beladung der Sensoroberfläche mit verschiedenen TMV-Konzentrationen durchgeführt. Für die TMV-Beladung wurden die Sensorchips mit 50 µL der entsprechenden TMV-Lösung für 1 Stunde bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer inkubiert. Anschließend wurden die Sensoren dreimal mit 0,33 mM PBS-Puffer gespült, um nicht adsorbierte TMV-Partikel zu entfernen.

Physikalische Charakterisierung der TMV-beladenen SiO_2-Oberfläche mittels REM

Zur morphologischen Charakterisierung der TMV-beladenen SiO_2-Oberfläche wurden REM-Bilder von sechs repräsentativen Bereichen der Chipoberfläche mit einem JEOL JSM-7800F Schottky Feldemissionsmikroskop (JEOL GmbH, Freising, Deutschland) aufgenommen. Vor der Aufnahme wurde eine ca. 5 nm dicke Pt/Pd-Schicht auf die Chip-Oberfläche gesputtert. Die Dichte der adsorbierten TMV-Partikel auf der Sensoroberfläche wurde aus den REM-Bildern mit Hilfe der Bildanalysesoftware ImageJ Fiji (Rasband, W.S., U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA, https://imagej.nih.gov/ij/) ermittelt. Für die Berechnung der TMV-Dichte wurde ein TMV-Partikel als ein 300 nm langes Nanoröhrchen definiert. Da TMV-Partikel jedoch auch als lange End-to-End-aggregierte Strukturen oder als kleinere Partikelfraktionen mit Längen im Bereich von 50-200 nm auftreten können, wurde die Anzahl der unterschiedlich großen Partikel mit entsprechenden Faktoren multipliziert.

Ergebnisse und Diskussion

Zur Untersuchung der TMV-Empfindlichkeit der SiO_2-EIS-Biosensoren wurden ConCap-Messungen in 0,33 mM PBS-Puffer (pH 7) vor und nach der TMV-Beladung der Sensoroberfläche aus unterschiedlich konzentrierten TMV-Lösungen zwischen 0,001 mg/mL und 0,2 mg/mL durchgeführt. Für jede TMV-Konzentration wurden drei EIS-Biosensoren

charakterisiert. In Abb. 2 sind zwei exemplarische ConCap-Kurven zu sehen, die vor (blanker Sensor) und nach Beladung mit verschiedenen TMV-Konzentrationen (0,001 mg/mL und 0,1 mg/mL) aufgenommen wurden. Das ConCap-Signal des mit negativ geladenen TMV-Partikeln modifizierten EIS-Sensors ist erwartungsgemäß in Richtung weniger negativer Gate-Spannungen verschoben.

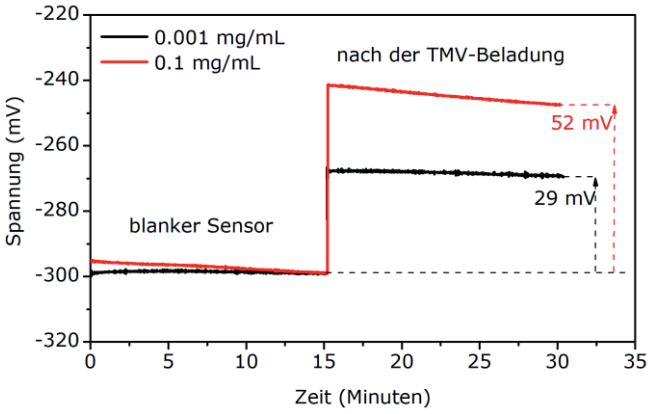


Abb. 2: Exemplarische ConCap-Kurven, aufgenommen in 0,33 mM PBS-Puffer (pH 7,0) vor (blanker Sensor) und nach Beladung der SiO_2-Sensoroberfläche mit TMV-Partikeln aus TMV-Lösungen mit einer Konzentration von 0,001 mg/mL (schwarze Kurve) und 0,1 mg/mL (rote Kurve). Die Kurven wurden auf die Messwerte mit 0.001 mg/mL TMV normiert.

Um herauszufinden, ob die Signaländerungen während der ConCap-Messungen mit der Anzahl der an der Sensoroberfläche gebundenen TMV-Partikel korrelieren, wurde die Morphologie der Sensoroberflächen nach den elektrochemischen Messungen mittels REM analysiert. In Abb. 3 sind exemplarische Abbildungen der beiden Sensoren gezeigt, mit denen die Messkurven in Abb. 2 aufgenommen wurden. Es ist klar erkennbar, dass bei einer TMV-Konzentration von 0,1 mg/mL (Bild unten) die Anzahl der gebundenen TMV-Partikel höher ist, als bei einer Konzentration von 0,001 mg/mL (Bild oben).

In Tab. 1 sind die bei unterschiedlichen TMV-Konzentrationen erzielten mittleren Signaländerungen und die dazugehörigen TMV-Dichten aufgeführt. Es ist erkennbar, dass mit steigenden TMV-Konzentrationen zwischen 0,001 mg/mL und 0,2 mg/mL eine Steigerung des Sensorsignals von (26 ± 2,9) mV auf (58,7 ± 16,1) mV einhergeht. Ebenso korrelieren die ermittelten TMV-Dichten mit (0,014 ± 0,0092) x 10^9 TMV/cm² bei 0,001 mg/mL und (4,2 ± 2,4) x 10^9 TMV/cm² bei 0,2 mg/mL mit den jeweiligen Sensorsignalen.

Die Ergebnisse dieser Studie demonstrieren das hohe Potenzial der EIS-Biosensoren für die markierungsfreie Detektion von TMV-Partikeln als Modell-Pflanzenvirus. Das Detektionsprinzip könnte in zukünftigen Untersuchungen auf weitere Pflanzenviren ausgeweitet werden.

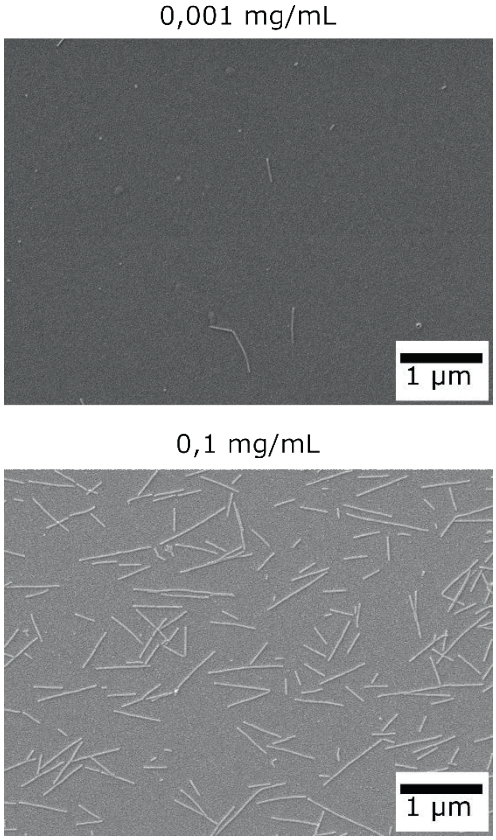


Abb. 3: Exemplarische REM-Aufnahmen der SiO_2-Oberfläche aufgenommen nach der Beladung mit TMV-Partikeln aus TMV-Lösungen mit einer Konzentration von 0,001 mg/mL (oben) und 0,1 mg/mL (unten).

Tab. 1: Mittlere Signaländerungen (n = 3) der SiO_2-EIS-Sensoren nach Beladung mit TMV-Partikeln aus unterschiedlich konzentrierten TMV-Lösungen.

TMV-Konzentration (mg/mL)	Mittlere Signaländerung (mV)	Mittlere TMV-Dichte (10^9 TMV/cm²)
0,001	26,0 ± 2,9	0,014 ± 0,0092
0,005	34,0 ± 2,2	0,036 ± 0,0054
0,02	37,3 ± 2,1	0,26 ± 0,097
0,1	52,0 ± 1,6	1,0 ± 0,7
0,2	58,7 ± 16,1	4,2 ± 2,4

Literatur

[1] OERKE, E.-C.: Crop losses to pests. In: *J Agric Sci*. 144 (2006), Nr. 1, S. 31–43

[2] ISLAM, W.; QASIM, M.; ALI, N.; TAYYAB, M.; CHEN, S.; WANG L.: Management of *tobacco mosaic virus* through natural metabolites. In: *Rec. Nat. Prod*. 12 (2018), Nr. 5, S. 403–415

[3] PENG, J.; SONG, K.; ZHU, H.; KONG, W.; LIU, F., SHEN, T.; YONG, H.: Fast detection of *tobacco mosaic virus* infected tobacco using laser-induced breakdownspectroscopy. In: *Sci. Rep.* 7 (2017), Nr. 1, S. 44551.

[4] CALO, A.; EIBEN, S.; OKUDA, M.; BITTNER, A. M.: Nanoscale device architectures derived from biological assemblies: The case of *tobacco mosaic virus* and (apo) ferritin. In: *Jpn. J. Appl. Phys.* 55 (2016), Nr. 3S2, S. 03DA01

[5] FU, Y.; LIU, D.; ZENG, H.; REN, X.; SONG, B.; HU, D.; Gan, X.: New chalcone derivatives: synthesis, antiviral activity and mechanism of action. In: *RSC Adv.* 10 (2020), Nr. 41, S. 24483–24490.

[6] CHEN, Y.-H.; GUO, D.-S.; LU, M.-H.; YUE, J.-Y.; LI, Y.; SHANG, C.-M.; AN, D.-R.; ZHAO, M.-M.: Inhibitory effect of osthole from cnidium monnieri on *tobacco mosaic virus* (TMV) infection in *Nicotiana glutnosa*. In: *Molecules.* 25 (2020), Nr. 1, S. 65

[7] FAN, X. Z.; POMERANTSEVA, E.; GNERLICH, M.; BROWN, A.; GERASOPOULOS, K.; MCCARTHY, M.; CULVER, J.; GHODSSI, R.: *Tobacco mosaic virus*: A biological building block for micro/nano/bio systems. In: *Vac. Sci. Technol. A* 31 (2013), Nr. 5, S. 050815

[8] POGHOSSIAN, A.; JABLONSKI, M.; MOLINNUS, D.; WEGE, C.; SCHÖNING, M. J.: Field-effect sensors for virus detection: From Ebola to SARS-CoV-2 and plant viral enhancers. In: *Front. Plant Sci.* 11 (2020), S. 598103

[9] ZANG, F.; GERASOPOULOS, K.; BROWN, A. D.; CULVER, J. N.; GHODSSI, R.: Capillary microfluidics-assembled virus-like particle bionanoreceptor interfaces for label-free biosensing. In: *ACS Appl.Mater. Interfaces* 9 (2017), Nr. 10, S. 8471–8479

[10] JABLONSKI, M.; POGHOSSIAN, A.; KEUSGEN, M.; WEGE, C.; SCHÖNING, M. J.: Detection of plant virus particles with a capacitive field-effect sensor. In: *Anal. Bioanal. Chem.* 413 (2021), Nr. 22, S. 5669–5678

[11] GEIGER, F.C.; EBER, F. J.; EIBEN, S.; MUELLER, A.; JESKE, H.; SPATZ, J. P.; WEGE, C.: TMV nanorods with programmed longitudinal domains of differently addressable coat proteins. In: *Nanoscale* 5 (2013), Nr. 9, S. 3808–3816

[12] JABLONSKI, M.; POGHOSSIAN, A.; SEVERINS, R.; KEUSGEN, M.; WEGE, C.; SCHÖNING, M. J.: Capacitive field-effect biosensor studying adsorption of *tobacco mosaic virus* particles. In: *Micromachines* 12 (2021), Nr. 1, S. 57

[13] POGHOSSIAN, A.; JABLONSKI, M.; KOCH, C.; BRONDER, T. S.; ROLKA, D.; WEGE, C.; SCHÖNING, M. J.: Field-effect biosensor using virus particles as scaffolds for enzyme immobilization. In: *Biosens. Bioelectron.* 110 (2018), S. 168–174

Danksagung

Teile dieser Arbeit wurden gefördert durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) - (446507449).

Die Autoren danken Rebecca Hummel, David Rolka und Heiko Iken für technische Unterstützung.

DOI 10.5162/15dss2021/P5.1

Automatisierte Auswertung chromatographischer Daten für die Bewertung von Whisky

Helen Haug[1], Satnam Singh[1], Andreas Grasskamp[1] und Tilman Sauerwald[1]

[1]Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung IVV, Freising, Deutschland
Kontakt: helen.haug@ivv.fraunhofer.de

Einleitung

In der chemischen Analytik spielt die Identifizierung unbekannter Moleküle im Bereich unterschiedlicher Anwendungen eine wichtige Rolle. Einen Anwendungsfall hierfür stellt die Aromaanalytik dar. Bestandteil hiervon ist u.a. die Identifizierung enthaltener geruchsaktiver Verbindungen, bspw. zur Entschlüsselung des Aromas von Lebensmitteln [1–4]. Dabei finden verschiedene, teilweise sehr aufwändige Verfahren zur Identifizierung und Bewertung der Geruchskomponenten statt. Im Rahmen gaschromatographischer (GC) Analysen werden zur Identifizierung geruchsaktiver Verbindungen häufig drei Faktoren betrachtet: Retentionsindices (RI), Geruchsmerkmale und Massenspektren (MS) [1–4]. Retentionsindices bieten eine Möglichkeit zur Darstellung des Retentionsverhaltens der Analyten durch die Standardisierung mit einer Standardreihe (i.d.R. Alkane) [5]. Die Geruchsmerkmale werden durch den Einsatz eines Olfaktometrie-Ports, welcher als zusätzlicher Detektor am Gaschromatographen (GC) dient, durch den Anwender bestimmt [1,2]. Die MS der Analyten werden entsprechend durch die Kopplung des GC mit einem Massenspektrometer (GC-MS) generiert. Die Aus- und Bewertung der GC-Daten stellt dabei einen zeitintensiven Schritt dar, bei welchem neben entsprechenden Software-Anwendungen (bspw. AMDIS [6–8]), geeigneten Datenbanken (DB) bzw. Referenzen für RI und MS [2,8–10] die Erfahrung von Experten zum Einsatz kommt.

Ziel der vorgestellten Arbeiten ist daher die Entwicklung und Bewertung von Methoden zur effizienten Aufnahme und Auswertung von GC-Daten. Zum einen werden dabei analytische Methoden für eine möglichst zeit- und kostensparende Analyse fokussiert. Zum anderen soll die Bewertung mittels GC vermessener Proben durch die Entwicklung einer anwendungsorientierten Software unterstützt werden. Diese soll zunächst die zuverlässige Erkennung und Zuordnung enthaltener Komponenten ermöglichen. Als Anwendungsbeispiel der vorgestellten Arbeiten dient die Untersuchung flüchtiger (Aroma-)Komponenten in Whisky. Eine Vielzahl von Molekülen trägt zum typischen Aroma der Spirituose bei. Neben einigen unterschiedlichen Geruchseigenschaften ist dabei eine große Bandbreite an Substanzklassen sowie entsprechend unterschiedliche Retentionsverhalten festzustellen [1,9,11]. Zur Analyse der flüchtigen Whisky-Komponenten wurde eine Probennahme unter Einsatz der sog. *Stir Bar Sorptive Extraction* (SBSE) entwickelt. Durch Immersion eines mit einem Polymermaterial beschichteten Rührfischs (Twister®, Gerstel GmbH & Co. KG, Mühlheim a. d. R., DE) in die Probe reichern sich die Analyten im Sorbens an [12]. Unterschiedliche Studien nutzten diese Methode bereits zur Analyse flüchtiger (Aroma-)verbindungen in alkoholischen Getränken [2,13,14]. Im Sinne der Entwicklung effizienter Methoden zur Bewertung des Whisky-Aromas werden neben einer automatisierten Auswertung entsprechende Probenaufarbeitungsmethoden gewählt. Bei Einsatz einfacher Aufarbeitungs- und Analysemethoden soll zugleich eine hohe Datenqualität gewährleistet werden. Am Anwendungsbeispiel des Whiskys ist hier die Abbildung von für das Aroma relevanten Verbindungen entscheidend, da nur so durch die automatisierte Auswertung eine Bewertung der Probe plausibel wird. Die Darstellung einer möglichst großen Anzahl an Verbindungen bei gleichzeitig ausreichender Trennleistung bzw. der Optimierung von Möglichkeiten zur Datenaufarbeitung ist dabei ein wichtiges Ziel. Die Parameter der Probenahme sollen somit anhand der Eignung zur effizienten Abbildung relevanter Verbindungen bewertet werden.

Methoden und Materialien

Methodenauswahl und Probenaufarbeitung

Es wurden drei verschiedene, kommerziell erhältliche Whiskys (2 Scotch, 1 Bourbon) analysiert. Der Alkoholgehalt der Scotch Whiskys betrug 40,0 % vol., der des Bourbon 50,5 % vol. Zur besseren Vergleichbarkeit wurde letzterer mit Trinkwasser auf 40 % vol. verdünnt. Anschließend wurde jeweils 1 mL der Proben mit deionisiertem Wasser auf 5 mL aufgefüllt. Hiervon wurden 2 mL für die Analyse entnommen.

Zur Anreicherung der Aromastoffe wurden mit PDMS beschichtete Twister® (Gerstel GmbH & Co. KG, Mühlheim a. d. R., DE) mit einer Länge von 1 cm und 0,5 mm Schichtdicke verwendet. Diese wurden zunächst unter Stickstoffstrom bei 280 °C für 1 h konditioniert. Anschließend wurden

die Twister® blind vermessen, um die Probenmessungen entsprechend abzugleichen.

Die Proben wurden in ein Glasgefäß mit Schraubverschluss gegeben und für 1 h mit jeweils einem Twister extrahiert. Im Anschluss wurden die Twister® aus der Probe entnommen, kurz in deionisiertes Wasser getaucht und anschließend mit einem fusselfreien Tuch getrocknet. Die Twister® wurden bis zur Messung in einem GC-*Vial* aufbewahrt.

Vergleichsproben

Zur Überprüfung der Peakerkennung und –identifizierung wurde ein Gemisch aus acht Aromastoffen angesetzt und mittels GC-MS analysiert. Hierfür wurde eine Lösung von 3-Methylbutanol, Ethyl-Hexanoat, Ethyl-Nonanoat, Ethyl-Decanoat, 2-Phenylethanol, γ-Nonalacton und 2-Methoxyphenol (jeweils Sigma-Aldrich, Steinheim, DE) sowie Vanillin (ABCR, Karlsruhe, DE) mit Konzentrationen im Bereich von ca. 2 – 5 µg/mL in Dichlormethan (DCM) angesetzt.

GC-MS Messungen

Die GC-MS Messungen wurden an einem Trace GC Ultra und DSQ II MS (jeweils Thermo Fisher Scientific GmbH, Dreieich, DE) durchgeführt. Zur Auftrennung der Analyten wurde eine DB-FFAP Säule (22 m x 0,25 mm, Schichtdicke 0,25 µm; J & W Scientific, Agilent Technologies, Waldbronn, DE) mit vorgeschalteter Vorsäule (unbeschichtete, *fused silica* Säule 3-5 m x 0,53 mm) eingesetzt. Die Ofentemperatur des GC wurde zu Beginn für 2 Minuten auf 40°C gehalten, anschließend mit 8°C/min auf 235°C hochgeheizt und für 5 Minuten gehalten. Die Temperatur der *Transfer Line* zum MS wurde auf 250 °C gesetzt, das MS wurde im EI (*electron ionization*)-Modus bei 70 eV betrieben, die Temperatur der Ionenquelle wurde auf 200°C eingestellt. Die Detektion erfolgte im *Full Scan* Modus (m/z Bereich 35-399).

Die Twister® wurden zur Übertragung der Analyten in das GC-MS System in vorkonditionierte Glas-Desorptionsröhrchen gegeben, welche mit einem entsprechenden Transportadapter verschlossen wurden. Für die Ermittlung der RI-Werte wurden 2 µL eines Alkangemischs (C_6-C_{26}) in DCM in ein *Micro-Vial* Einsatz pipettiert, welches in ein Desorptionsröhrchen gegeben wurde. Die Thermodesorption der Proben wurde mithilfe einer *Thermal Desorption Unit* (TDU; Gerstel GmbH & Co. KG, Mühlheim a. d. Ruhr, DE) durchgeführt. Die Starttemperatur betrug 40°C, wobei zunächst ein *solvent vent* (0,5 min, 40°C) eingestellt wurde. Anschließend wurde die TDU mit einer Geschwindigkeit von 120°C/min auf 280°C erhitzt und dort 5 bzw. 8 min gehalten. Der Heliumfluss über die TDU wurde auf 50 mL/min eingestellt. Die Analyten wurden auf das Kaltaufgabesystem (KAS 3, Gerstel GmbH & Co. KG, Mühlheim a. d. Ruhr, DE) überführt (270°C) und dort mittels Cryo-Kühlung bei -50°C fokussiert. Anschließend wurde das KAS mit einer Rate von 12°C/s auf 280°C hochgeheizt.

Die Vermessung der Vergleichsproben erfolgte auf dieselbe Weise, indem 3 µL der Lösung in ein *Micro-Vial* Einsatz eines Desorptionsröhrchens pipettiert und analysiert wurden.

Experten-Auswertung mit AMDIS

Die qualitative Auswertung der GC-MS Daten erfolgte unter Verwendung der AMDIS Software (Version 2.73, 2017). Über das Programm wurden unter Verwendung entsprechender Alkanmessungen die RI-Werte der durch die Software erkannten Komponenten ermittelt und automatisch mit einer hauseigenen, mittels AMDIS erstellten, RI-/MS Aromastoff-DB mit rund 700 Verbindungen abgeglichen. Diese DB wird fortlaufend um relevante Analyten ergänzt, um eine möglichst hohe Identifizierungsquote zu erreichen. Dazu wurden gezielt Literaturdaten für Whisky ausgewertet und entsprechende Verbindungen ergänzt. Im Rahmen der Auswertung wurden die extrahierten Spektren zusätzlich mit der NIST-DB (Version 2.3, 2017) abgeglichen. Bei der Auswertung durch den Experten mittels AMDIS wurden verschiedene Faktoren berücksichtigt: Abweichung des RI-Wertes, Reinheit nach AMDIS, *net match factor* nach AMDIS und *match factor* nach NIST. Die zur Beurteilung angewandten Grenzwerte finden sich in Tab. 1.

Vergleich mit Literaturdaten

Um einen Überblick über häufig auftretende bzw. relevante flüchtige Verbindungen in Whisky zu schaffen, wurden Literaturdaten ausgewertet. Anhand von 21 Berichten [1,8–11,13,15–29] zur Beschreibung sowie Untersuchung von Whisky wurde eine applikationsspezifische DB volatiler Komponenten zusammengestellt, welche entsprechend ihrer Häufigkeit kategorisiert wurden. Dies beinhaltet Studien zur Analyse von Whisky, u.a. unter Einsatz unterschiedlicher Probenaufarbeitungstechniken, darunter SBSE [13,16,22], *Solid Phase Microextraction* (SPME; bspw. [11,13]) sowie eine umfassende Beschreibung des Whisky-Aromas im Rahmen der Darstellung des Whisky-Flavour Wheels [26]. Beschrieben wurden dabei verschiedene Sorten Whisky: Scotch [9–11,13,15–18,20–25,27–29], Irish Whiskey [24] sowie Bourbon / American Whiskey [1,9]. Die Verbindungen wurden gemäß der Häufigkeit ihrer Nennung kategorisiert. Kategorie 1 umfasst Analyten mit einer Häufigkeit von mind. 11 aus 21, Kategorie 2 beinhaltet alle

Verbindungen, welche mindestens sechsmal genannt wurden. Kategorie 3 umfasst entsprechend alle übrigen Analyten. Diese Vorgehensweise soll einen Überblick über häufig auftretende Verbindungen in Whisky geben. Verschiedene Faktoren sind jedoch zu beachten, wie u.a. anzunehmende Unterschiede zwischen verschiedenen Whisky-Sorten, die Fokussierung einiger Studien auf bestimmte Zielsetzungen (bspw. Analyten bzw. Aromamerkmale) und entsprechend nicht ganzheitliche Bewertung [20,21] sowie das Vorhandensein von nicht-aromaaktiven Verbindungen. Entsprechend wurde Kategorie 1 auf eine Häufigkeit von etwas über 50 % (11 aus 21) festgelegt.

Automatisierte Auswertung

Aus dem bereitgestellten Chromatogramm wurden Intensitätsmatrizen extrahiert, d. h. eine Matrix der Form *Anzahl der Scans x Bereich der m/z* . Danach wurde der Dekonvolutions-Algorithmus von Biller & Biemann [30] angewandt, um mit Hilfe der PyMS-python Bibliothek [31] eine erste Anzahl von erkannten Peaks zu erhalten. Diese Erkennungen bestehen jedoch aus einer großen Menge Rauschen und diese unerwünschten Peaks müssen daher entfernt werden.

Das Rauschen wird geschätzt und entfernt, indem ein gleitendes Fenster mit einem Schwellenwert verwendet wird, gefolgt von der Definition der minimalen Peak-Prominenz, die in diesem Fenster erforderlich ist. Dies ermöglicht die Unterscheidung zwischen dem tatsächlichen Peak und dem Rauschen. Zu diesem Zweck wurde die Python-Bibliothek SciPy verwendet [32].

Für die Berechnung der RI-Werte müssen jedoch Alkan-Referenzen angegeben werden. Das Verfahren zum Erkennen von Alkanen ist das gleiche wie oben beschrieben. Zur Identifizierung der Peaks, die aus den Chromatogrammen der Alkane herausgefiltert wurden, wird C17 aufgrund seiner erwarteten Lage und einer geringeren erwarteten Amplitude als Unterscheidungspeak verwendet, sodass andere Alkane identifiziert werden können, wenn dieser Peak bekannt ist.

Für die Identifikation unbekannter Spektren durch DB-Abgleich wurde auf bewährte Metriken zum Vergleich von MS zurückgegriffen. Unter anderem waren das die Pearson-Korrelation, Kosinus-Ähnlichkeit (auch *dot product* [33]) sowie der „*similarity score*“ (SIM [34]). In einer gewichteten Verlustfunktion wurde die Ähnlichkeit zweier MS mit dem Unterschied des RI der bekannten MS in der DB und dem des unbekannten Moleküls wie folgt verrechnet (Gl. 1):

$$\text{loss} = \frac{2 \cdot (1 - \text{score}) + \text{abs}\left(\frac{RI_{db} - RI_{unk}}{RI_{unk}}\right)}{3} \quad \text{(Gl. 1)}$$

Hierbei ist *loss* die Abweichung von einer perfekten Übereinstimmung (1), *score* ist der Ähnlichkeitswert zwischen zwei MS (unbekanntes MS und DB-Eintrag), und RI_{db} bzw. RI_{unk} jeweils der RI-Wert in der DB und der des unbekannten Analyten. Als DB wurde wie auch bei der Experten-Auswertung mittels AMDIS dieselbe hauseigene RI/MS-DB hinzugezogen. Fehlende RI-Werte wurden über einen *polynomial fit* auf die RI-Werte der ermittelten Peaks bzw. deren Retentionszeiten extrapoliert.

Ergebnisse und Diskussion

Flüchtige Verbindungen in Whisky

Anhand der gesichteten Literaturdaten wurden die im Zusammenhang mit Whisky genannten Verbindungen aufgelistet und kategorisiert, um eine applikationsspezifische DB zu erstellen. Insgesamt wurden so ca. 320 Verbindungen zusammengetragen. Dabei konnten nach bestmöglicher Zuordnung der in der Literatur aufgeführten Verbindungen und deren Bezeichnungen 34 Analyten Kat. 2 und hiervon 8 Verbindungen Kat. 1 zugeordnet werden. Im Rahmen der Auswertung der analysierten Whiskys sowie der Bewertung der Darstellung relevanter Whisky-Komponenten wurden diese als häufige Verbindungen berücksichtigt. Die betrachteten Verbindungen der Kat. 1 sind bis auf wenige Ausnahmen in der hauseigenen DB implementiert und sollten daher mithilfe der Experten-Auswertung über AMDIS wiedergefunden werden.

Identifizierung von Aromastoffen in Whisky-Proben

Die Experten-Auswertung der Whisky-Proben mithilfe von AMDIS ergab eine Vielzahl verschiedener Aromakomponenten. Betrachtet wurde dabei der RI-Bereich zwischen 1100 und 2600. Die einzelnen Analyten wurden entsprechend ihrer Wahrscheinlichkeit der Identifizierung bewertet. Als mit hoher Wahrscheinlichkeit identifiziert wurden Verbindungen bezeichnet, die im Rahmen der Auswertung mit AMDIS die in Tab. 1 aufgeführten vier Kriterien in Kombination erfüllten. Während die RI-Abweichung sowie der NIST-Abgleich und die AMDIS *purity* jeweils einen Faktor beschreiben (RI bzw. MS-Übereinstimmung), nehmen zur Ermittlung des AMDIS *net match factor* mehrere Parameter Einfluss [6,35].

Darüber hinaus wurden weitere Verbindungen bei nicht-Erfüllen eines bzw. mehrerer Kriterien bis zu entsprechenden eigens festgelegten Grenzwerten als mit mäßiger Wahrscheinlichkeit identifiziert eingestuft. Analyten, welche bereits im Blindwert detektiert wurden, wurden bei der Bewertung ausgeschlossen. Des Weiteren wurden Verbindungen, bei welchen keine eindeutige Unterscheidung zwischen

Isomeren getroffen werden konnte, höchstens als mit mäßiger Wahrscheinlichkeit identifiziert gewertet. Insgesamt wurden damit in den drei analysierten Whiskys 12 (Scotch), 8 (Scotch) bzw. 11 (Bourbon) Verbindungen mit hoher Wahrscheinlichkeit identifiziert. Weitere 20 (Scotch) bzw. 15 (Scotch) und 16 (Bourbon) Analyten wurden anhand der in Tab. 1 aufgeführten Parameter mit mäßiger Wahrscheinlichkeit identifiziert.

Tab. 1: Bewertungsparameter mit AMDIS

Parameter	**Hohe Wahrscheinlichkeit der Identifikation**	**Mäßige Wahrscheinlichkeit der Identifikation**
RI-Abweichung	+/- 20	+/- 25
AMDIS *net match factor*	≥ 80	≥ 60
NIST *match factor*	≥ 800	≥ 700
Purity (AMDIS)	≥ 20	≥ 5

Der Vergleich mit Literaturdaten zeigt, dass in den drei untersuchten Whiskys einige der häufig in Whisky festgestellten Verbindungen (Kategorie 2) mit mäßiger bzw. hoher Wahrscheinlichkeit identifiziert wurden. Zu den mit hoher Wahrscheinlichkeit identifizierten Verbindungen zählen insbesondere einige Ethyl-Ester, wie Ethyl-Octanoat, -Nonanoat und –Decanoat. Zu den mit mäßiger Wahrscheinlichkeit identifizierten Analyten zählen u.a. 3-Methylbutanol, 2-Phenylethylacetat, Whiskey-Lacton, Vanillin, Guajacol und Eugenol. Abb. 1 zeigt beispielhaft das Chromatogramm einer Whisky-Probe.

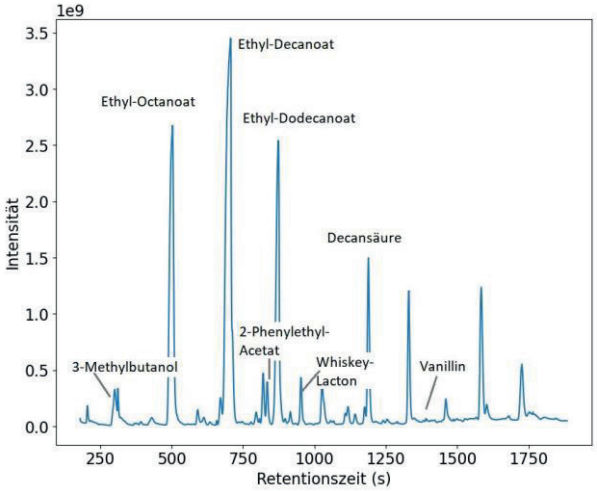


Abb. 1: GC-Chromatogramm und Ergebnis der Auswertung einer Whisky-Probe mittels AMDIS unter Angabe einiger mit hoher/mäßiger Wahrscheinlichkeit identifizierter Analyten.

Insbesondere Verbindungen im oberen Flüchtigkeitsbereich bzw. unteren RI-Bereich (< 1100), konnten in den vorliegenden Proben nicht identifiziert werden.

Bewertung der gewählten Probenaufarbeitung

Die Auswertung der GC-MS Daten der drei Whiskys zeigt, dass mithilfe der gewählten Probenaufarbeitungsmethode SBSE unter Einsatz von PDMS-beschichteten Twistern® bei geringem zeitlichen Aufwand eine große Zahl von Aromastoffen aus den Proben extrahiert und analysiert werden kann. Unter den identifizierten Molekülen finden sich Moleküle unterschiedlicher Substanzklassen und Retentionsverhalten. Unter den detektierten Verbindungen findet sich eine Vielzahl typische Whisky-Komponenten wieder. Die Chromatogramme zeigen insbesondere hohe Intensitäten der Ethyl-Ester Ethyl-Octanoat und -Decanoat. Andere Analyten, wie Vanillin und Guaiacol sowie weitere phenolische Verbindungen weisen teilweise sehr geringe Intensitäten bzw. Reinheiten laut AMDIS auf. Demnach ist weiterhin zu untersuchen, inwiefern sich eine weitere Verdünnung der Proben zugunsten geringerer Intensitäten der Ethyl-Ester und etwaiger Überlagerungen auf die Extraktion und Detektion anderer Verbindungen auswirkt. Außerdem zu berücksichtigen ist der Zusammenhang zwischen Moleküleigenschaften und Ausbeute während der Extraktion mittels PDMS. Zu vermuten ist, dass insbesondere Verbindungen mit polaren Gruppen weniger stark im PDMS-Sorbens angereichert werden. Entsprechendes zeigen die Untersuchungen von Whisky mit Twistern® unterschiedlicher Beschichtung [22].

Automatisierte Auswertung einer Vergleichsprobe

Zum Funktionsnachweis und zur Bewertung unseres Auswertealgorithmus wurde eine Vergleichsprobe untersucht, für welche die „*Ground Truth*“ bekannt ist und die Messdaten wurden mit unserem semi-automatischen Ansatz verblindet analysiert. Zum Vergleich wurden die Daten ebenfalls mit AMDIS ausgewertet. Als erfolgreich zu bezeichnen wäre unsere Methode in diesem Fall, wenn sie alle in der Vergleichsprobe vorhandenen Analyten mit hoher Sicherheit identifiziert. In der Auswertung mit unserem semi-automatischen Ansatz konnten alle vorhandenen Analyten zuverlässig identifiziert werden, die auch in AMDIS gefunden wurden. Hierbei war es ausreichend, einen Grenzwert von 0.95 zu definieren, über dem die jeweilige Konfidenz lag (*1-loss*), wie in Tab. 2 dargestellt. Für die Substanzen in der relativ einfachen Matrix der Vergleichsprobe wird durchgängig eine wesentlich bessere Konfidenz ermittelt, dennoch könnte bei realen

Proben ein solch hoher Grenzwert in manchen Fällen zu hoch angesetzt sein und dazu führen, dass der Peak nicht identifiziert werden kann.

Die Peak-Erkennung und –Zuordnung im Chromatogramm ist in Abb. 2 dargestellt. Zu berücksichtigen ist, dass sowohl der erste als auch letzte Treffer (3-Methylbutanol und Vanillin) im Rahmen unserer automatisierten Auswertung mithilfe der RI-Extrapolation ermittelt wurde. Für den Fit anhand der ermittelten RI-Werte und Signale im Retentionszeit-Bereich der C11 bis C26 ergab sich Gl. 2 mit a = 0,00026784, b = 0,7944, c = 933,5622, RT = Retentionszeit [s]:

$$y = a \cdot RT^2 + b \cdot RT + c \qquad \text{(Gl. 2)}$$

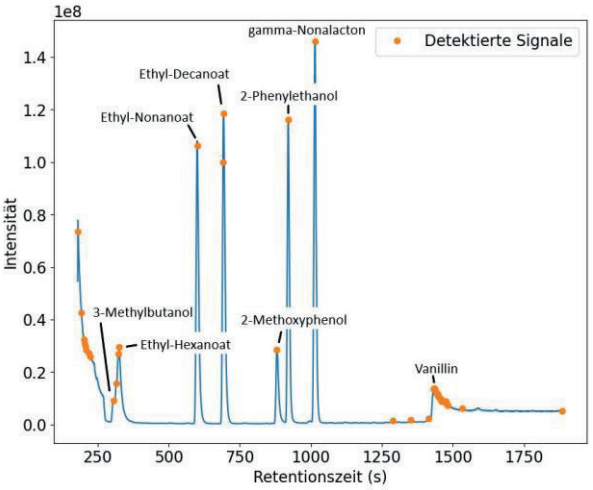


Abb. 2: Ergebnis der automatisierten Auswertung einer Vergleichsprobe mit Zuordnung der identifizierten Analyten.

Tab. 2: Ergebnis der semi-automatischen Auswertung, RT = Retentionszeit

RT (min)	Identifizierter Analyt	Konfidenz	AMDIS *net match factor*
5.102	3-Methylbutanol	0.9964	100
5.427	Ethyl Hexanoat	0.9903	78
10.015	Ethyl Nonanoat	0.9896	82
11.552	Ethyl Decanoat	0.9927	76
14.677	2-Methoxyphenol	0.9936	90
15.340	2-Phenylethanol	0.9961	80
16.903	γ-Nonalacton	0.9961	79
23.891	Vanillin	0.9633	61

Die vergleichsweise geringere Konfidenz bei der Zuordnung von Vanillin ist in beiden Fällen vermutlich auf Abweichungen zwischen ermitteltem und DB-RI zurückzuführen, was ggf. mit einer Retentionszeitverschiebung während der Analyse in Zusammenhang steht.

Trotz leichter Abweichungen in der Art, wie AMDIS MS aus Rohdaten extrahiert und in der Berücksichtigung von Unterschieden zwischen RI-Werten in Analyt und DB, sind die Ergebnisse der Auswertung der beschriebenen Vergleichsprobe eindeutig. In beiden Verfahren (Expertenauswertung mit AMDIS und hier vorgestellte automatisierte Auswertung) werden die Stoffe korrekt identifiziert. Hieraus schließen wir, dass die entwickelte Methode zur automatisierten Identifikation der Analyten im präsentierten Beispiel zumindest so gut funktioniert wie die zum Vergleich herangezogene Vorgehensweise. Die entwickelte Methode soll im nächsten Schritt mit einer breiten Stichprobe von Realproben getestet und validiert werden.

Literatur

[1] POISSON, L. ; SCHIEBERLE, P.: *Characterization of the Most Odor-Active Compounds in an American Bourbon Whisky by Application of the Aroma Extract Dilution Analysis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (2008), S. 5813–5819(14).

[2] BUCK, N. ; GOBLIRSCH, T. ; BEAUCHAMP, J. ; ORTNER, E.: *Key Aroma Compounds in Two Bavarian Gins*. *Applied Sciences*, 10 (2020), S. 7269(20).

[3] BADER, S. ; CZERNY, M. ; EISNER, P. ; BUETTNER, A.: *Characterisation of odour-active compounds in lupin flour*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89 (2009), S. 2421–2427(14).

[4] SEYFRIED, C. ; GRANVOGL, M.: *Characterization of the Key Aroma Compounds in Two Commercial Dark Chocolates with High Cocoa Contents by Means of the Sensomics Approach*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67 (2019), S. 5827–5837(20).

[5] D'ACAMPORA ZELLNER, B. ; BICCHI, C. ; DUGO, P.;. . . ; MONDELLO, L.: *Linear retention indices in gas chromatographic analysis: a review*. *Flavour and Fragrance Journal*, 23 (2008), S. 297–314(5).

[6] MALLARD, W. G.: *AMDIS in the Chemical Weapons Convention*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406 (2014), S. 5075–5086(21).

[7] STEIN, S. E.: *An integrated method for spectrum extraction and compound identification from gas chromatography/mass spectrometry data*. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 10 (1999), S. 770–781(8).

[8] OWENS, J. E. ; ZIMMERMAN, L. B. ; GARDNER, M. A. ; LOWE, L. E.: *Analysis of Whiskey by Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Coupled with Gas Chromatography/Mass Spectrometry: An Upper Division Analytical Chemistry Experiment Guided by Green Chemistry*. *Journal of Chemical Education*, 93 (2016), S. 186–192(1).

[9] JELEŃ, H. H. ; MAJCHER, M. ; SZWENGIEL, A.: *Key odorants in peated malt whisky and its differentiation from other whisky types using profiling of flavor and volatile compounds*. *LWT*, 107 (2019), S. 56–63.

[10] DAUTE, M. ; JACK, F. ; BAXTER, I.;. . . ; WALKER, G.: *Comparison of Three Approaches to Assess the Flavour Characteristics of Scotch Whisky Spirit*. *Applied Sciences*, 11 (2021), S. 1410(4).

[11] CÂMARA, J. S. ; MARQUES, J. C. ; PERESTRELO, R. M.;. . . ; CALDEIRA, M.: *Comparative study*

of the whisky aroma profile based on headspace solid phase microextraction using different fibre coatings. *Journal of Chromatography a*, 1150 (2007), S. 198–207(1-2).

[12] BALTUSSEN, E. ; SANDRA, P. ; DAVID, F. ; CRAMERS, C.: *Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: Theory and principles*. *Journal of Microcolumn Separations*, 11 (1999), S. 737–747(10).

[13] DEMYTTENAERE, J. C. ; SÁNCHEZ MARTINEZ, J. I. ; VERHÉ, R. ; SANDRA, P. ; KIMPE, N. de: *Analysis of volatiles of malt whisky by solid-phase microextraction and stir bar sorptive extraction*. *Journal of Chromatography a*, 985 (2003), S. 221–232(1).

[14] RODRÍGUEZ-OLVERA, M. G. ; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, L. I. ; QIAN, M. C. ; QIAN, Y. P. ; VAZQUEZ-LANDAVERDE, P. A.: *Implementation of Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) for the Analysis of Volatile Compounds in Tequila.* In B. Guthrie, J. D. Beauchamp, A. Büttner, S. Toth, & M. C. Qian (Hrsg.), *ACS Symposium Series: Vol. 1321. Sex, smoke, and spirits: The role of chemistry,* American Chemical Society, 2019*,* S. 311–324

[15] Mac Namara, K., McGuigan, F., & Hoffmann, A., *Aromaprofiling von Whiskey: Auf den Geschmack gekommen* Nr. 44. *Gerstel Aktuell*, (2011) S. 12–14.

[16] Nie, Y, & Kleine-Benne, E, *Gerstel AppNote 2/2012 and Stir Bar Sorptive Extraction: Determining Phenolic Compounds in Whisky using Direct Large Volume Injection*, (2012), S. 1–12.

[17] STUPAK, M. ; GOODALL, I. ; TOMANIOVA, M. ; PULKRABOVA, J. ; HAJSLOVA, J.: *A novel approach to assess the quality and authenticity of Scotch Whisky based on gas chromatography coupled to high resolution mass spectrometry*. *Analytica Chimica Acta*, 1042 (2018), S. 60–70.

[18] CAMPO, E. ; CACHO, J. ; FERREIRA, V.: *Solid phase extraction, multidimensional gas chromatography mass spectrometry determination of four novel aroma powerful ethyl esters. Assessment of their occurrence and importance in wine and other alcoholic beverages*. *Journal of Chromatography a*, 1140 (2007), S. 180–188(1-2).

[19] CAMPILLO, N. ; PEÑALVER, R. ; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M.: *Solid-phase microextraction for the determination of haloanisoles in wines and other alcoholic beverages using gas chromatography and atomic emission detection*. *Journal of Chromatography a*, 1210 (2008), S. 222–228(2).

[20] WANIKAWA, A. ; HOSOI, K. ; TAKISE, I. ; KATO, T.: *Detection of gamma-Lactones in Malt Whisky*. *Journal of the Institute of Brewing*, 106 (2000) S. 39–43.

[21] BOOTHROYD, E. ; LINFORTH, R. S. ; JACK, F. ; COOK, D. J.: *Origins of the perceived nutty character of new-make malt whisky spirit*. *Journal of the Institute of Brewing*, 120 (2014), S. 16–22(1).

[22] Nie, Y, & Kleine-Benne, E, *Gerstel App Note 3/2011: Using Three Types of Twister Phases for Stir Bar Sorptive Extraction of Whisky, Wine and Fruit Juice*, (2011)

[23] CALDEIRA, M. ; RODRIGUES, F. ; PERESTRELO, R. ; MARQUES, J. C. ; CÂMARA, J. S.: *Comparison of two extraction methods for evaluation of volatile constituents patterns in commercial whiskeys Elucidation of the main odour-active compounds*. *Talanta*, 74 (2007), S. 78–90(1).

[24] FITZGERALD, G. ; JAMES, K. J. ; MACNAMARA, K. ; STACK, M. A.: *Characterisation of whiskeys using solid-phase microextraction with gas chromatography–mass spectrometry*. *Journal of Chromatography a*, 896 (2000), S. 351–359(1).

[25] LEE, K.-Y. M. ; PATERSON, A. ; BIRKMYRE, L. ; PIGGOT, J. R.: *Headspace Congeners of Blended Scotch Whiskies of Different Product Categories from SPME Analysis*. *Journal of the Institute of Brewing*, 107 (2001)(5), S. 315–332.

[26] LEE, K.-Y. M. ; PATERSON, A. ; PIGGOT, J. R.: *Origins of Flavour in Whiskies and a Revised Flavour Wheel: A Review*. *Journal of the Institute of Brewing*, 107 (2001)(5), S. 287–313.

[27] MALL, V. ; SCHIEBERLE, P.: *Decoding the Unique Peaty Aroma of Islay Scotch Single Malt Whisky by Means of the Sensomics Concept.* In B. Siegmund & E. Leitner (Hrsg.), *Flavour Sci*. Verlag der Technischen Universität Graz, 2018 S. 83-86

[28] PRYDE, J. ; CONNOR, J. ; JACK, F.;. . . ; WOODS, J.: *Sensory and Chemical Analysis of 'Shackleton's' Mackinlay Scotch Whisky*. *Journal of the Institute of Brewing*, 117 (2011)(2), S. 156–165.

[29] WILLIAMS, A. A. ; TUCKNOTT, O. G.: *The volatile components of Scotch whisky*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 23 (1972), S. 1–7(1).

[30] BILLER, J. E. ; BIEMANN, K.: *Reconstructed Mass Spectra, A Novel Approach for the Utilization of Gas Chromatograph—Mass Spectrometer Data*. *Analytical Letters*, 7 (1974), S. 515–528(7).

[31] O'CALLAGHAN, S. ; SOUZA, D. P. de ; ISAAC, A.;. . . ; LIKIĆ, V. A.: *Pyms: A Python toolkit for processing of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) data. Application and comparative study of selected tools*. *BMC Bioinformatics*, 13 (2012), S. 115(1).

[32] VIRTANEN, P. ; GOMMERS, R. ; OLIPHANT, T. E.;. . . ; VAN MULBREGT, P.: *Scipy 1.0: Fundamental algorithms for scientific computing in Python*. *Nature Methods*, 17 (2020), S. 261–272(3).

[33] STEIN, S. E. ; SCOTT, D. R.: *Optimization and testing of mass spectral library search algorithms for compound identification*. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 5 (1994), S. 859–866(9).

[34] YEN, C.-Y. ; HOUEL, S. ; AHN, N. G. ; OLD, W. M.: *Spectrum-to-spectrum searching using a proteome-wide spectral library*. *Molecular & Cellular Proteomics : MCP*, 10 (2011), M111.007666(7).

[35] MALLARD, W. G. ; REED, J ; D'ARCY, P.: *AMDIS User Guide: Automated Mass Spectral Deconvolution & Identification System.* NIST, (2004)

Danksagung

Wir bedanken uns beim Bayerischen Staatsministerium für Wirtschaft, Landesentwicklung und Energie für die Förderung im Rahmen des Projekts „Campus der Sinne“.

DOI 10.5162/15dss2021/P6.1

Sensorik zur bodenfeuchteabhängigen Saatgutablage

Wolfgang Fichtner[1], Peter Zimmermann[2], Dieter Horlacher[3], Heinz Friedrich Schönleber[3] und Michael Mertig[1]

[1]Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim, Deutschland
[2]TEB, Berlin, Deutschland
[3]LWB Heinz Friedrich Schönleber e.K., Niederstriegis, Deutschland
Kontakt: wolfgang.fichtner@ksi-meinsberg.de

Einleitung

Die optimale Ablagetiefe für Saatgut hängt hinsichtlich der Keimfähigkeit stark von der Bodenfeuchte ab. Bedingt durch Witterungs- und Standortvariationen sind hier erhebliche lokale Schwankungen möglich. Durch eine optimale Einstellung der Ablagetiefe lassen sich Nachteile hinsichtlich des Pflanzenwachstums vermeiden. Ist beispielsweise die Kornablage zu hoch, erfolgt eine verzögerte Keimung im Saatbeet; ist dementgegen die Kornablage zu tief, führt dies zu einem erhöhten Treibstoffverbrauch durch größere Arbeitstiefe und zu Nachteilen für die Keimung.

Treten auf einem Feld große Schwankungen der Bodenfeuchte auf, können durch eine teilflächenspezifische Variation der Bodenbearbeitung und insbesondere durch die Optimierung der Ablagetiefe des Saatguts die o.g. Nachteile (Abb. 1) minimiert werden.

Der Beitrag stellt eine Messtechnik für Bodenfeuchte zum *On-board*-Betrieb auf der Drillmaschine und deren Erprobung dar. Das KSI Meinsberg verfügt über langjährige Erfahrungen bei der Impedanzmessung in unterschiedlichen Medien, insbesondere bei der Erfassung des Feuchtegehaltes in Bodenmaterialien [1]. Die Sensorik ist in ein Gesamtsystem integriert, bei dem die zugehörige Aktorik über einen elektrischen Stellmotor die für die überfahrene Teilfläche optimale Bearbeitungstiefe einstellt. Der Feuchtegrad wird simultan elektrisch (Leitfähigkeit/Impedanz) während der Bearbeitung vor Ort gemessen. Hierbei fungieren elektrisch isolierend gelagerte Drillscheiben als Elektroden für die Messung der Bodenfeuchte. Die Messung erfolgt im Bereich des Bodens zwischen



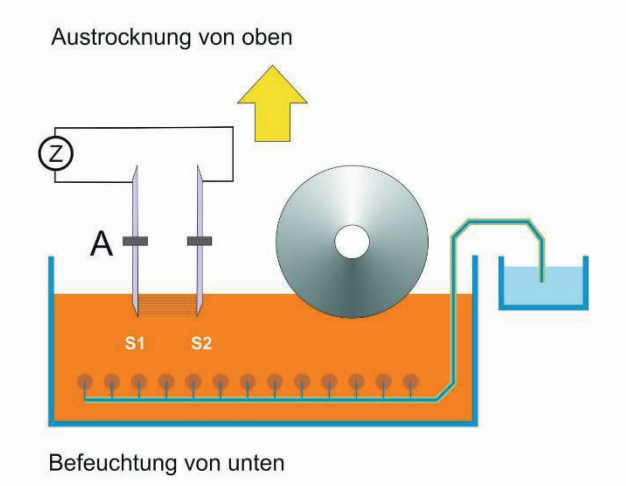
vier Drillscheibenpaaren.

Abb. 1: Acker mit stark unterschiedlich ausgeprägter Keimung der Jungpflanzen.

Messmethoden und Versuchsanordnungen

Laboruntersuchungen

Für die Laborversuche zur Entwicklung der Messmethode wurden reale Bodenproben beschafft und charakterisiert. Mittels gravimetrischer Feuchtebestimmung wurde der Absolutgehalt des enthaltenen Wassers bestimmt. Für die folgenden Versuche wurde die vorgegebenen Bodenfeuchte durch Zugabe einer definierten Wassermenge eingestellt. Zunächst wurden orientierende Impedanzmessungen zur Abschätzung des zu erwartenden Messeffektes an Edelstahlelektrodenblechen (400 mm Elektrodenabstand, 95 mm x 95 mm Elektrodenfläche) durchgeführt. Als Impedanzmessgerät wurde ein Potentiostat *Interface 1000* von *Gamry Instruments* eingesetzt. Die Laborversuche erfolgten in Ackerboden, der in eine ca. 20 dm^3 fassende Versuchsbox eingebracht war. Gleichartige mit Erde gefüllte Versuchsboxen wurden auch für die Impedanzmessungen an Drillscheiben (Durchmesser 330 mm, gebrauchte Exemplare von Originalmaschine) eingesetzt. Dabei wurden die im Erdreich positionierten Scheiben mittels Festkontaktierungen bei drei verschiedenen Feuchtewerten untersucht (Abb. 2). Die Variation der Feuchtewerte erfolgte durch gezielte Befeuchtung bzw. durch Ver-



dunstung über die Bodenoberfläche.

Abb. 2: Laboraufbau zur Untersuchung der Messmethodik in realen Bodenproben variabler Feuchte.

Die Erfassung kompletter Impedanzspektren im Bereich von 1 Hz bis 100 kHz erfolgte an ruhenden sowie an bewegten Elektroden (oszillierende Bewegung mit einer Geschwindigkeit von ca. 0,2 m/s) in der Messbox.

Messungen im Versuchsbeet

Zur Simulation eines Ackers mit vorgegebenen, konstanten Eigenschaften wurde ein separates Versuchsbeet aufgebaut. Daraus folgen einige wesentliche Vorteile: reproduzierbare und definierte Bodenverhältnisse, u.a. gleichmäßige und homogene Bodenbeschaffenheit, sowie Unabhängigkeit von großer Trockenheit (Mai bis August 2020) auf dem Realacker. Konstruktiv besteht das Versuchsbeet aus einer Mulde von 5 m x 1 m im Holzrahmen, gefüllt mit ca. 20 cm Ackerboden. Das Versuchsbeet kann zum Verdunstungs- und Niederschlagsschutz gegenüber Umwelteinflüssen abgedeckt werden. Über dem Beet operiert auf seitlichen Fahrbahnen zur Vermeidung separater Bodenverdichtung durch Antriebsräder ein selbstfahrender, elektrisch angetriebener Messwagen. Während der 4 m langen Überfahrten in zwei Richtungen (Vor- und Rückfahrt) werden auf den mitgeführten Messgeräten ortsaufgelöste Signalverläufe aufgezeichnet. Am Fahrgestell des Messwagens ist ein Drillscheibenpaar mit einstellbarem Scheibenabstand und einstellbarer Eindringtiefe in das Erdreich montiert (Abb. 3).



Abb. 3: Versuchsbeet, hier mit alternierenden Feuchtebereichen und dem Messwagen mit einem Drillscheibenpaar (links).

Zunächst wurden die Messparameter für den Einsatz des Potentiostaten *Gamry Interface 1000* optimiert (AC-Amplitude, Messfrequenz, Abtastrate). Es wurden die Ergebnisse zweier Messmodi (potentiostatisch: 100 mV konstante Spannungsamplitude und galvanostatisch: 1 mA konstante Stromamplitude) miteinander verglichen. Zur Quantifizierung des Rauschverhaltens wurde das Rauschsignal PECN (*Potentiostatic Electrochemical Noise*) bei Variation der Signalamplitude von 0,1 V bis 3 V erfasst. Daraus wurde jeweils ein Signal-zu-Rausch-Verhältnis ermittelt.

Mit den zuvor optimierten Geräteeinstellungen wurden Impedanzspektren bei einem Scheibenabstand von 10 cm und 15 cm gemessen. Die Scheibentiefe betrug wahlweise 2 cm, 4 cm, 6 cm, 8 cm und 10 cm. Zur Simulation eines Niederschlageinflusses auf die Erde im Versuchsbeet wurde dieses in 1 m breiten Abschnitten mit Beregnung von 10 mm und 20 mm Wasser beaufschlagt (dunkle Bodenbereiche in Abb. 3). Das Zeitsignal der Impedanzwerte wurde im Messmodus EISMON (Single Frequency Electrochemical Spectroskopy Monitoring) bei Festfrequenz 700 Hz erfasst. Bei Überfahrt mit einer geradlinig gleichförmigen Geschwindigkeit kann dem Zeitsignal eine Ortskoordinate x zugeordnet werden.

Ergänzend zu den Untersuchungen mit dem Labormesssystem von *Gamry* wurde mit einer mobilen und für den späteren Feldeinsatz vorgesehenen Elektronik (RCL-Meter *Peaktech 2170*) gemessen. Die festeingestellte Messfrequenz betrug 1 kHz. Ein Mikrorechner RaspberryPI erfasste permanent die Messwerte, führte mittels spezieller Software eine Signalbearbeitung durch und speicherte die berechneten Daten in ein Messfile. Zur Kontrolle des Messvorganges wurden die Daten simultan auf einem mitgeführten Monitor dargestellt. Die Kontaktierung der Messscheiben erfolgt auch hier über Federschleifringe und Messleitungen per Kelvinklemme.

Ackerdreirad

Für die Erprobung der sensorischen Komponenten und der Messelektronik im Feldeinsatz wurde ein Dreirad entwickelt und gebaut. Das Fahrgestell verfügt über standardisierte Aufnahmepunkte für den Frontanbau an einem Traktor (Abb. 4). Damit kann der Wagen vor dem Traktor über den Acker geschoben werden. Kleine Lenkbewegungen mit großen Radien werden durch einen seitlichen Schlupf realisiert. Beim Richtungswechsel am Feldrand wird der Wagen zum mechanischen Schutz der Messscheiben von der Fronthydraulik ausgehoben und in der neuen Fahrtrichtung wieder eingesetzt.

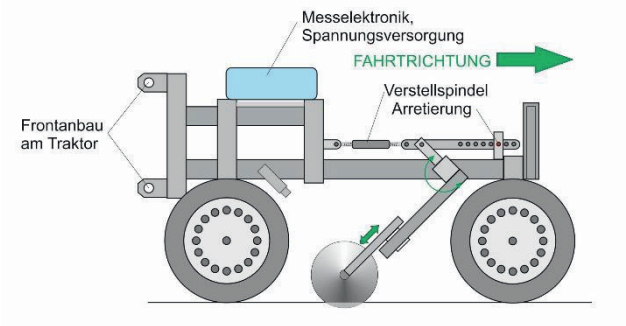


Abb. 4: Ackerdreirad zum Frontanbau an einen Traktor während des Drillvorgangs (schematisch).

Das Dreirad verfügt über einen Hilfsrahmen zur Verstellung für 4 Scheibenpaare (Abb. 5). Damit wird auch ein gleichzeitiges Anheben aller Scheibenpaare bei Bewegung und Abstellen des Dreirades auf festem Untergrund ermöglicht. Im Messbetrieb auf dem Acker ragen die Unterkanten der Scheiben gemäß der eingestellten Eindringtiefe 4 cm bis 10 cm in den Boden hinein.

Eine besondere konstruktive Anforderung sind die hohen vertikalen Anpresskräfte der Scheiben, die bei trockenen Böden und hohen Arbeitsgeschwindigkeiten im Bereich von 500 N pro Einzelscheibe liegen können. Entsprechend robust ist die flexible Lagerung der Scheibenpaare ausgelegt. Gleichzeitig muss in allen Fahrzuständen die sichere und verschmutzungsfreie Kontaktierung der Messschei-

ben gewährleistet sein. Dazu wurde eine komplett vor Wasser und Staub dicht gekapselte Lagerung mit elektrischer Kontaktierung per innenliegender Bronzekohleschleifbürste realisiert.

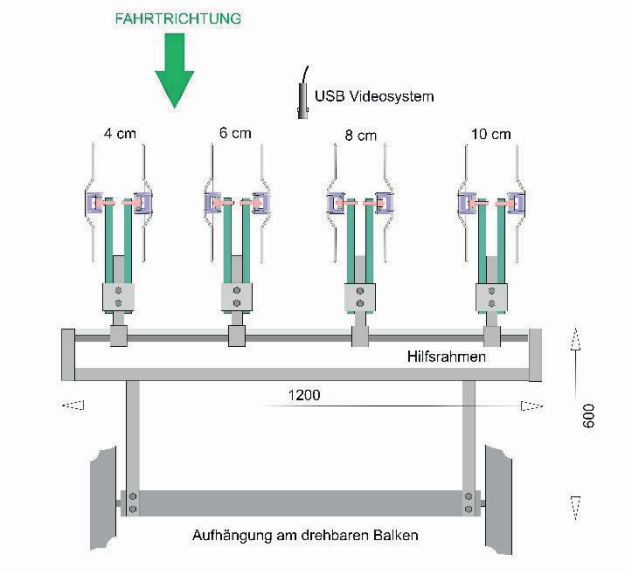


Abb. 5: Detailansicht der Scheibenanordnung im Hilfsrahmen des Ackerdreirades (Draufsicht schematisch).

Ergebnisse

Messungen im Versuchsbeet

Die Versuche mit dem Messwagen auf dem Versuchsbeet zeigen, dass Scheibentiefen ≤ 4 cm ungünstig sind, da schon kleinere Bodenunebenheiten zu Kontaktunterbrechungen und damit Signalverlust führen. Bei 6 cm bis 8 cm Eindringtiefe liegen optimale Verhältnisse vor. Bei 10 cm Eindringtiefe wurden die Fahrwiderstände so gross, dass mit dem Antrieb des Messwagens eine gleichmäßige Geschwindigkeit nicht gewährleisten werden konnte. Der Messscheibenabstand beeinflusst erwartungsgemäß die absoluten Werte der Impedanz. Eine Vergrößerung des Abstandes führt zu einer Abnahme der Signalströme, was insbesondere bei trockenen Bodenverhältnissen und Signalamplituden unter 100 mV begrenzend hinsichtlich eines akzeptablen Signal-zu-Rausch-Abstandes sein kann. Scheibenanstände unterhalb von 100 mm sind auf einem Acker nicht praktikabel, da hierbei die Gefahr der Verklemmung mit Erdklumpen zwischen den Elektrodenscheiben steigt. Bei den Messungen im Versuchsbeet zeigte ein Scheibenabstand von 150 mm optimales Verhalten.

Zur Verifizierung der Ortsauflösung des Messsystems bei Überfahrt über inhomogen beschaffene Feldbereiche wurden im Versuchsbeet Niederschläge simuliert. Ein beispielhaftes Ergebnis ist im Diagramm (Abb. 6) gezeigt. Die feuchten Bodenbereiche (20 mm Niederschlag) führen zu zwei Plateaus deutlich abgesenkter Impedanzwerte zwischen 500 – 700 Ω, während die trockenen Bodenbereiche dazwischen Werte bei ca. 3000 Ω zeigen.

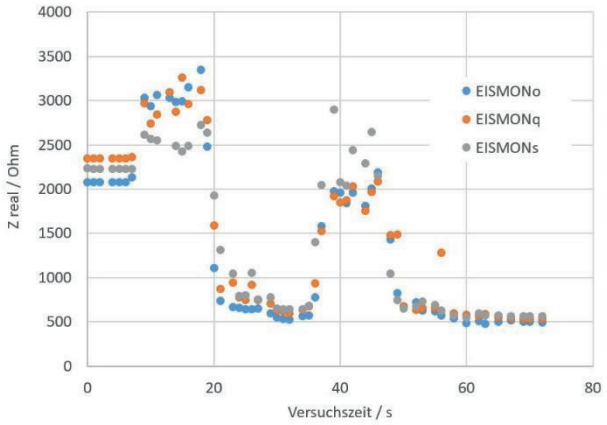
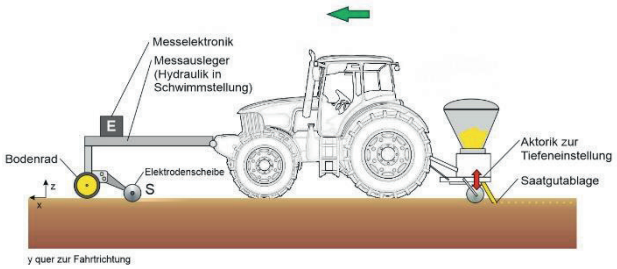


Abb. 6: Impedanzwerte bei 700 Hz von drei Überfahrten am Versuchsbeet mit 8 cm Scheibentiefe.

Erprobung Ackerdreirad

Die zwischen den Partnern abgestimmte Konzeption des geplanten Feldeinsatzes der feuchteabhängigen Saatgutablage ist in Abb. 7 dargestellt. Dabei werden die notwendigen sensorischen Komponenten im Frontanbauraum des Traktors montiert. Die von der Bordhydraulik realisierte schwimmende Lagerung bewirkt, dass die Messscheiben dem gegebenen Bodenprofil folgen und die eingestellte Eindringtiefe einhalten. Die Drillmaschine mit aktiver Höhenregelung ist im Heckanbauraum des Traktors montiert. Die Länge Δx zwischen Messscheiben und Drillscheiben führt bei einer gegebenen Fahrtgeschwindigkeit



zu einer maximal möglichen Zeitspanne für eine Reaktionszeit des Regelkreises im Bereich von ca. 1 s. Die Reaktionszeit setzt sich dabei zusammen aus der Signalverarbeitungszeit der Messelektronik und der Einstellzeit der Drillscheibenverstellung.

Abb. 7: Konzeption der Komponenten für die bodenfeuchteabhängige Saatgutablage.

Die Impedanzmessungen in den Laborversuchen bei variierender Eindringtiefe der Drillscheiben zeigten, dass eine Beseitigung von Scheibenbelag bzw. Scheibenlackierung

vor der Messung erforderlich ist. Im laufenden Messbetrieb wird eine Säuberung durch den Abrieb im Erdreich permanent gewährleistet. Grobe Rostansätze (tritt bei dem verwendeten hochwertigen Edelstahlmaterial der Scheiben bei sachgemäßer Einlagerung der Drillmaschine nur selten auf) oder Verschmutzungen sind vor einer Messfahrt zu entfernen.

Die Tests zur Scheibenlagerung mittels Kugellager zeigten mechanisch zufriedenstellende Ergebnisse, während die Kugellager als konstruktive Elemente zur Potentialübertragung ungeeignet sind. Der Schmierfilm aus Öl oder Fett im bewegten Lager führt zu einer stark verrauschten Signalübertragung. Zur Gewährleistung eines störungsfreien Messbetriebs wurde daher mit speziellen, vollständig gekapselten Federschleifkontakten zur Signalübertagung aus dem rotierenden System gearbeitet.

Die Feldtests zum Einsatz des Ackerdreirads auf dem Feld stehen unmittelbar bevor (Abb. 8). Zur Kontrolle des Messvorgangs ist ein drahtlos gekoppelter Tablet-Rechner in der Kabine des Traktors vorgesehen, auf dem die Einstellungen der Messelektronik vorgenommen und die Verläufe der Messwerte dargestellt werden können.



Abb. 8: Foto der Kombination Ackerdreirad, Traktor und Drillmaschine bei einer Testfahrt.

Diskussion

Die hier dargestellte Thematik hat einen starken Anwendungsbezug und soll einen Beitrag zur Digitalisierung in der Landwirtschaft leisten. Die mit dem kombinierten Einsatz von Bodensensorik und zusätzlicher Aktorik einer bestehenden Drillmaschine bereitgestellte Option ermöglicht die teilflächenspezifische Optimierung der Saatgutablage. Der Schwerpunkt der Entwicklung liegt hierbei nicht vorrangig bei der Erweiterung sensorischer Grenzbereiche, sondern bei der innovativen Überführung eines etablierten Messverfahrens in den rauen Einsatz unter Praxisbedingungen eines Landwirtschaftsbetriebes.

Literatur

[1] W. Fichtner, M. Mertig, D. Fleischer, U. Helbig **Impedimetrische Sensoren zur Überwachung von Deichbauwerken.** 26. Interdisziplinäre Wissenschaftliche Konferenz Mittweida (2021) 25-28, DOI: 10.48446/opus-12301

Danksagung

Die hier vorgestellten Ergebnisse entstanden im Rahmen eines Projektes des Zentralen Innovationsprogrammes Mittelstand, das aus Mitteln des Bundesministeriums für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert wurde, ZIM Förderkennzeichen ZF4088706SA9. Die Autoren bedanken sich für die finanzielle Unterstützung.

DOI 10.5162/15dss2021/P6.2

Apparative Lösungen zur automatisierten potenziometrischen Analyse von Ackerbodenproben auf dem Feld

Manfred Decker[1], Marcus Hönicke[2], Florian Findeisen[2], Petra Teichmann[1] und Winfried Vonau[1]

[1]Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim, Deutschland
[2]Agricon GmbH, Ostrau, Deutschland
Kontakt: manfred.decker@ksi-meinsberg.de

Einleitung

Der Etablierung einer teilflächenspezifischen, bedarfsgerechten Düngung von landwirtschaftlich genutzten Flächen wird von Politik und Wirtschaft eine immer höhere Priorität zugeschrieben. Dabei stehen die Schonung wertvoller Ressourcen, die Vermeidung von Nährstoffüberschüssen auf den Äckern sowie die Steigerung des Ertrags im Vordergrund. Zielgrößen sind dabei u.a. der pH-Wert sowie der Kaliumgehalt der Böden, deren Verteilung schon innerhalb kleiner Flächen stark variieren kann. Die folgende Abbildung 1 zeigt dies am Beispiel von Untersuchungen der Agricon GmbH zur Kaliumverteilung eines Ackerschlags bei Görzig.

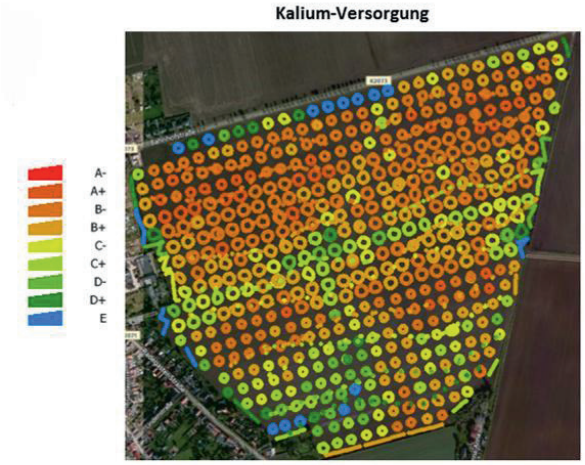


Abb. 1: Kaliumverteilung auf einem Ackerboden im 36 m x 36 m Raster bei Görzig. Eingefärbt ist die Gehaltsklasse mit einer Skalierung von „A“ extrem niedrige Versorgung bis „E“ extrem hohe Versorgung [Agricon GmbH]

Diese großen Unterschiede des Gehalts machen eine ortsgenaue Messung der Parameter mit hoher räumlicher Auflösung zur Etablierung einer gezielten Düngung notwendig. Bisher ist die Kartierung der pH-Werte und des Kaliumgehalts nur durch eine GPS-gestützte Probenahme mit sich anschließender zeit- und kostenintensiver Analyse dieser Größen in analytischen Laboratorien möglich. Die oft sehr kurzen Bearbeitungsfenster innerhalb der Fruchtfolge machen eine direkte Reaktion des Landwirts auf die Analysewerte daher oft unmöglich. Eine höher aufgelöste, automatisierte Messung der Zielanalyte direkt auf dem Feld würde die Effizienz der Düngung deutlich erhöhen und die Kosten für die Anwender reduzieren. Die Realisierung einer Apparatur mit Probenvorbereitung und Messwertbestimmung unmittelbar auf dem Feld steht im Mittelpunkt der beschriebenen Entwicklung.

Messmethodik

Zentrale Aufgabe des Vorhabens ist die Realisierung einer Apparatur einschließlich eines optimierten Messregimes, welche ohne die zeitintensiven Aufbereitungs- und Analyseprozesse für die Bestimmung des pflanzenverfügbaren Kaliums und des pH-Werts von Bodenproben im Labor [1, 2] schnell und mit geringem technischen Aufwand schon auf dem Feld vergleichbare Resultate liefert. Zentrale Prozesse bei der Laboranalyse sind die Trocknung und anschließende Siebung der Böden, die volumenmäßig und zeitlich definierte Aufschlämmung der Proben in einem geeigneten Suspensionsmittel und die Messung der Größen mit einer pH-Glaselektrode bzw. mit einem Flammenfotometer. Bei der Durchführung der vereinfachten und beschleunigten Prozessschritte auf dem Feld muss sichergestellt sein, dass die Analyseresultate eine für den Landwirt ausreichende Übereinstimmung mit den Daten des Labors aufweisen.

Bei der Analyse des Ackerbodens werden im Rahmen der Entwicklung bei jeder Einzelprobe folgende Schritte automatisch nacheinander durchlaufen:

- Probenahme vom Acker mit einem Stecheisen
- Siebung der Probe zur Entfernung von Steinen, Stroh und Wurzelwerk
- Überführung der gesiebten Ackerkrume zu einem Drehteller mit einer Aussparung zur Sammlung eines definierten Probevolumens
- Transport des Bodens zur Probenvorbereitungszelle
- Aufschlämmung der Probe unter Rühren mit einem definierten Volumen an Extraktionsmittel
- Überführung der Probe in die modular aufgebaute Messzelle und potenziometrische Bestimmung der gesuchten Analysengrößen
- Reinigung der Messzelle und Verwerfen der Probe

Die verschiedenen Prozessschritte können parallel durchgeführt werden, so dass schon während einer Bestimmung der vorhergehenden Bodenprobe mit den Sensoren die nächste für die Messung vorbereitet werden kann. Dadurch wird ein deutlich höherer Probendurchsatz möglich. Auch eine Kombination der Probenvorbereitung mit weiteren Messeinheiten kann bei dem gewählten Aufbau zu einer Erhöhung der Beprobungsfrequenz genutzt werden.

Diese wiederkehrenden Analyseschritte können situationsabhängig oder in definierten Abständen durch zusätzliche Reinigungs- oder Kalibriervorgänge unterbrochen werden, um die Messbereitschaft sicherzustellen und die Analysegenauigkeit zu steigern. Folgende Abbildung 2 zeigt die komplette Analyseeinheit angebracht an einem geländegängigen Fahrzeug.



Abb. 2: geländegängiges Fahrzeug mit Probenahmeeinheit am Heck sowie der Messeinrichtung im Kofferraum (links: Messapparatur, rechts: Fluidik- sowie Steuerelemente)

Die wesentlichen mechanischen und fluidischen Vorgänge werden mittels Druckluft angetrieben und über programmierbare Kontrollsysteme gesteuert.

Aufbau der Messapparatur

Mechanische Probenvorbereitung

Die Sammlung des Analyten erfolgt mit dem Probenahmegerät der Firma Agricon. Sowohl die Probenahmeapparatur als auch die pH-Wert- und Kaliummesseinheit werden auf einem Geländefahrzeug montiert. Während der Überfahrt über die zu untersuchende landwirtschaftlich genutzte Fläche, wird eine georeferenzierte Bodenprobe mithilfe des Stecheisens genommen. Dazu fährt der Stecharm, durch einen Elektromotor angetrieben, aus der Ausgangsposition und wird mit einer Gasdruckfeder ausgeklappt. Durch Änderung der Drehrichtung wird er nach unten bewegt und durch das Eigengewicht des Fahrzeugs in den Boden getrieben, um eine repräsentative Bodenprobe über den Bodenhorizont (20-30 cm) zu entnehmen. Während dieses Vorgangs wird der Ort der Probenahme mithilfe eines GPS-Empfängers automatisch aufgezeichnet. Nachdem der Stecharm mit dem Probenmaterial den Boden verlassen hat, bewegt er sich zu einem Karussell. Dort wird seine Bewegungsrichtung erneut umgekehrt und die Probe aus dem Stecher mit einem Auskratzmechanismus entleert. Der Stecharm verbleibt dann bis zum nächsten Einstich in seiner Ausgangsposition.

Bisher besteht eine Probe aus mehreren Einstichen, welche einem vordefinierten Raster zugeordnet werden. Die Proben einer Rasterfläche werden gesammelt, in einer Tüte verpackt und in ein Labor zur weiteren Analyse verschickt. Durch Versand und Analysezeit im Labor gehen dem Landwirt mindestens zwei Wochen Zeit verloren.

Neu bei der Entwicklung ist die Analyse jedes einzelnen Einstichs unmittelbar auf dem Feld, um zum einen die Dauer für die Analyse von mehreren Tagen auf wenige Minuten zu reduzieren und zum anderen auch die Auflösung der Messwerte auf dem Feld zu steigern. Zur Vorbereitung der Messung ist eine mechanische Vorbehandlung der Probe notwendig, die im Wesentlichen am Probenahmegerät im Zusammenspiel mit dem Stecharm durchgeführt wird. In der Abbildung 3 ist die entsprechende Einrichtung zu sehen.



Abb. 3: Apparatur zur Sammlung und mechanischen Probenvorbereitung (links unten: Stecharm zur Probensammlung, rechts unten: Einheit zur Siebung der Probe und zum Transport der Bodenpartikel zur Messapparatur)

Dabei fällt die frisch gesammelte Einzelprobe nicht in einen Sammelbehälter, sondern wird über eine Rutsche seitlich in den sogenannten Aufbereiter transportiert. In diesem wird die Bodenprobe sowohl zerkleinert als auch Steine oder Pflanzenbestandteile wie z.B. Wurzeln aus der Probe entfernt. Die zerkleinerte und gesiebte Bodenprobe wird anschließend durch einen Luftstrom ins Fahrzeuginnere transportiert, wo die Gasphase von der festen Phase mithilfe eines Zyklons getrennt wird. In einer Aussparung des Probentellers wird ein definiertes Volumen der Bodenprobe gesammelt, um für den sich anschließenden Messvorgang ein bekanntes Verhältnis Probe zur Suspensionslösung für die Messung der Analyte zu gewährleisten. Das überschüssige Volumen an Probematerial wird bei der sich anschließenden Drehung des Tellers verworfen. Durch die Drehung um 180° wird das abgemessene Probematerial in den Mischbereich transportiert. Folgende Abbildung 4 zeigt den Zyklon, den Transportteller und die sich anschließende Messeinheit.

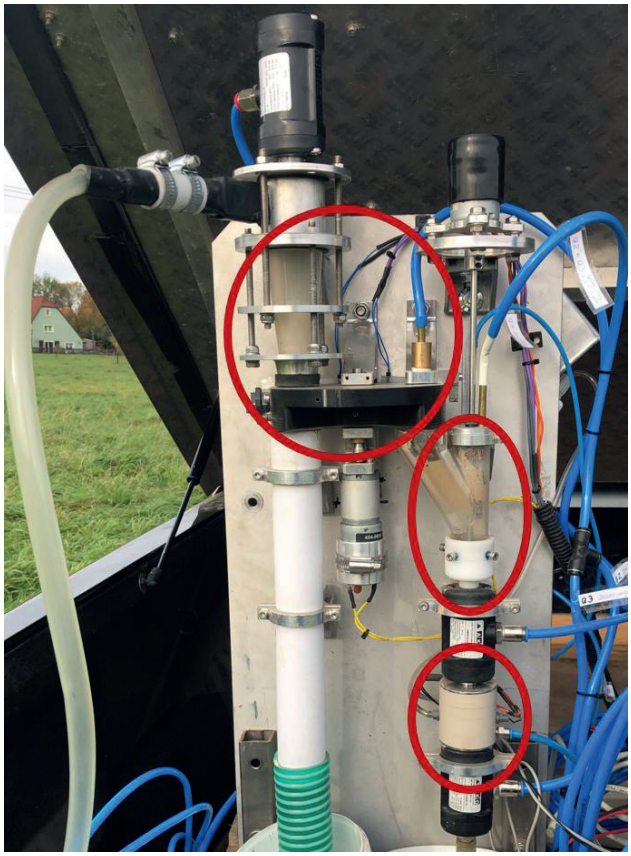


Abb. 4: Misch- und Analysebereich der Messeinrichtung auf dem Fahrzeug. Wesentliche Komponenten wurden mit Kreisen markiert; oben: Zyklon mit drehbarem Probenteller; Mitte: Mischeinheit zur Herstellung der Suspension; unten: modulare Messzelle mit Ballonventilen

Potenziometrischer Messablauf und –zellenaufbau

Nach der Überführung der Probe in die Mischeinheit wird eine genau bemessene Menge an Extraktionsflüssigkeit zudosiert. Durch die Länge der Dosierzeit können die Volumina der Extraktionsmittel eingestellt und Suspensionen mit definierten Verhältnissen Extraktionsmittel zum Feststoff realisiert werden. Für die komplette Füllung der Messzelle werden weniger als 10 mL der Bodensuspension benötigt. Um eine gute und schnelle Durchmischung der entstehenden Suspension zu gewährleisten, wird die Probe mit einem mechanischen Rührer lebhaft gerührt. Der Zulauf der Suspension in die Messzelle wird durch Ballonventile geregelt, die am Ein- und Ausgang der Messzelle platziert sind. Durch ein abgestimmtes Zeitregime für die Öffnung und Schließung der beiden Ballonventile kann eine schnelle, zuverlässige und weitestgehend blasenfreie Einführung der Suspension in den Messraum gewährleistet werden. Die Öffnung des oberen Ballonventils wird mittels eines Spannungssignals verfolgt. Das Triggersignal dient bei der Auswertung der potenziometrischen Spannungsverläufe zur Definition des Messstarts. Für eine schnelle Signaleinstellung an der potenziometrischen Messkette hat sich die Einperlung von Luft in den Messraum als vorteilhaft erwiesen. Nach Abschluss des Messprozesses wird die Probe nach Öffnung des unteren Ballonventils verworfen und die Mischeinheit und die Messzelle mit dem Extraktionsmittel unter hohem Druck gespült.

Die komplette in Abbildung 5 dargestellte Messzelle besteht aus vier variabel zusammensetzbaren Einzelmodulen, die perspektivisch eine parallele Messung des pH-Werts und des Kaliumgehalts in den aufgeschlämmten Bodenproben erlauben.

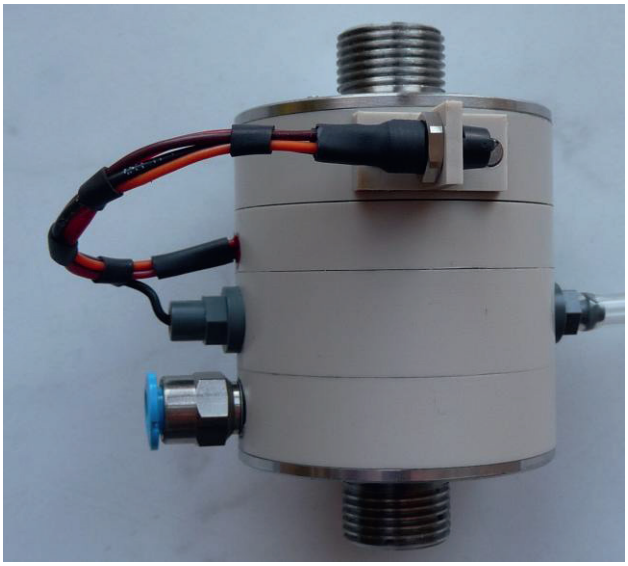


Abb. 5: Messzelle bestehend aus vier Einzelmodulen; von unten: Mischmodul, Referenzelektrodenmodul (mit Schlauch zur Einspeisung des Bezugselektrolyten), pH-Messmodul, Einheit zur potenziometrischen Kaliummessung (hier mit Kabelhalterung)

In dem in der Abbildung dargestellten Aufbau sind (von unten nach oben) folgende Bausteine kombiniert worden:

- Mischmodul - Durch mehrere feine Öffnungen wird Luft eingeperlt und eine vorsichtige Durchmischung der Probe erreicht. Die Ergebnisse zeigen, dass so eine schnellere Potenzialeinstellung erhalten werden kann.
- Referenzelektrodenmodul - Der chloridhaltige Bezugselektrolyt steht über Keramikdiaphragmen mit der Messzelle in Verbindung. Das Potenzial wird über ein Gleichgewicht mit einem integrierten Ag/AgCl-System gebildet.
- pH-Messmodul - Als Basis für die pH-Wertbestimmung wird eine robuste Antimonelektrode eingesetzt, deren pH-Wert-abhängiges Potenzial gegenüber der Bezugselektrode mit einem Spannungsmessgerät abgriffen wird. Die massive Antimonelektrode ist als ringförmiges Element im Innern des Moduls lokalisiert.
- Kalium-sensitives Modul - Für die Messung wird ein potenziometrischer Sensor auf Basis einer Polymermatrix-gestützten Kalium-sensitiven Elektrode her-

angezogen. Für die technische Realisierung innerhalb der Messzelle werden dabei sowohl Sensoren mit Flüssig- als auch mit Festableitung auf ihre Eignung untersucht.

Der Einsatz der Antimon-basierten Elektrode zur schnellen pH-Analyse von Bodenproben in Anlehnung an die Standardmethode DIN ISO 10390 ist schon in einer früheren Veröffentlichung beschrieben worden [3]. Die neue Apparatur weist für das pH-Elektrodensystem in Kombination mit der Referenzelektrode vergleichbare Eigenschaften auf. Die modulare Gestaltung bei der jetzt erfolgten Weiterentwicklung erlaubt jedoch den Austausch einzelner Komponenten sowie die Integration zusätzlicher Elemente, z.B. für die Durchmischung der Suspension.

Ergebnisse

Erste Versuche mit dem kompletten Apparatesystem auf dem Fahrzeug haben gezeigt, dass auch auf dem Feld sowohl die Probenahme und -zuführung mit dem Stecharm zur weiteren Probenvorbereitung als auch die sich anschließende Zerkleinerung und Siebung der Bodenprobe gut und zuverlässig funktionieren.

Auch der Transport des Probenmaterials mittels Druckluft ins Fahrzeuginnere, die Dosierung der Probe auf dem Probenteller und schließlich die Herstellung der Aufschlämmung werden unter Realbedingungen zuverlässig ausgeführt. Kleine Anpassungen der zur Stabiliserung der Konstruktion können noch erforderlich sein.

Grenzen werden zurzeit noch bei sehr feuchten und bei schweren Böden erreicht, da diese das Sieb verstopfen und den Prozess zum Abbruch bringen können.

Eine technische Herausforderung stellt bisher jedoch noch die ausreichende mobile Bereitstellung von Druckluft dar, die für verschiedene Aktoren (Ballonventile und Pneumatikzylinder) sowie den Transport der Bodenprobe ins Fahrzeuginnere zum Zyklon benötigt wird. Durch eine weitere Optimierung des Versuchsaufbaus und eine damit verbundene Reduzierung des Druckluftbedarfs kann perspektivisch die mobile Druckluftversorgung gewährleistet werden.

Vor der Ankopplung an das geländegängige Fahrzeug wurde das komplette analytische Messsystem einschließlich der Probenvorbereitung auf seine Funktionsfähigkeit hin getestet und die Analysenprozesse optimiert. Die Untersuchungen konzentrierten sich dabei insbesondere auf die Verbesserung der Messgenauigkeit und die Erhöhung der Analysegeschwindigkeit.

Besonderes Augenmerk musste dabei auf die Auswahl des Extraktionsmittels, die einzustellenden Volumenverhältnisse zwischen Suspensionsmittel und Bodenprobe sowie auf die Auswahl und Zusammenstellung der Pufferlösungen für die Kalibrierlösungen gelegt werden In der folgenden Abbildung 6 sind exemplarisch Signalverläufe dargestellt, wie sie mit der Apparatur in einer Messreihe mit dem modularen pH-Sensorsystem erhalten wurden.

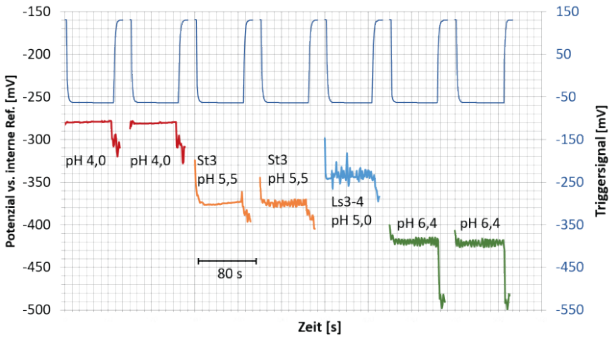


Abb. 6: Potenzialverläufe einer Messreihe mit der Apparatur mit Pufferlösungen pH 4,0 und pH 6,4 sowie mit Bodenarten St3, Ls3-4 (Zuordnung zu sandigem Lehm); die Darstellung der Triggersignale markiert den Messstart

Die in der Grafik dargestellten Messkurven wurden mit einer 0,01 molaren Calciumchloridlösung als Extraktionsmittel für die Erdproben erhalten. Diese findet auch in den Laboratorien für die Bodenanalyse Verwendung. Bei den aufgeführten Messungen wurden zu 5 mL der Bodenprobe 5,5 mL des Extraktionsmittels zudosiert. Die bei der Kalibrierung genutzten pH-Pufferlösungen wiesen ebenfalls einen resultierenden Calciumchloridgehalt von 0,01 mol/L auf und wurden mit einer Glaselektrode überprüft. Die Messung beginnt mit Öffnung des oberen Ballonventils. Dieser Zeitpunkt kann durch das Triggersignal zugeordnet und der zeitliche Verlauf der Potenzialänderung während des Analyseprozesses verfolgt werden.

Die Messungen zeigen das schnelle Einstellen der pH-Messkette auf die einfließenden Pufferlösungen und Suspensionen der Bodenproben. Die zu beobachtenden starken Potenzialänderungen nach 60 Sekunden sind auf den Beginn des Spülprozesses zur Reinigung der Messeinrichtung zurückzuführen. Schon nach 15 Sekunden können die Potenziale zur pH-Wert-Bestimmung herangezogen werden. Allerdings wird eine rechnerische Glättung der Signale durchgeführt werden müssen, da insbesondere bei Bodenproben mit höherem Tonngehalt instabilere Potenziale, vermutlich hervorgerufen durch kurzzeitige Belegungen der Diaphragmen der Bezugselektrode mit den feinen Bodenpartikeln, zu beobachten sind. Zwischen den beiden eingesetzten Puffersystemen wird eine gute Sensitivität von -56,0 mV/pH ermittelt. Die pH-Werte für die beiden Bodenproben weichen gegenüber den Messresultaten nach DIN ISO 10390 bei der Bodenprobe St3 um -0,1 und bei Ls3-4 um -0,2 pH-Einheiten ab. Diese Größenordnung der Differenzen ist für die angestrebte Aufgabenstellung vollkommen ausreichend.

Bei der Entwicklung von Polymermatrix-gestützten Kalium-sensitiven Elektroden für die Analyse von Bodensuspensionen musste ein wesentlicher Fokus auf die Stabilisierung der fragilen Membranen gelegt werden. Die mechanische Verstärkung der Membran durch die Integration eines Edelstahlnetzes oder die Einbringung in eine grobporöse Glasfritte wurde schon früher beschrieben [4]. Als weitere Alternative wird im Rahmen des Projekts die Her-

stellung als coated-wire Elektrode untersucht. Diese Variante bietet gegenüber den in [4] beschriebenen Verfahren den Vorteil, dass die Herstellung der Messzelle eng an die Fertigung der pH-Messzelle angelehnt werden kann. Statt einer massiven Antimon-Elektrode bildet jedoch ein galvanisch versilberter Kupferkern vergleichbarer Geometrie die Basis der neuen Sensoren. Im letzten Produktionsschritt wird die Kontaktfläche zur Messlösung flächendeckend und dicht mit dem ionensensitiven Cocktail versehen. Die Bildung der Membran ist nach der Verdunstung des Lösemittels abgeschlossen. Erste Untersuchungen zeigen ein hervorragendes Ansprechen auf die Kaliumaktivität, wie der folgenden Abbildung 7 entnommen werden kann.

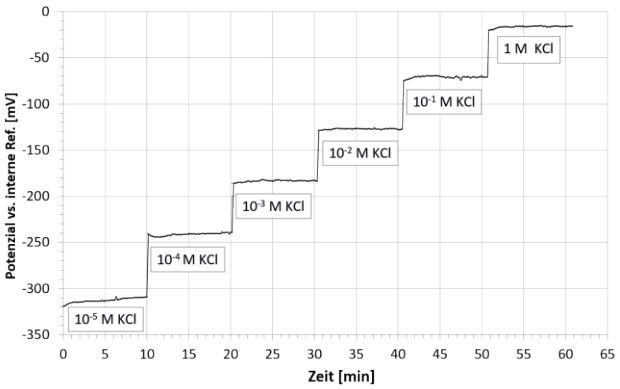


Abb. 7: Ansprechverhalten der coated-wire-basierten Kaliumelektroden aufgebracht auf einer versilberten Kupferelektrode; Durchführung der Messungen im batch-Verfahren

Die Kaliumelektroden zeigen ein schnelles Ansprechen auf Änderungen der Kaliumkonzentrationen und die Steilheit der Sensoren beträgt 59 mV/AD im Konzentrationsbereich zwischen 10^{-5} und 1 mol/L. Damit stellen diese auf massiven versilberten Kupferkernen aufgebrachten coated-wire-basierten Elektroden eine zusätzliche attraktive Variante bei mechanisch verstärkten Sensoren für den Einsatz in der Landwirtschaft dar.

Diskussion und Ausblick

Die bisherigen Untersuchungen zeigen, dass der gewählte apparative Ansatz geeignet ist, eine schnelle Messung des pH-Werts und des Kaliumgehalts schon auf dem Acker zu realisieren. Die Resultate der pH-Messungen weisen eine gute Übereinstimmung mit den dazugehörigen Laboranalysen auf und können in weniger als einer Minute durchgeführt werden. Durch die Kombination der mechanischen Probenvorbereitung mit mehreren Analysemoduleinheiten kann die Messfrequenz auf dem Feld gesteigert werden, so dass bei einer Befahrung der Ackerflächen auch die gewünschte engmaschige räumliche Beprobung gewährleistet werden kann. Die Untersuchungsreihen dazu werden bei einer der nächsten Kampagnen aufgenommen werden.

Die entwickelten, mechanisch stabilisierten Kaliumselektiven Elektroden weisen eine sehr hohe Sensitivität auf. In weiteren Messreihen werden sie dem Praxistest für die Analyse von Bodenproben unterzogen werden, um ihre Eignung für die Aufgabenstellung aufzuzeigen.

Eine zuverlässig arbeitende, automatisierte Probenahme mit Siebung der Bodenprobe, die Überführung in das Fahrzeug sowie die Portionierung für die Messung des pH-Werts wurden erfolgreich realisiert. Der gewählte Aufbau hat seine Einsatztauglichkeit auf verschiedenen Ackerschlägen bewiesen.

Für die weitere Entwicklung sind neben erforderlichen Optimierungsprozessen am Prototypen während ausgedehnter Praxistests u.a. noch folgende Details zu klären:

- Reinigung des Siebes während der Probensammlung bei besonders feuchten und schweren Böden
- Erhöhung der Präzision bei der Portionierung der Bodenprobe auf dem Probenteller für die geplante Messung des Kaliumgehalts
- Ermittlung der Temperaturabhängigkeit der Potenziale für die pH- und Kaliumsensoren zur möglichen Etablierung einer Temperaturkompensation
- Optimierung der Kalibierlösungen für die verschiedenen Sensorsysteme
- Ermittlung geeigneter Bedingungen für die Lagerung der Sensoren während längerer Einsatzpausen

Literatur

[1] DIN ISO 10390: Bodenbeschaffenheit – Bestimmung des pH-Wertes (ISO 10390:2005). DIN Deutsches Institut für Normung e.V. Berlin

[2] VDLUFA Methodenbuch Band 1: Die Untersuchung von Böden 6.2.1.6: Die Bestimmung von pflanzenverfügbarem Kalium und Natrium im Calciumchloridauszug auf Volumenbasis (1997). VDLUFA Verlag, Darmstadt (1997), S. 1-8

[3] DECKER, M. , BAUSE, S. , TEICHMANN, P. , SCHNEIDER, M. , VONAU, W.: Development of an automatic system for the on-site pH measurement of soil samples. In: *tm technisches messen* 84 (2017) Nr. 10 S. 659-671

[4] DECKER, M. ,WEZEL, A. , GERLACH, F. , TEICHMANN, P. , SCHNEIDER, M. und VONAU, W.: Untersuchungen zur automatisierbaren potenziometrischen Messung des Kaliumgehalts und des pH-Werts von Ackerproben vor Ort. In: Proceedings 14. Dresdner Sensor-Symposium (2019) S. 127-132

Danksagung

Die vorgestellten Forschungsarbeiten werden als Teil eines Projektes (FKZ 100351424) vom Europäischen Fond für Regionale Entwicklung (EFRE) gefördert. Das Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V. wird durch Steuermittel auf der Grundlage des vom Sächsischen Landtag beschlossenen Haushaltes mitfinanziert.

DOI 10.5162/15dss2021/P8.1

P8.1
Localized Catalyst Formation, Characterization and In Operando Monitoring of the Electrocatalytic Activity in Flow Reactors

C. Iffelsberger, M. Pumera, Brno Universitiy of Technology, Brno /CZE; S. Wert, F. Matysik, Universität Regensburg, Regensburg/D

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/P8.2

Dickschicht Sulfidsensor auf Basis einer Chalkogenidglas-ISE

U. Enseleit[1], C. Feller[2], U. Partsch[2], W. Vonau[1]

[1]Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V., Waldheim, Waldheim, Deutschland
[2] Fraunhofer Institut für Keramische Technologien und Systeme, Dresden, Germany, Deutschland
Kontakt: ute.enseleit@ksi-meinsberg.de

Einleitung

Die quantitative Sulfidionenbestimmung ist von großer praktischer Bedeutung. So spielt sie z. B. bei der Langzeit-In-Situ-Überwachung von Thermalbädern, geothermalen Böhrlöchern und Abwassernetzen eine nicht unbedeutende Rolle. Für die Bestimmung von Sulfid in Lösung werden u. a. sowohl kolorimetrische und iodometrische Methoden als auch ein potentiometrisches Verfahren unter Verwendung einer konventionellen Silbersulfid-Elektrode nach Probenhandhabung und Konditionierung auf hohen pH-Wert beschrieben [1]. Ebenso wurde schon über die Verfügbarkeit anionenselektiver Chalkogenidglas (CG)-Elektroden zur Bestimmung von Gesamtsulfid-, Bromid- und Iodidionen in wässrigen Lösung berichtet [2-5]. Bei diesen Sensoren handelt es sich um stabförmige CG-Sensoren, wobei geschmolzene CG-Stücke mechanisch zerkleinert, elektrisch kontaktiert, armiert und ggf. plan geschliffen werden. Dieses Herstellungsverfahren ist kostenintensiv und zeitaufwendig. Das Ziel unserer Arbeit ist es, eine geeignete Glaskomposition aufzufinden und technologische Prozesse zu entwickeln, um zu in Dickschicht (DS)-Technik herstellbaren planaren, sulfidionenselektiven CG-Elektroden zu gelangen. Vorteile eines Sulfid-DS-Sensors beruhen auf seiner mechanischen Robustheit und hohen chemischen Beständigkeit, auch ist perspektivisch die Möglichkeit der Integration mehrerer Sensormembranen auf Basis von CGs, sowie z. B. eines pH-sensitiven Glases und eines Temperatursensors auf einem Chip zum simultanen Nachweis von Anionen oder Kationen, des pH-Wertes und der Temperatur gegeben [6, 7].

Experimentelles

Bei der Bestimmung von Sulfiden in wässrigen Lösungen sind das chemische Gleichgewicht zwischen verschiedenen Sulfidspezies in Abhängigkeit vom pH-Wert und auftretende Redoxprozesse in Gegenwart von Sauerstoff zu beachten. Die zweistufige Dissoziation des gelösten Schwefelwasserstoffs wird durch die Gleichungen 1 und 2 und die Gleichgewichtskonstanten (K_1 und K_2) beschrieben:

$$H_2S + H_2O \leftrightarrow H_3O^+ + HS^- \quad K_1 = 1{,}1 \times 10^{-7} \qquad (1)$$

$$HS^- + H_2O \leftrightarrow H_3O^+ + S^{2-} \quad K_2 = 1{,}3 \times 10^{-13} \qquad (2)$$

Unterhalb von pH 5 liegt hauptsächlich das gelöste Gas H_2S vor bzw. wird es freigesetzt. Die dominierende Spezies bei 7 < pH < 13 ist HS^-, während S^{2-}-Ionen nur oberhalb von pH 12 in einem signifikanten Anteil auftreten. Alle Sulfidspezies werden im oxidierenden Medium oder bei Anwesenheit von Sauerstoff zu elementaren Schwefel und weiter zu SO_3^{2-} bzw. zu SO_4^{2-} oxidiert. Die Gesamtsulfidkonzentration S_T in Lösung kann somit wie folgt ausgedrückt werden:

$$S_T = [S^{2-}] + [HS^-] + [H_2S] \qquad (3)$$

Durch die Entwicklung der selektiven DS-Elektroden auf CG-Basis soll vor allem das im neutralen pH-Bereich existierende HS^-, z. B. in Abwasserreinigungsanlagen, in natürlichen Gewässern oder im Meerwasser potentiometrisch detektiert bzw. online überwacht werden können.

Material und Methoden

Für die Herstellung der CGs wurden CdS-, AgI-, Ag_2S- und As_2S_3-Pulver verwendet, jeweils in einer Reinheit von > 99.99 Gew.-%. Das Schmelzen des Sensormaterials der Zusammensetzung 4 CdS - 24 AgI - 25 Ag_2S - 47 As_2S_3 (mol %) erfolgte in einer zylindrischen Quarzampulle. Diese wurde in eine Reaktionskammer mit Stickstoff gefüllt, evakuiert (< 10^{-3} mbar) und hermetisch abgedichtet. Das Pulvergemenge wurde in einen Quarzglasreaktor überführt, der dann in einen Rohrofen eingebracht wurde. Für die langsame Bewegung der Ampulle während der Aufheizphase mit 100 bis 110 °C/h bis zu einer Temperatur von 980 °C und einer Schmelzprozessdauer von 20 h wurde ein Rührer verwendet. Unmittelbar nach dem Schmelzvorgang wurde die Ampulle in kaltem Wasser abgeschreckt und zur Sammlung des Glases zerstört.

Mit Methoden der Thermoanalytik wurde geprüft, ob das CG mit Dickschichttechnologie prozessierbar und zu einer dichtsinternden Glasmembran verarbeitbar ist. Das thermische Zersetzungsverhalten des CGs wurde mittels simultaner Thermogravimetrie-Differenzthermoanalyse mit dem Gerät STA 449 C der Firma NETZSCH-Gerätebau GmbH im Temperaturbereich von 15 °C bis 820 °C unter Stickstoffatmosphäre am CG-Pulver untersucht.

Mit der Thermomechanischen Analyse TMA 402 F1 Hyperion, ebenfalls von NETZSCH-Gerätebau GmbH, wurde das Sinterverhalten des CG-Glaspulvers unter Stickstoff bestimmt. Dafür sind zylindrische Pulverpresslinge mittels uniaxialen Pressens hergestellt und vermessen worden.

Mit Hilfe der Röntgendiffraktometrie (XRD) mit dem Gerät D8 advance der Firma Bruker wurde überprüft, ob die CG im amorphen oder kristallinen Zustand vorliegen.

Die Abscheidung einer CG-Membran in DS-Technik auf einem Keramiksubstrat (Abb. 1) erfordert die Verarbeitung einer Glaspaste, wofür Glaspulver benötigt wird. Dazu wurde das CG-Bulkmaterial in einer Planetenkugelmühle trocken zum Glaspulver gemahlen. Für die Herstellung der

Glaspaste ist ein organisches Vehikel verwendet worden. Dieses wurde durch Einrühren des Polymers Methacrylatharz in das Lösungsmittel Terpineol bei 80 °C hergestellt.

Die Pastenherstellung erfolgte durch Dispergieren des Glaspulvers in dem organischen Vehikel. Um das Pulver fein zu dispergieren und zu deagglomerieren, wurde die Paste fünfmal auf einem Dreiwalzwerk 50EC (EXAKT Advanced Technologies) bearbeitet. Das Mahlgut ist bis zu einer Korngröße < 30 µm dispergiert worden. Die Glaspaste wurde im Siebdruckverfahren auf ein ZrO_2-Substrat über eine Goldschicht gedruckt. Der Einbrand der CG-Schicht erfolgte entsprechend der Sintertemperatur des Glases.

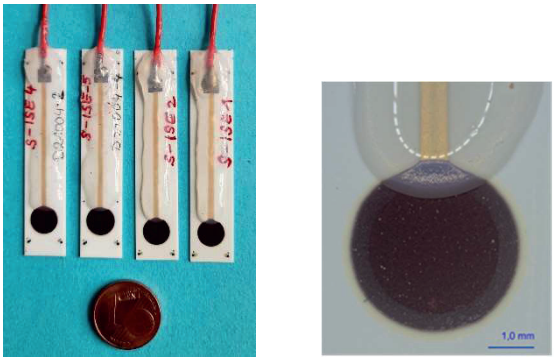


Abb. 1: Prototypen von DS-Elektroden (links), sensitive Elektrodenoberfläche (rechts)

Zur Verhinderung einer Sulfidoxidation bei den potentiometrischen Messungen wurde bei der Herstellung der Kalibrierlösungen unter Verwendung von Na_2S x $9H_2O$ mit einer Reinheit von 98 Masse-%, gekochtes und entgastes deionisiertes Wasser verwendet, um den gelösten Sauerstoff und CO_2 zu entfernen. Die Lösungen wurden jeden Tag frisch hergestellt. Innerhalb von 1 bis 2 Stunden wurden unter Luftabschluss die potentiometrischen Messungen in einer Zelle vorgenommen. Die pH-Werte der Sulfid-Kalibrierlösungen wurden mit 10^{-1} M NaOH, 10^{-1} M HNO_3 und mit TRIS-Puffer eingestellt und mit jeweils 10^{-1} M KNO_3 zur Einstellung der Ionenstärke versehen. Es wurde mit einer auf 10^{-1} M KNO_3 basierenden Salzbrücke gearbeitet, um die Referenzelektrode von der Messlösung zu trennen und das Ausfällen, z. B. von Silberchlorid, zu verhindern.

Für die Untersuchung des elektrochemischen Verhaltens des Sensors gegenüber Cd^{2+}-Ionen wurden aus einer 10^{-1} M $Cd(NO_3)_2$-Stammlösung Kalibrierlösungen im Messbereich von 10^{-2} M bis 10^{-6} M Cd^{2+} mit jeweils 10^{-1} M KNO_3 zur Einstellung der Ionenstärke nach der Verdünnungsmethode hergestellt. Als Messgerät zur Elektrodenpotentialmessung und zur Datenaufzeichnung diente das Messsystem LM 3000 von der Sensortechnik Meinsberg GmbH (Xylem Analytics Germany Sales GmbH & Co. KG).

Die Querempfindlichkeit des DS-Sensors gegenüber den Störionen KCl, $KHCO_3$, KBr und KI wurde nach der von der IUPAC empfohlenen Methode mit gemischten Lösungen bestimmt und die Selektivitätskoeffizienten wurden ermittelt.

Resultate und Diskussion

Abb. 2 zeigt ein Röntgenbeugungsdiagramm von einer Pulverprobe des CG. Die leicht geschwungene Reflexionslinie weist keine sichtbaren Peaks bzw. Reflexe auf. Hiermit wird ein amorpher Charakter verbunden mit einer hohen Stabilität des Glases in wässrigen Lösungen bestätigt.

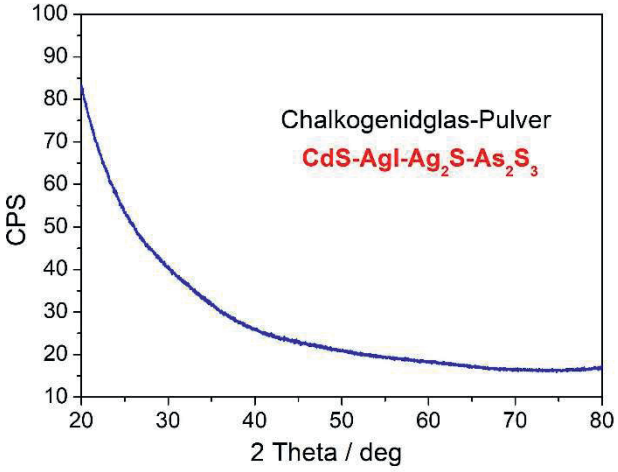


Abb. 2: Rötgenbeugungsdiagramm von Sulfid-sensitiven CG-Pulver

Die thermogravimetrische Untersuchung zeigt, dass das CG unter Stickstoff bis 320 °C thermisch stabil ist. Bei höheren Temperaturen tritt eine deutliche Masseabnahme auf, was auf die thermische Instabilität und Zersetzung des Glases hinweist (Abb. 3). Die mittels simultan durchgeführter Differenzthermoanalyse erhaltene DTA-Kurve zeigt bei 230 °C ein schwaches und bei 270 °C ein starkes exothermes Signal, wodurch eine neue Phasenbildung oder Kristallisation angezeigt wird. Bei 350 °C weist wiederum ein starkes endothermes Signal auf eine Phasenumwandlung oder Zersetzung hin.

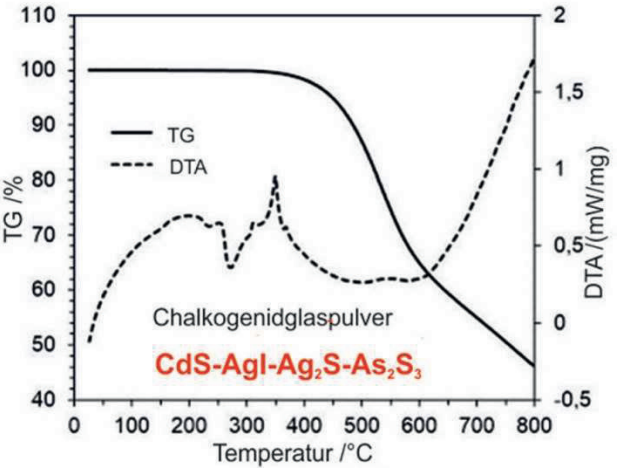


Abb. 3: Thermisches- und Sinterverhalten von Sulfid-sensitiven CG-Pulver

Für den Dickschichtprozess ist nur thermisch stabiles Glasmaterial geeignet, das während des Sinterns unter Beibehaltung der Stöchiometrie verdichtet werden kann. Für CdS-AgI-Ag_2S- As_2S_3-CG trifft dies zu. Das Glas kann bei

185 °C zu einer dichten Glasmembran versintert werden. Thermische Effekte durch Zersetzung, Kristallisation und Phasenumwandlung des CGs treten erst oberhalb der Sintertemperatur auf.

Das Ansprechverhalten einer neuen CG-DS-ISE in Natriumsulfid Kalibrierlösungen, die mit TRIS Puffer auf einen neutralen pH-Wert (7,3) hergestellt wurden, ist in Abb. 4 dargestellt. Die Steigung der DS-ISE Messkette im linearen Messereich von 10^{-1} M bis ca. 10^{-5} M Na_2S x $9H_2O$, 10^{-1} M KNO_3 bei neutralem pH-Wert mit 60 ± 0,5 mV/pS_T stimmt gut mit der Nernst-Gleichung für einwertige Ionen (HS^-) überein.

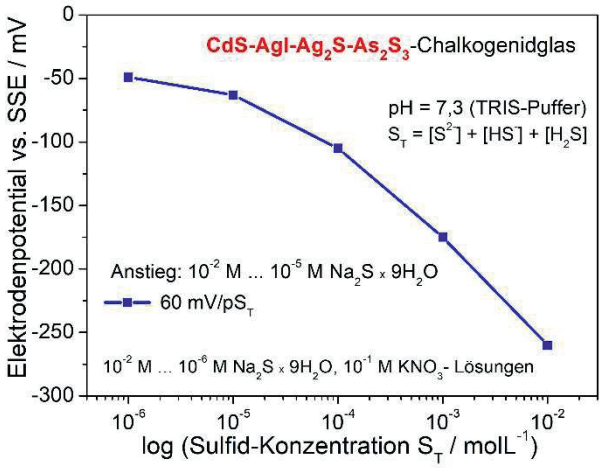


Abb. 4: Kalibrierkurve einer CG-Sulfid-ISE bei einem pH-Wert von pH 7,3

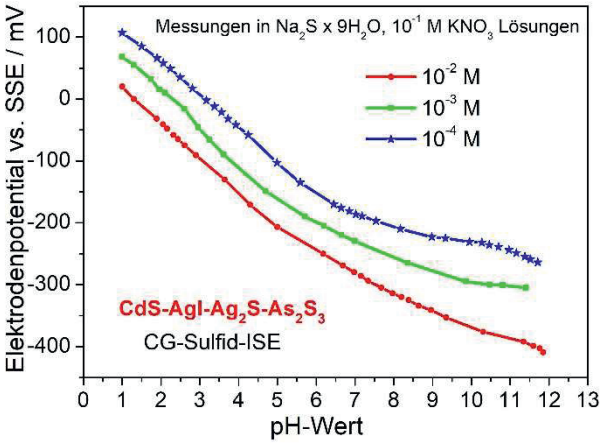


Abb. 5: pH-Abhängigkeit des Messsignals einer CG-Sulfid-ISE

Weiterhin wurden Messungen in Lösungen unterschiedlicher Konzentrationen an Gesamtsulfid von 10^{-4} M, 10^{-3} M, und 10^{-2} M bei verschiedenen pH-Werten durchgeführt. Abb. 5 zeigt einen konstanten Spannungsabfall von ca. 60 mV zwischen den drei Kurven mit dem Ergebnis, dass der Sensor im gesamten untersuchten pH-Bereich empfindlich ist.

Außerdem kann man im pH-Bereich von 1 bis 7 einen starken Abfall des Potentials beobachten, während für pH > 7 nur eine geringfügige Potentialänderung stattfindet. Entsprechend dem Gleichgewicht zwischen den verschiedenen Sulfid-Spezies steigt bei einem gegebenen S_T die HS^--Konzentration linear über den pH-Bereich von 3 bis 7 an, um schließlich einen nahezu konstanten Wert über pH 7 zu erreichen. Dies ist ein Hinweis, dass die Sulfid-ISE empfindlich gegenüber HS^--Spezies ist.

Weiterhin wurde eine Empfindlichkeit des CdS-AgI-Ag_2S-As_2S_3-CG gegenüber Cadmiumionen festgestellt. Die Kalibrierkurve einer entsprechenden DS-Elektrode ist in Abb. 6 dargestellt. Es wurde eine Elektrodenempfindlichkeit von 26 mV/pCd^{2+} in Kalibrierlösungen von 10^{-2} M bis 10^{-6} M $Cd(NO_3)_2$, 10^{-1} M KNO_3 bestimmt. Dieser Umstand muss für praktische Messungen in Betracht gezogen werden.

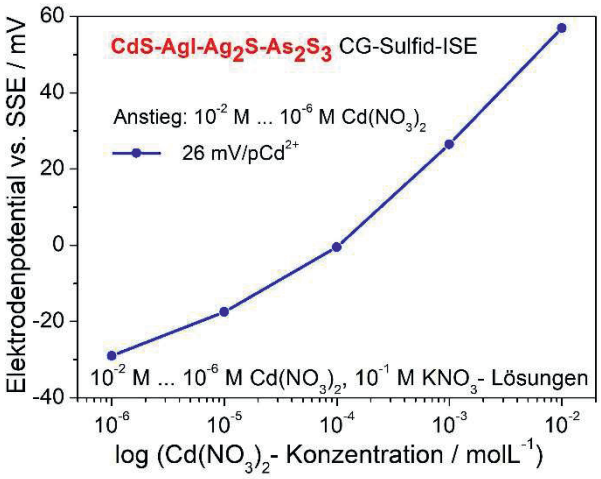


Abb. 6: Querempfindlichkeit gegenüber Cadmiumionen

Die Selektivitätskoeffizienten eines DS-Sensors auf Basis des Materialsystems CdS-AgI-Ag_2S-As_2S_3 in einem Messbereich von 10^{-2} M bis 10^{-6} M Na_2S x $9H_2O$, 10^{-1} M KNO_3 unter Zusatz einer konstanten Konzentration von 10^{-2} M an Störionen (KCl, $KHCO_3$, KBr, KI) sind aus Tabelle 1 ersichtlich.

Tabelle 1: Selektivitätskoeffizienten einer Sulfid-GC-ISE gegen verschiedene Störionen (S)

Störion S	Selektivitätskoeffizient
Cl^-	2 x 10^{-5}
Br^-	2 x 10^{-3}
I^-	1 x 10^{-4}
HCO_3^-	3 x 10^{-3}

Die Kurvenverläufe in Abb. 7 zeigen, dass bei niedrigen Sulfidionen-Konzentrationen ab ca. 10^{-4} M, die Anwesenheit von Störionen in einer hohen Konzentration (10^{-2} M), das Elektrodenpotential der Elektrode signifikant beeinflussen können.

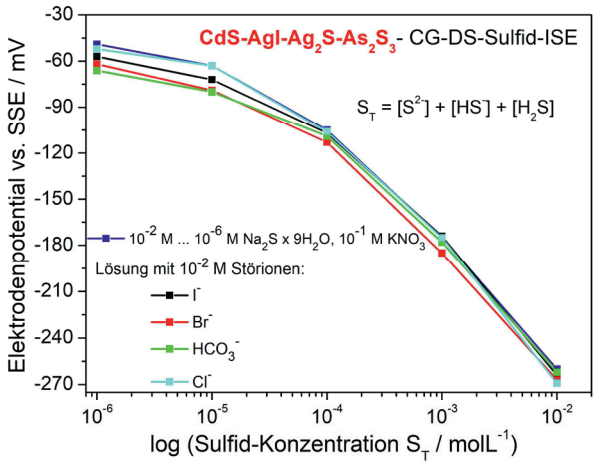


Abb. 7: Bestimmung der Selektivitätskoeffizienten nach der Methode mit gemischten Lösungen

Zusammenfassung

Die Entwicklung und Verifizierung eines potentiometrischen Dickschichtsensors auf Chalkogenidglas-Basis mit einer neuartigen Zusammensetzung zur Bestimmung von Sulfidionen in wässrigen Medien wurde vorgestellt. Es handelte sich um Materialien auf der Grundlage des Stoffsystems CdS-AgI-Ag_2S-As_2S_3, die für die Verarbeitung zu einer Glaspaste und deren Siebdruck und Einbrand auf ein Keramiksubstrat zur Herstellung einer dichten Glasmembran geeignet sind. Im Gegensatz zu konventionellen, basierend auf Ag_2S-haltigen Salzpresslingen hergestellten und für Sulfidionen empfindlichen potentiometrischen Elektroden, wurden für die CG-basierten ISE im neutralen pH-Bereich in einem Konzentrationsbereich von 10^{-2} M bis 10^{-5} M Na_2S x 9 H_2O bei Raumtemperatur Elektrodenfunktionen von 60 mV/pS_T ermittelt. Dies entspricht einer leichten Übersteilheit in Bezug zu dem nach der Nernstschen Gleichung zu erwartenden Wert für die Detektion des dort existierenden HS^--Ions. Die Sensoren sind somit für eine Prozesskontrolle von zahlreichen Abwässern für direkte Messungen des gelösten Schwefelwasserstoffs geeignet. Außerdem zeichnen sie sich durch hohe mechanische Robustheit und chemische Beständigkeit aus.

Die Möglichkeit, perspektivisch weitere CGs und ein pH-sensitives Glas sowie einen Temperatursensor auf den keramischen Träger mit Hilfe der DS-Technologie aufzubringen, würde die Anwendungsbreite des Sensors zusätzlich erweitern.

Literatur

[1] POULY, F.; TOURAND, E.: BUISSON, J.-F.; THOMAS, O.: An alternative method for the measurement of mineral sulphide in wastewater. In: *Talanta* 50, (1999), Nr. 4, S. 737-742, doi: 10.1016/S0039-9140(99)00201-5

[2] ESSI, M. M.: Chemical Sensors for the determination of toxic species in solution. In: *Chalcogenide Letters* 8, (2011), Nr. 1, S. 25-31

[3] ENSELEIT, U.; FELLER, C.; PARTSCH, U.; VONAU, W.: Iodide determination with chalcogenide glass electrodes. In: *J. of Solid State Electrochem.* 25, (2021), Nr. 8, S. 2293-2300, doi: 10.1007/s10008-021-05000-1

[4] MILOSHOVA, M.S.; BALTES, D.; BYCHKOV, E.A.: New chalcogenide glass chemical sensors for S^{2-} and dissolved H_2S monitoring. In: *Water Science and Technology* 47, (2003), Nr. 2, S. 135-140, doi: 10.2166/wst.2003.0104

[5] CALI, C.; TAILLADES, G.; PRADEL, A.; RIBES, M.: Determination of sulfur species using a glassy-crystalline chalcogenide membrane. In: *Sensors and Actuators* B76, (2001), S. 560-564, doi: 10.1016/S0925-4005(01)00631-1

[6] FELLER, C.; PARTSCH, U.: Ceramic multilayer technology as a platform for miniaturized sensor arrays for water analysis. In: *J. Sens. Sens. Syst.* 10, (2021), S. 83-91, doi 10.5194/jsss-10-83-2021

[7] ENSELEIT, U.; BERTHOLD, M.; FELLER, C.; PARTSCH, U.; KÖRNER, S.; VONAU, W.: Chalcogenide Glass Based Heavy Metal Sensors In: *Sensors & Transducers* 219, (2018), Nr. 1, S. 1-8, http://www.sensorsportal.com

Danksagung

Die Arbeiten wurden gefördert vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (BMWi) über die Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigung „Otto von Guericke“ e.V. (AiF) im Rahmen des Programms „Zentrales Innovationsprogramm Mittelstand“ (ZIM)-kooperationen unter dem Förderkennzeichen ZF 4088707AW9.

Das Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik Meinsberg e.V. wird mitfinanziert durch Steuermittel auf der Grundlage des vom Sächsischen Landtag beschlossenen Haushaltes.

DOI 10.5162/15dss2021/P8.3

P8.3
Spatially resolved read-out of enzymatic reactions based on CdSe/ZnS quantum dots

S. Zhao, W. Parak, Universität Hamburg, Hamburg/D; M. Riedel, G. Göbel, F. Lisdat, Technische Hochschule Wildau, Wildau/D; Z. Yue, Nankai University, Tianjin/China

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/P8.4

Herstellung und Charakterisierung von flexiblen potentiometrischen pH-Sensoren auf Parylene C Substraten

Franz Selbmann[1,2], Frederic Güth[1], Christian Miersch[1] und Yvonne Joseph[1]

[1]Institut für Elektronik- und Sensormaterialien, TU Bergakademie Freiberg, Freiberg, Deutschland
[2]Fraunhofer-Institut für Elektronische Nanosysteme, Chemnitz, Deutschland
Kontakt: franz.selbmann@esm.tu-freiberg.de

Einleitung

Sensoren sind ein Schlüsselelement, um intelligente Systeme und das Internet der Dinge (engl. Internet of Things IoT) zu ermöglichen. Für die Realisierung smarter medizinischer Wearables, intelligenter Klebebänder oder für die Integration von Sensoren zur Überwachung von Leichtbaustrukturen werden dabei insbesondere Sensorkonzepte auf Basis flexibler Materialien benötigt. Dabei wurde in der Vergangenheit eine Vielzahl an Sensorkonzepten für die Messung physikalischer Größen von starren Substraten auf flexible übertragen oder speziell für letztere entwickelt. Im Gegensatz dazu gibt es bisher nur wenige flexible Sensorkonzepte für die Messung chemischer Größen.

Der pH-Wert als Maß für die Aktivität der Hydroniumionen ist eine wichtige Größe für viele industriell oder auch biologisch relevante, chemische Reaktionen, sodass ein entsprechend hohes Interesse für dessen Messung besteht. Um den pH-Wert im Rahmen von Anwendungen wie bspw. medizinischen Wearables, der Strukturüberwachung von Leichtbauteilen oder mittels geometrieadaptiver Sensorik messen zu können, ist ein Konzept für einen flexiblen pH-Sensor mit gleichzeitig hohem Miniaturisierungspotenzial zielführend. Letzteres ermöglicht darüber hinaus durch die damit einhergehende erhöhte Integrationsdichte sowie besseres Handling auch eine Weiterentwicklung für bereits etablierte Anwendungen der pH-Sensorik, bspw. im Bereich der Umwelt- oder Trinkwasserüberwachung. Weitere Anforderungen an einen derartigen flexiblen pH-Sensor sind daher der Einsatz chemisch stabiler Materialien, die weiterhin mit den verwendeten Herstellungsprozessen kompatibel sind; ein einfaches und zuverlässiges, kostengünstiges sowie gleichzeitig im Hinblick auf die Massenfertigung skalierbares Sensorprinzip; hohe mechanische Festigkeiten und Zuverlässigkeiten bei gleichzeitig geringen Schichtdicken und hohen Flexibilitäten; sowie die möglichst ausschließliche Verwendung biokompatibler Materialien.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit soll daher ein neuartiges Konzept für einen flexiblen, ultra-dünnen pH-Sensor beschrieben werden, der die o. g. Eigenschaften abbildet.

Methoden und Materialien

Der entwickelte flexible pH-Sensors wurde unter Nutzung des potentiometrischen Funktionsprinzips mit einer Arbeitselektrode aus Iridiumoxid und einer Referenzelektrode aus Silber/Silberchlorid aufgebaut. Die Aktivität der Hydroniumionen wird dabei entsprechend der Nernst-Gleichung in ein elektrisches Potenzial E umgesetzt.

In Folge seiner chemischen Beständigkeit gegenüber allen gängigen Säuren, Basen und Lösemitteln sowie der sich daraus ergebenden Kompatibilität mit verschiedenen Technologien zur Schichtabscheidung und –strukturierung wurde Parylene als Material für das flexible Substrat gewählt. Poly-p-xylylen (Parylene) beschreibt eine thermoplastische Polymerfamilie, die eine einzigartige Kombination exzellenter Eigenschaften auszeichnet: Chemische Inertheit, Biostabilität und Biokompatibilität (nach ISO 10993), optische Transparenz, geringe Permeabilität gegenüber Wasser und Gasen sowie eine für Polymere vergleichsweise hohe thermische Beständigkeit. Gleichzeitig wird Parylene aus der Gasphase bei Raumtemperatur konform abgeschieden, was den Eintrag intrinsischer mechanischer Schichtspannungen vermeidet, sodass sich die hergestellten flexiblen Parylene-Substrate nicht aufrollen [1,2].

Neben Anwendungen im Bereich der Verkapselung kann Parylene aufgrund seiner Kompatibilität mit etablierten Mikrotechnologien u. a. zur Realisierung ultra-dünner flexibler Leiterplatten eingesetzt werden [3]. Parylene eignet sich daher nicht nur als Substrat für flexible Sensorik, sondern bietet darüber hinaus eine Packaging-Plattform für die direkte Integration von benötigter Elektronik zur Datenaufbereitung und –kommunikation neben dem eigentlichen Sensorelement.

Der für die Herstellung des flexiblen potentiometrische pH-Sensors verwendete Prozess ist in Abbildung 1 schematisch dargestellt: Durch Vereinzeln eines 6“-Silizium-Wafers mittels Sägen wurden Chips gewonnen (1), auf die anschließend eine wasserlösliche Opferschicht pipettiert bzw. mittels Spincoating abgeschieden und getrocknet wurde (2). Im nächsten Schritt wurde eine etwa 10 µm dicke Schicht Parylene C aus der Gasphase mit Hilfe eines Plasma Parylene LC 300 RW (Plasma Parylene Systems GmbH) abgeschieden (3). Unter Verwendung einer entsprechenden Edelstahl-Schattenmaske wurden danach die Titan-Elektroden paarweise aufgesputtert (4). Anschließend wurde eine der Titanelektroden durch Cyclovoltammetrie mit Iridiumoxid beschichtet, um die Arbeitselektrode zu realisieren (5).

Die Cyclovoltammetrie wurde in einer Drei-Elektroden-Konfiguration (Referenzelektrode: 3 M KCl Ag/AgCl, Gegenelektrode: Platinnetz) durchgeführt. Als Iridiumpräkursor wurde ein Iridium-Oxalat-Komplex verwendet. Dieser wurde in wässriger Lösung durch die Reaktion von Iridiumtetrachlorid-Hydrat als Iridiumquelle, Kaliumoxalat-Monohydrat als Komplexbildner, Kaliumcarbonat zur Einstellung

DOI 10.5162/15dss2021/P8.4

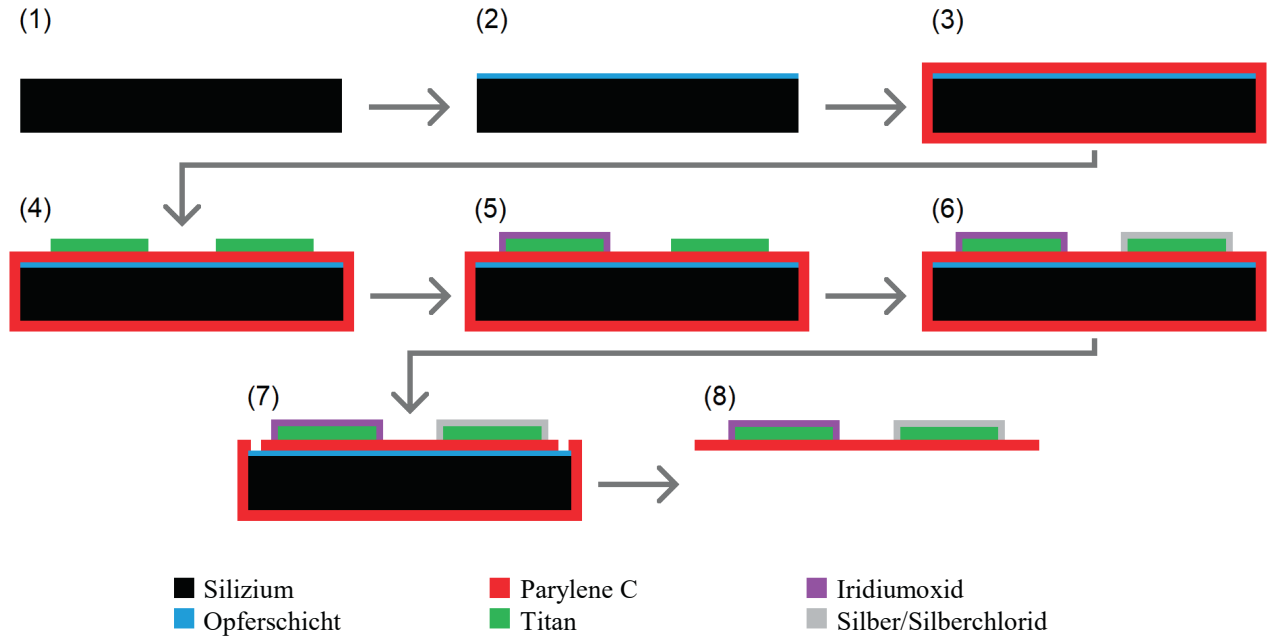


Abb. 1: Schematische Darstellung des Prozesses für die Herstellung der flexiblen potentiometrischen pH-Sensoren auf Basis von Parylene.

des pH-Wertes sowie Wasserstoffperoxid zur Beschleunigung der Komplexbildung hergestellt [4].

Zur Abscheidung wurde das Potential an der Arbeitselektrode mehrfach mit einer Geschwindigkeit von 0,1 V/s zwischen den Grenzen von -0,7 V und 0,9 V variiert. Zur Durchführung der Abscheidung und der elektrochemischen Experimente wurde ein PalmSens4 Potentiostat (PalmSens) verwendet [5].

Auf den flexiblen pH-Sensor wurde durch Aufrakeln einer Silber/Silberchlorid-Paste (Gwent Electronic Materials, Ag/AgCl 60/40) über die zweite Titanelektrode eine Quasi-Referenzelektrode (QRE) realisiert (6). Die Ag/AgCl-Schicht wurde anschließend bei 60 °C für 30 Minuten in einem Trockenschrank behandelt.

In Vorbereitung des Freistellens des flexiblen Parylene-Substrats wurde das Parylene am Probenrand mit Hilfe eines Skalpels eingeschnitten, um einen entsprechenden Zugang zur Opferschicht zu realisieren (7), die dann im letzten Schritt in Wasser aufgelöst wurde (8). Ein Foto einer freigestellten Elektrode ist in Abb. 2 gezeigt.

Die hergestellten Iridiumoxidelektroden wurden mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskopie (REM) untersucht, um Oberflächenbeschaffenheit, d. h. Rauheit und Homogenität der Schicht, zu beurteilen. Zur Bewertung der Grenzflächen und Schichtdicken wurden zudem Querschliffe im REM untersucht.

Die sensorischen Eigenschaften der hergestellten flexiblen pH-Sensoren wurden durch die Bestimmung der Potentialdifferenz zwischen der IrOx-Elektrode und entweder der aufgerakelten QRE oder einer externen Referenzelektrode (Ag/AgCl 3M KCl) ermittelt. Als Messmedium wurden Pufferlösungen (BDH Chemicals) verwendet. Zusätzlich wurden Titrationsexperimente mit Hilfe einer Pufferlösung durchgeführt, die aus einer äquimolaren Mischung von jeweils 0,04 molarer Bor-, Phosphor- und Essigsäure bestand, zu der jeweils mit 1 molarer Salzsäure- bzw. Kaliumhydroxidlösung titriert wurde. Während der Titration wurde der pH-Wert mit einer gewöhnlichen pH-Einstabmesskette (Mettler Toledo InLab Science) bestimmt. Alle Experimente wurden temperiert bei (25 ± 0,5) °C durchgeführt.



Abb. 2: Fotographische Aufnahme des freigestellten potentiometrischen pH-Sensors. Links) QRE, rechts) IrOx-Arbeitselektrode.

Ergebnisse und Diskussion

Die Dicke der IrOx-Schicht kann während der Abscheidung durch die Anzahl der Wiederholungen der Potentialzyklen eingestellt werden. Dabei nimmt die Schichtdicke mit steigender Zyklenzahl zu. In Abbildung 3 sind REM-Querschnittsaufahmen der resultierenden Schichten bei verschiedenen Zyklenzahlen gezeigt. Als Optimum der untersuchten Parameter stellte sich eine Zyklenzahl von 100 mit einer resultierenden Schichtdicke von ca. 80 nm heraus, da hier eine dichte und homogene Schicht erzeugt wurde. Dickere Schichten zeigten häufig Risse und bei dünneren Schichten war nicht immer eine vollständige Beschichtung gegeben.

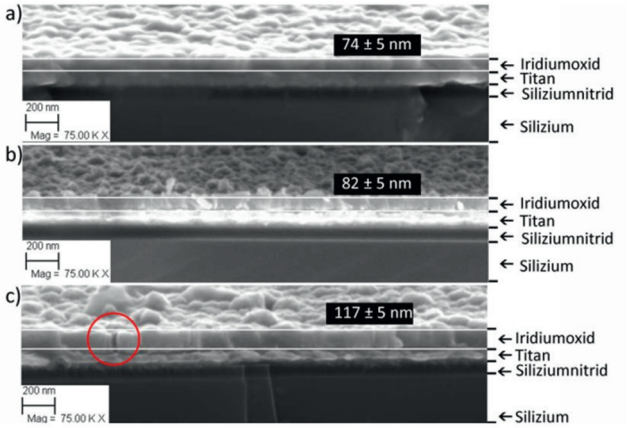


Abb. 3: REM-Aufnahmen von Probenquerschnitten hergestellter Elektroden. Die Dicke der IrOx-Schichten ist angegeben. Die Anzahl der durchlaufenen Zyklen während der Abscheidung war a) 50 Zyklen, b) 100 Zyklen, c) 200 Zyklen. In Abbildung c) ist ein Riss durch die Schicht markiert.

In Abbildung 4 sind die Ergebnisse eines Titrationsexperiments dargestellt. Die IrOx-Elektroden zeigen eine lineare Sensorantwort und eine pH-Empfindlichkeit von etwa

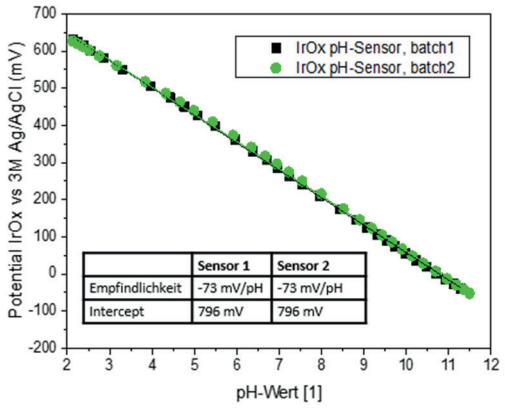


Abb. 4: Vergleich der pH-Abhängigkeit des Sensorsignals zweier unabhängig voneinander hergestellten IrOx-pH-Elektroden gegenüber der kommerziellen Referenzelektrode.

- 73 mV/pH zwischen pH 2 und 11,5. Diese Werte sind vergleichbar mit veröffentlichten Ergebnissen [4]. Elektroden aus mehreren Chargen, die an verschiedenen Tagen hergestellt wurden, zeigen eine hohe Reproduzierbarkeit in Bezug auf Empfindlichkeit und Achsenabschnitt, wie die eng übereinanderliegenden Datenpunkte in Abbildung 4 belegen. Diese Ergebnisse lassen auf eine hohe Robustheit des Beschichtungsprozesses schließen.

Das Driftverhalten einer IrOx-Elektrode in einem pH 4 Puffer über 22 Stunden ist in Abb 5 dargestellt. Die Driftrate beträgt weniger als 1 mV/h, was für viele Anwendung ausreichend ist. Es kann vermutet werden, dass die Drift durch parallel ablaufende Sekundärreaktionen an der Grenzfläche zwischen Messlösung und sensitiver Schicht verursacht wird. Möglicherweise können zukünftig elektrochemische Vorbehandlungen oder auch der Einsatz von protonenleitenden Schutzschichten, wie Nafion oder Tantalpentoxid die Stabilität des Messsignals verbessern.

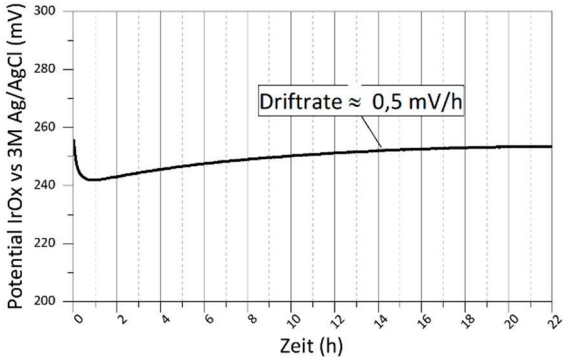


Abb. 5: Driftverhalten einer pH-IrOx-Elektrode in einem pH 4 Puffer über 22 Stunden gegenüber der kommerziellen Referenzelektrode.

Zur Beurteilung der sensitiven Eigenschaften im gebogenen Zustand wurde eine Elektrode um einen zylindrischen Biegekörper mit einem Biegeradius von 4 mm gelegt und fixiert (siehe Abb. 6). Mit dieser Elektrode wurde dann ein weiteres Titrationsexperiment durchgeführt. In Abb. 7 ist zu erkennen, dass die Elektrode trotz der Biegung über den Versuchszeitraum von ca. 5000 s stabile Messwerte liefert und auf die Änderungen des pH-Werts sowohl bei Zugabe von HCl als auch bei Zugabe von KOH reagiert. Die ermittelte Empfindlichkeit liegt erneut bei ca. -70 mV/pH und ist

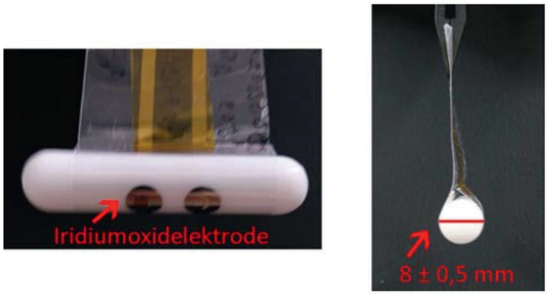


Abb. 6: Frontal- (links) und Seitenansicht (rechts) einer gebogenen flexiblen Elektrode.

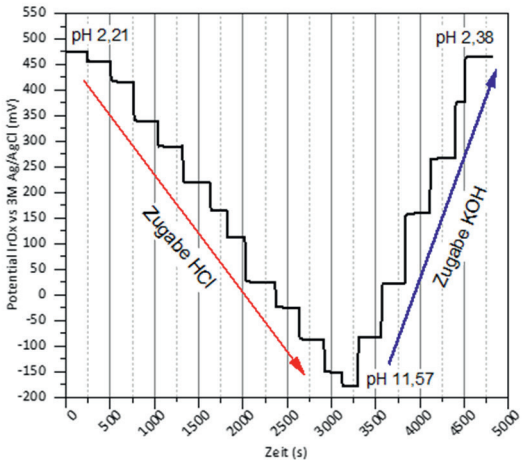


Abb. 7: Sensorverhalten einer gebogenen IrOx-pH-Elektrode über die Zeit bei Titration mit HCl und KOH gegenüber der kommerziellen Referenzelektrode.

damit vergleichbar mit den Ergebnissen für die nicht gebogene Elektrode (vgl. Abb. 4).

Die bisher gezeigten Ergebnisse wurden mit einer externen Referenzelektrode (Ag/AgCl 3 M KCl) bestimmt. Die Sensoreigenschaften des hergestellten Sensors als Kombination aus integrierter QRE und IrOx-Elektrode sind in Abb. 8 gezeigt. In verschiedenen Pufferlösungen, deren Chloridionenkonzentration konstant gehalten wurde, zeigt sich eine Sensorantwort mit einer Empfindlichkeit von ca. -66 mV/pH und einer leichten Drift. Es ist zu vermuten, dass die etwas geringere Empfindlichkeit und auch die Drift wenigstens teilweise auf die QRE zurückzuführen sind. Möglicherweise gehen Teile des in der aufgerakelten Paste enthaltenen Silbers oder auch Silberchlorids in Lösung und beeinflussen somit das Potential und die Potentialstabilität. Nichtsdestotrotz eröffnet das in Abb. 8 gezeigte Ergebnis eine Vielzahl möglicher Anwendungen der hergestellten flexiblen pH-Sensoren.

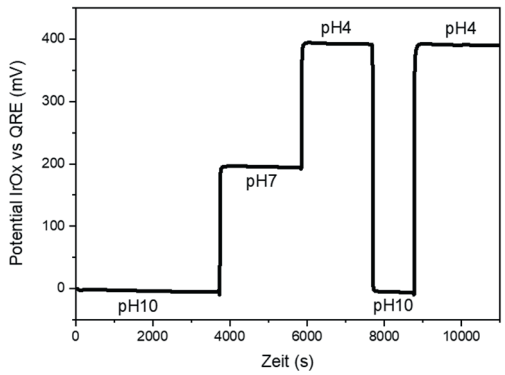


Abb. 8: Gemessenes Potential zwischen integrierter QRE und IrOx-Elektrode bei verschiedenen pH-Werten.

Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen der Untersuchungen wurde ein neues Konzept für die Realisierung eines ultra-dünnen und flexiblen potentiometrischen pH-Sensor erfolgreich demonstriert. Dabei werden Empfindlichkeiten der Arbeitselektrode von bis zu -73 mV/pH im pH-Bereich zwischen pH 2 und pH 11,5 erreicht. Gleichzeitig besitzt der Sensor nur eine geringe Driftrate von weniger als 1 mV/h. Insbesondere sind die Sensoreigenschaften dabei im flachen und gebogenen Zustand des Sensors vergleichbar. Der etablierte flexible pH-Sensor eröffnet damit eine Vielzahl an Anwendungen wie bspw. in smarten Klebebändern oder zur Überwachung von Korrosion. Da sowohl Substratmaterial als auch die Materialien für die Arbeitselektrode biokompatibel sind, können mit dem flexiblen Sensor je nach Ausführung der Referenzelektrode sogar Anwendungen wie medizinische Wearables und Implantate adressiert werden, bei denen Biokompatibilität gefordert ist.

Zur Verbesserung der Sensoreigenschaften muss vor allem die QRE in eine vollwertige Referenzelektrode weiterentwickelt werden, um Messungen in verschiedenen Medien unabhängig von der Chloridionenkonzentration durchführen zu können. Hierzu kann z.B. eine salzbeladene Polymerschicht über der Elektrode aufgebracht werden. Die Arbeiten dazu bauen auf ersten Versuchen aus früheren Arbeiten auf [6].

Literatur

[1] SELBMANN, F. ; BAUM, M. ; WIEMER, M. ; GESSNER, T.: Deposition of Parylene C and Characterization of its Hermeticity for the Encapsulation of MEMS and Medical Devices. In: *Tagungsband 11th IEEE Annual International Conference on Nano/Micro Engineered and molecular Systems, Matsushima Bay und Sendai / Japan,* April 2016

[2] SELBMANN, F. ; BAUM, M. ; MEINECKE, C. ; WIEMER, M. ; KUHN, H. ; JOSEPH, Y.: Low Temperature Parylene Based Adhesive Bonding Technology for 150 mm and 200 mm Wafers for Fully Biocompatible and Highly Reliable Microsystems. In: *ECS J. Solid State Sci. Technol. 10 (2021) 074010*

[3] SELBMANN, F. ; ROSCHER, F. ; TORTATO, F. d. S. ; WIEMER, M. ; OTTO, T. ; JOSEPH, Y.: An ultra-thin and highly flexible multilayer Printed Circuit Board based on Parylene. In: *Tagungsband Smart Systems Integration, online,* März 2021

[4] MARZOUK, S.A.M.: Improved Electrodeposited Iridium Oxide pH Sensor Fabricated on Etched Titanium Substrates. In: *Analytic Chemistry 75* (2003) *1258-1266*

[5] MIERSCH, C.: *Entwicklung, Herstellung und Charakterisierung eines flexiblen pH-Sensors auf Parylene-C-Substrat*, Technische Universität Bergakademie Freiberg, Masterarbeit, 2019

[6] GÜTH, F. ; ARKI, P. ; LÖHER, T. ; OSTMANN, A. ; JOSEPH, Y. : *Electrochemical Sensors Based on Printed Circuit Board Technologies*. In: *Procedia Engineering 168 (2016) 452-455*

DOI 10.5162/15dss2021/P8.4

Danksagung

Unser Dank gilt allen beteiligten Kolleginnen und Kollegen des Instituts für Elektronik- und Sensormaterialien, des Instituts für Angewandte Physik, sowie des Instituts für Werkstoffwissenschaften der TU Bergakademie Freiberg. Ein besonderer Dank geht dabei an Valentin Garbe und Florian Honeit für das Sputtern, Susann Rabe für die Herstellung der Querschliffe sowie Brigitte Bleiber für die Anfertigung der REM-Aufnahmen. Ein weiterer besonderer Dank gebührt dem Fraunhofer-Institut für Elektronische Nanosysteme ENAS für die Bereitstellung der freistehenden flexiblen Parylene-Substrate.

DOI 10.5162/15dss2021/P8.5

Feldeffektbasierte pH-Sensoren für die Überwachung von sauren Grubenwässern

T. Ihling[1], F. Güth[1], P. Arki[1], Y. Joseph[1]

[1]Institut für Elektronik- und Sensormaterialien, TU Bergakademie Freiberg, Freiberg, Deutschland
Kontakt: Thomas.Ihling@esm.tu-freiberg.de

Einleitung

Die messtechnische Überwachung und Behandlung von sauren Grubenwässern (engl. Acid Mine Drainage, AMD) spielt eine wesentliche Rolle im Bereich des Umweltschutzes, sowie im Korrosionsschutz von Bauwerken und Geräten. Saure Grubenwässer entstehen beim Eisen- und Kohlebergbau. Dort kommt es beim Rohstoffabbau durch die Freilegung von Sulfidmineralien (wie Pyrit) beim Kontakt mit dem ins Bergwerk einfließenden Wasser und Sauerstoff aus der Luft zur Reaktion zu sauren Grubenwässern [1].

$$FeS_2 + 3{,}75\ O_2 + 0{,}5\ H_2O \rightarrow Fe^{3+} + 2\ SO_4^{2-} + H^+$$

Die durch den Bergbau freigelegten Eisensulfidmineralien reagieren dabei zu Schwefelsäure und lösen Fe^{2+}-Ionen aus dem Felsgestein. Die Fe^{2+}-Ionen und der Schwefel werden durch spezielle Bakterien und Archaeen zu Fe^{3+}-Ionen und Schwefelsäure oxidiert [1]. Die gelösten Fe^{3+}-Ionen färben das ins Bergwerk eindringende Grubenwasser rot-braun und gelangen früher oder später aus dem Bergwerk in Strömungsgewässer [2]. Die freigesetzten H^+-Ionen führen zudem zu einer sauren pH-Wertänderung. Aufgrund der unterschiedlichen Lage der Stollen kommt es zudem zu unterschiedlichen Temperaturen, Durchflussmengen, sowie geochemischen Milieubedingungen mit verschiedenen mehrfachionenangereicherten Grubenwässern [3] [4]. Beispielsweise sind die Hauptinhaltsstoffe der Grubenwässer des Lehr- und Forschungsbergwerks der TU Bergakademie Freiberg „Reiche Zeche“ nach [5]: HCO_3^-, Cl^-, NO_2^-, NO_3^-, SO_4^{2-}, Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Fe^{2+}, Fe^{3+}, sowie Spurenelemente (wie Al, Mn, Zn, As, Cd, Cu, Ni, Pb).

Die mit Schwermetallionen belasteten sauren Grubenwässer können beim Ausfluss aus dem Bergwerk in natürliche Gewässer die dort lebenden Tiere und Pflanzen schädigen oder töten und verschlechtern insgesamt die Wasserqualität (Trinkwasser soll nach der Trinkwasserverordnung einen pH-Wert zwischen 6,5 und 9,5 haben und die Schwermetallgrenzwerte nicht überschreiten), sowie die Stabilität des betroffenen Ökosystems. Eine Aufbereitung der sauren Grubenwässer, sowie eine pH-Wert Überwachung ist daher erforderlich [2].

Ein robustes sensorgestütztes Echtzeit-Überwachungssystem würde helfen, die Notwendigkeit und Größenordnung von Aufbereitungsmaßnahmen der Grubenwässer zur pH-Wert-Neutralisation und Schwermetallionenausfällung zu bestimmen und somit die Auswirkungen auf die Umwelt zu minimieren. Ein solches System erfordert allerdings eine möglichst exakte, lokal kontinuierlich einsetzbare und unter den korrosiven Bedingungen stabile Messmethodik.

Aktuell werden vor allem Glaselektroden und Indikatorpapier für die Überwachung des pH-Wertes in sauren Grubenwässern im Bergwerk eingesetzt. Indikatorpapiere müssen manuell angewendet werden und sind daher für eine automatisierte und kontinuierliche Datenaufnahme nicht geeignet. Konventionelle Standard-pH-Glaselektroden als potentiometrische Sensoren liefern zwar ein elektrisches Signal und sind somit prinzipiell für automatisierte Systeme einsetzbar. Sie sind aber in sauren Grubenwässern wegen der hohen Konzentrationen an Metall-, Chalkogenid- und Halogenid-Ionen zur Bestimmung des pH-Wertes der Lösungen nicht gut geeignet. Die dünne Glasmembran der pH-Glaselektrode baut sich in Wasser mit hohen Konzentrationen an Mehrfachionen schnell ab und ist auch nur bedingt mechanisch robust. Darüber hinaus verringern Schmutz, Staub und Mikroorganismen im Wasser die Lebensdauer der Elektrode. All dies beeinflusst die Genauigkeit von pH-Glaselektroden in solchen Umgebungen durch starke Drifteffekte und eine beschleunigte Alterung der Elektroden. Damit verbunden sind Nachteile im Hinblick auf große Ungenauigkeiten der pH-Wertmessungen, ein hoher Materialverschleiß der pH-Sensoren und ein hoher Wartungsaufwand.

Alternative robuste, miniaturisierbare und integrierbare pH-Sensoren, die zugleich einen geringeren Wartungsaufwand und eine erhöhte Lebensdauer aufweisen, könnten entscheidend die pH-Wert-Überwachung im Bergwerk verbessern und die Verschleißkosten und die Umweltbelastung reduzieren. Um diesen Anforderungen gerecht zu werden, bieten sich feldeffektbasierte pH-Sensoren [6] an, diese wurden aber bisher noch nicht systematisch für den Einsatz in sauren Grubenwässern untersucht.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden daher Versuche mit Elektrolyt-Isolator-Halbleiter-(EIS)-Strukturen durchgeführt, um ihre Eignung zur Überwachung von sauren Grubenwässern zu evaluieren. Die Besonderheit solcher EIS-Strukturen ist ihr einfacher Aufbau, der im einfachsten Fall aus einer dünnen Metalloxidschicht auf einem Halbleitermaterial besteht und sich für ein schnelles und kostengünstiges Materialscreening eignet. Die Materialien können in gängige feldeffektbasierte Sensoren überführt werden. Das Funktionsprinzip dieser pH-Sensoren ist in der Literatur beschrieben [7]. Es beruht auf der Wechselwirkung des sauren Grubenwassers mit der oberflächennahen pH-sensitiven Metalloxidschicht des Sensors, die die Ausbildung eines pH-abhängigen Oberflächenpotentials nach dem „site-binding-Modell“ verursacht [8]. Dieses Po-

tential beeinflusst signifikant die Ladungsträgerverteilung in der Halbleiterschicht, was bei einer EIS-Struktur durch eine Verschiebung der Kapazitäts-/Spannungskurven (C/V) detektiert werde kann. Diese Verschiebung erfolgt direkt proportional zur pH-Wert-Änderung.

Experimentelle Arbeiten

Die für die Versuche genutzten EIS-Strukturen bestehen aus jeweils einer dünnen Metalloxidschicht, die auf einen <100> mit 10^{16} Atome/cm^3 Bor p-dotierten 300 µm dicken Siliziumwafer mit einem thermischen Oxid von 55 nm ± 5 nm Schichtdicke aufgebracht wurde. Den Rückseitenkontakt bildet eine dünne Aluminiumschicht. Es wurden jeweils drei 1,2 cm x 1,2 cm große Stücke untersucht, die aus dem gleichen Wafer herausgetrennt wurden.

Aufgrund der in der Literatur beschriebenen hohen Sensitivität, Linearität und geringen Hysterese [9] [10] [11] wurden als pH sensitive Metalloxide Ta_2O_5 und Nb_2O_5 ausgewählt. Die Beschichtung der sensitiven Schichten erfolgte mittels Magnetronsputtern bei einer Rotation von 5 U/min für drei verschiedene Schichtstrukturen mit einer Gesamtschichtdicke von 120 nm. Im Detail wurden reine Ta_2O_5-Schichten, Nb_2O_5-Schichten, und ein alternierendes Nanolaminat aus abwechselnd 20 nm dicken Ta_2O_5 und Nb_2O_5 Schichten mit Ta_2O_5 als äußere Schicht abgeschieden. Die Schichten wurden anschließend noch einer RTP (rapid thermal processing)-Temperaturbehandlung unterzogen, um ihre Sensoreigenschaften zu verbessern. Ta_2O_5 besitzt laut Literatur [9] [10] [12] die besten pH-sensitiven Eigenschaften in amorpher Form und zudem die Eigenschaft eines Protonenleiters [13], weshalb es als Deckschicht des Nanolaminates verwendet wurde.

Als Analyt wurden Schwefelsäure und Grubenwasserproben genutzt, die aus dem Forschungs- und Lehrbergwerk „Reiche Zeche“ der TU Bergakademie Freiberg entnommen wurden. Die Probeentnahmestandorte mit den Grubenwasserflussrichtungen sind in Abb. 1 dargestellt.

Nach der Probennahme wurden die Proben hinsichtlich ihrer Leitfähigkeit, ihres Redoxpotentials, dem pH-Wert, sowie der Durchflussmenge für den jeweiligen Probennameort charakterisiert. In Tabelle 1 sind die Messparameter der Probennamestellen dargestellt.

Tabelle 1: Messparameter pH-Wert, Leitfähigkeit und Redoxpotential der Realmessproben von sauren Grubenwässern aus der Reichen Zeche, Freiberg.

Proben	Probeentnahmeort In der Reichen Zeche	pH-Wert Glaselektrode	mittlere Leitfähigkeit	Redox-potential
Probe #1	BHMZ (WHSt13)	2,71	4,74 mS	530 mV
Probe #2	HGST-PSQW	7,16	765 µS	330 mV
Probe #3	HGSt 14	7,51	2,78 mS	600 mV

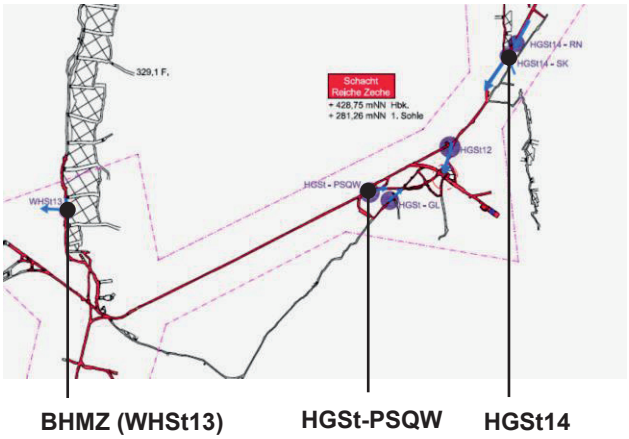


Abb. 1: Grubenwasser Probeentnahmestandorte aus dem Forschungs- und Lehrbergwerk „Reiche Zeche“ (1. Sohle) der TU Bergakademie Freiberg, die Grubenwasserflussrichtungen sind mit blauen Pfeilen gekennzeichnet. Die Durchflussmenge an den Standorten schwankt über das Jahr je nach niederschlagsbedingten Wassereintrag von 1,61 L/s (HGSt14) bis 0,021 L/s (WHSt 13) [3].

Der verwendete Messaufbau ist in Abb. 2 dargestellt. Zur Messung wird die zu messende EIS-Struktur in eine Durchflussmesszelle mit integrierten Messelektroden und Fluidikzuführungsschläuchen eingespannt. Über eine Ag/AgCl-Referenzelektrode (3 M KCl), die den Vorderseitenkontakt durch das Grubenwasser herstellt, sowie eine Kupferplatte, die im Kontakt mit der leitfähigen Rückseite der EIS-Struktur steht, wird der elektrische Messkreis geschlossen. Die verwendeten Elektroden sind durch geschirmte Kabel an ein LCR-Meter (HP 4284A) angeschlossen, das dann die C/V-Kurven aufnimmt. Zur Bereitstellung, Mischung und Dosierung der Grubenwasser-Proben, sowie der Spülung des Systems, wurden Dosierpumpen und ein 6-Wege-Ventil verwendet. Das gesamte Messsystem wird über ein LabView-Programm gesteuert.

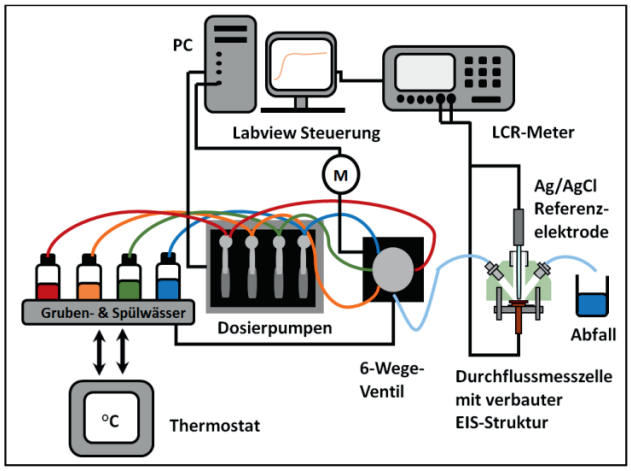


Abb.2: Schematische Darstellung des Messaufbaus

DOI 10.5162/15dss2021/P8.5

Ergebnisse und Diskussion

Da Nb_2O_5 eine Vielzahl an Kristallphasen mit der stabilen TT-, T-, M- und H-Phase [14] besitzt, wurde zunächst untersucht, welche Kristallphase und damit Temperaturbehandlung für einen Nb_2O_5-pH-Sensor am besten geeignet ist. Dazu wurden die Sensitivität der jeweiligen Probe im pH-Bereich von 3 bis 11 sowie die zugehörige Linearität des Messsignals bestimmt. Weiterhin wurde die Hysterese bei pH 3 ermittelt.
In Abb. 3 sind die ermittelten Sensorparameter in Abhängigkeit der RTP-Temperaturbehandlung dargestellt.

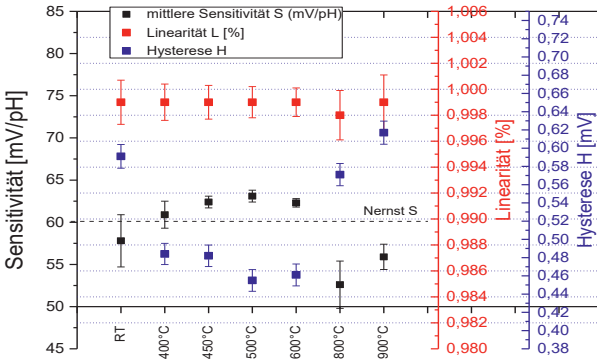


Abb.3: Ermittelte Sensitivitäts-, Linearitäts- und mittleren Hysterese- Werte für eine 120 nm Nb_2O_5-Schicht (Beschichtung bei Raumtemperatur) und anschließender RTP-Temperaturbehandlung von 400 °C bis 900 °C.

Die niedrigste Hysterese bei hoher Sensitivität und Linearität wurde für eine Temperatur von 500 °C für Nb_2O_5 gemessen und daher ausgewählt. Bei 500 °C liegt Nb_2O_5 gemäß durchgeführter XRD-Messungen in der amorphen Phase mit geringen TT-Phasenanteilen vor. Ta_2O_5 wurde ebenfalls bei 500 °C RTP behandelt und liegt bei dieser Temperatur noch amorph vor.
Um die generelle Verwendbarkeit des Messprinzips für saure Grubenwässer zu demonstrieren und Auskunft über die Signaländerungen bei geringen pH-Wert-Änderungen zu geben, wurde ausgehend von einer realen Grubenwasserprobe mit pH 7,51 schrittweise 10%ige Schwefelsäure zutitriert, um eine breite Verteilung von pH-Werten saurer Grubenwässer zu simulieren. Nach jedem Titrationsschritt wurden der pH-Wert des Messelektrolyten mit einer konventionellen pH-Glaselektrode bestimmt und jeweils 5 CV-Kurven aufgezeichnet, aus denen dann jeweils ein Mittelwert und die Standardabweichung der Sensorantwort bestimmt wurden.
Die Sensorantwort des Nb_2O_5-Sensors in Abhängigkeit der zugegebenen Menge an Schwefelsäure zur Simulation verschieden saurer Grubenwässer ist in Abb. 4 dargestellt. Wie zu erwarten war nimmt der pH-Wert mit zunehmenden Schwefelsäuregehalt ab. Das Sensorsignal folgt diesem Verlauf in erster Näherung linear mit einer Steigung von etwa 63,5 mV/pH und einem R^2-Wert von 0,995 über den betrachteten Bereich von pH 7,3 bis pH 1,6.

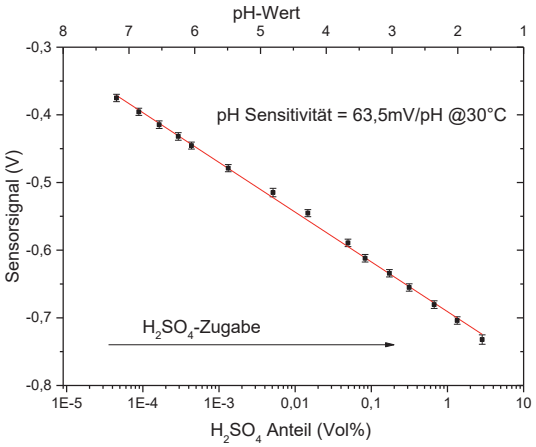


Abb.4: Verlauf des gemessenen Sensorsignals der Nb_2O_5-EIS-Struktur mit zunehmenden 10%tigen H_2SO_4-Anteil bei 30 °C.

Die Standardabweichung an den aufgenommenen Messpunkten beträgt weniger als 0,7 mV, was ca. 0,01 pH-Schritten entspricht. Damit sind alle simulierten H_2SO_4-Anteile an sauren Grubenwässern klar zu unterscheiden.
Um zu demonstrieren, dass sich die EIS-Sensoren mit den ausgewählten Sensormaterialien auch für die Messung der pH-Werte realer unterschiedlich saurer Grubenwasserproben nutzen lassen können, wurde die Durchflussmesszelle zunächst mit der realen Grubenwasserprobe mit pH 7,51 befüllt und nach zwei Minuten eine C/V-Kurve gemessen. Anschließend wurden verschiedene saure Grubenwasser Proben (pH = 2,71; pH = 7,16; pH = 7,51) in die Messzelle gepumpt und jeweils zwei Minuten zur Quellschichtausbildung sowie Messlösungsberuhigung gewartet. Dann wurde wieder eine C/V-Kurve gemessen und die Flachbandspannungsänderung registriert. Diese Prozedur wurde zyklisch wiederholt um eine mögliche Hysterese beim Wechsel von einer Grubenwasserprobe zur nächsten auszuschließen. In Abb. 5 sieht man beispielhaft das Verhalten einer Ta_2O_5-Nb_2O_5-Nanolaminat-EIS-Struktur.

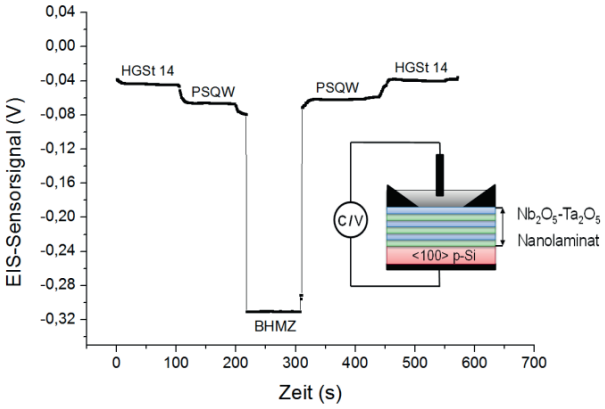


Abb. 5: Beispiel eines Sensorsignalverlaufes bei 30 °C bei Beaufschlagung mit Realproben saurer Grubenwässer.

Insert: Sensoraufbau mit Ta_2O_5-Nb_2O_5-Nanolaminat als sensitive Schicht.

Der Übergang von einem stabilen Messsignal zum nächsten erfolgte dabei in ca. 10 s. Die 10 s entsprechend der Ansprechzeit für den hier verwendeten Durchflussmesszellenaufbau. Ohne vorherigen Flüssigkeitskontakt und damit verbundener Quellschichtausbildung (Trockenzustand des EIS-Sensors) würde sich die Ansprechzeit entsprechend verlängern. Außerdem ist keine signifikante Messrichtungsabhängigkeit bezüglich der Richtung der pH-Wertänderung und damit eine zu vernachlässigende Hysterese zu beobachten. Daher könnten diese Sensoren auch über längere Zeiträume mit schwankendem Grubenwasserdurchfluss bei dynamischen Zusammensetzungen und pH-Werten verwendet werden.

Der Vergleich der Ergebnisse der drei ausgewählten Sensorstrukturen sind in Abb. 6 dargestellt. Alle drei Materialien zeigen eine lineare Abhängigkeit des Sensorsignals von den Grubenwässern mit verschiedenem pH-Wert. Außerdem wurde an den jeweiligen Messpunkten für alle Sensormaterialien eine geringe Standardabweichung des Sensorsignals von ca. 1 mV (<0,02 pH) ermittelt. Dies spricht für ein stabiles Messsignal und somit für einem robusten pH-Sensor. Die Aussagkraft dieser Messung ist jedoch mit Vorsicht zu betrachten, da mit den drei Grubenwasser-Proben nur drei Messpunkte betrachtet wurden.

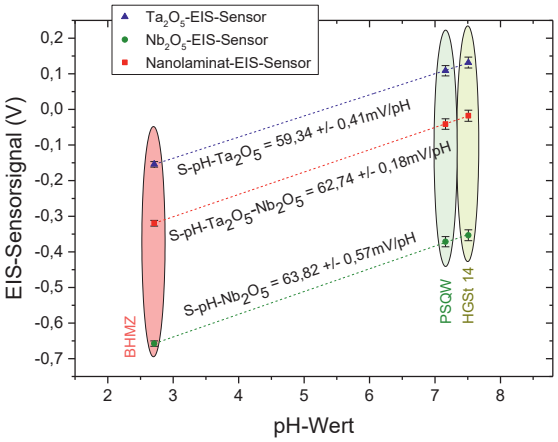


Abb.6: Korrelation der Sensorantwort für die 3 verwendeten Sensortypen mit dem pH-Wert der Realproben.

Letztlich sollte die Langzeitstabilität der Sensoren überprüft werden. Dafür wurden EIS-Strukturen mit den drei Sensormaterialien über einen Zeitraum von 4 Monaten in einem simulierten sauren Grubenwassermillieu mit 10%iger Schwefelsäure gelagert und mehrfach im Abstand von jeweils 30 Tagen vermessen. Aus den Messungen wurden die Sensitivitäts-, Linearitäts- und Hysteresewerte bestimmt. Diese sind in Abb. 7 dargestellt.

Alle drei Sensoren haben über die Dauerbeanspruchungszeit erfolgreich ihre grundlegende Sensorfunktion erhalten, wobei bei allen drei Sensoren ähnliche Tendenzen festgestellt wurden. Bei allen Materialien wurden eine geringe Abnahme der Linearität, eine geringe Zunahme der Hysterese und eine geringfügige Verschlechterung der Sensitivität verzeichnet.

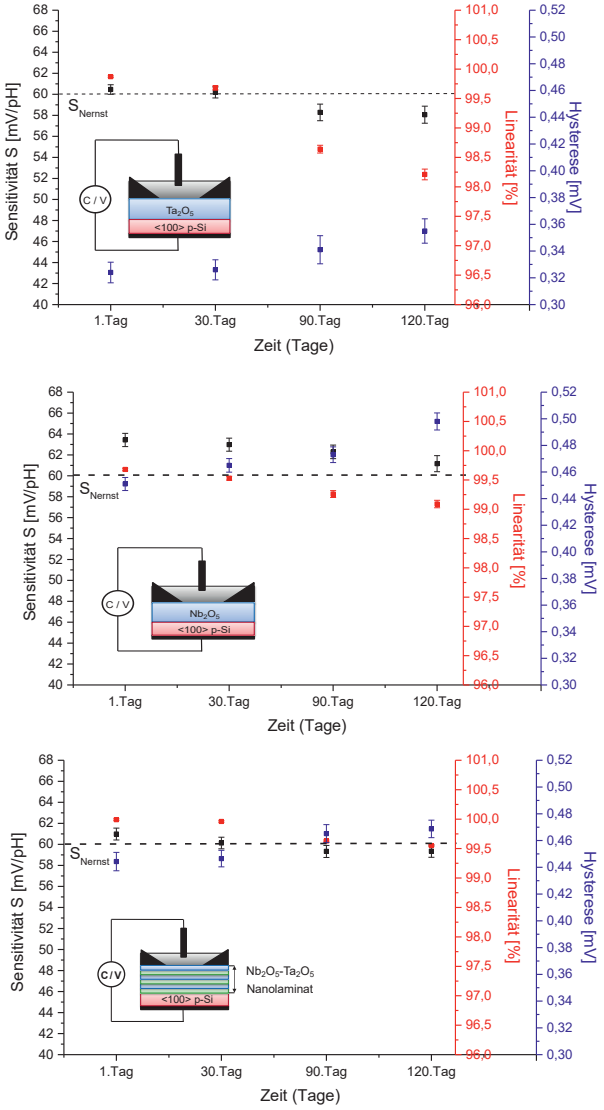


Abb.7: Korrelation der Sensitivität, Linearität und mittleren Hysterese für die 3 Sensormaterialien: Ta_2O_5-Monolayer (oben), Nb_2O_5-Monolayer (Mitte) und dem Ta_2O_5-Nb_2O_5-Nanolaminat (unten) in 10%iger H_2SO_4 über einem Zeitraum von 120 Tagen bei 30 °C.

Ta_2O_5 zeigte die geringsten Hysterese-Werte von ca. 0,32 mV bis 0,34 mV, Nb_2O_5 zeigte die höchsten Hysterese-Werte von ca. 0,45 mV bis 0,49 mV und die Nanolaminatverbundstruktur aus Ta_2O_5 und Nb_2O_5 zeigte eine mittlere Hysterese von 0,42 mV bis 0,47 mV. Die Linearitätswerte wurden bei allen Sensoren am ersten Messtag mit ca. 99,9% bestimmt. Sie nahmen beim Ta_2O_5 auf 98,2% ab, beim Nb_2O_5 erfolgte eine Abnahme auf 99,2%. Die Nanolaminatverbundstruktur aus Ta_2O_5 und Nb_2O_5 zeigte nur eine sehr geringe Abnahme auf 99,6% bis zum 120. Tag. Die Sensitivitätswerte lagen zu Beginn der Messung bei etwa 60 mV/pH und zeigten nur leichte Abnahmen über die Messdauer, wobei auch hier die Nanolaminat-Struktur die geringste Abnahme zeigte. Insgesamt konnte somit für alle drei Sensorstrukturen ein robustes stabiles Sensor-

signal über die Beanspruchungszeit von 120 Tagen festgestellt werden. Die Ta_2O_5-Nb_2O_5-Nanolaminat EIS-Struktur zeigt von den drei EIS-Strukturen die höchste Signalstabilität und Robustheit.

Zusammenfassung und Ausblick

Das Ziel dieser Arbeit war es, feldeffektbasierte pH-Sensoren auf ihre Verwendbarkeit für die lokale Überwachung des pH-Wertes saurer Grubenwässer hin zu untersuchen.

Für diesen Zweck wurden pH sensitive EIS-Strukturen hergestellt, die sensitiven Materialien (Ta_2O_5 und Nb_2O_5), hinsichtlich ihrer Struktur optimiert und anhand von realen Grubenwasserproben getestet. Die untersuchten pH Sensoren zeigen eine Sensitivität nahe dem theoretischen Limit, sowie eine hohe Reproduzierbarkeit der Messergebnisse mit geringen Schwankungen. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass sich durch die Schichtung der pH-sensitiven Materialien in Nanolaminatverbundstrukturen, die Stabilität und Lebensdauer von feldeffektbasierten pH-Sensoren erhöhen lässt.

Feldeffektbasierte pH-Sensoren sind somit für den Einsatz zur Überwachung von sauren Grubenwässern geeignet und ihre Integration in in-situ-Überwachungssysteme im Bergwerk könnte helfen unerwünschte Korrosionsprozesse an Bauwerken und Maschinen vor Ort, sowie den Austritt von stark schwermetallhaltigen sauren Wässern durch eine gezielte Nachbehandlung umzusetzen. Damit wäre ein wichtiger Schritt hin zu einem umwelt- und materialschonenderen Bergbau gemacht.

Das zukünftige Ziel ist es, ein Gesamtsystem aus feldeffektbasiertem pH-Sensor, Referenzelektrode, sowie einem integrierten Temperatursensor zur internen Kalibrierung zu entwickeln und zu optimieren, sodass in-situ-Versuche im Forschungs- und Lehrbergwerk „Reiche Zeche“ erfolgen können. Ebenfalls angedacht ist die Überführung der getesteten Materialien in ionensensitive Feldeffekttransistoren (ISFET) oder extended-gate Feldeffekttransistoren (EGFET) [15], die eine direkte Implementation in integrierte Schaltkreise (ICs) und Sensorsystemen ermöglichen.

Literatur

[1] SIMATE, G. S.; NDLOVU, S.: Acid mine drainage: Challenges and opportunities, Research Papers of School of Chemical and Metallurgical Engineering, University of the Witwatersrand, Johannesburg, South Africa, 2014

[2] KEFENI, K. K.; MSAGATI, T. A.M.; MAMBA, B. B.: Acid mine drainage: Prevention, treatment options, and resource recovery: A review. In: Journal of Cleaner Production, Nr. 151, S. 475 – 493, 2017

[3] DULAMJAV, U.: Zeitlich und räumlich aufgelöste Analyse ausgewählter Stoffströme im Grubenfeld des Forschungs- und Lehrbergwerkes der TU Bergakademie Freiberg. Technische Universität Bergakademie Freiberg, Studienarbeit, 2017

[4] PIERRE LOUIS, A.-M.; YU, H.; SHUMLAS, L.; VAN AKEN, B.; SCHOONEN, M. A. A.; STRONGIN, D. R.: Effect of Phospholipid on Pyrite Oxidation and Microbial Communities under Simulated Acid Mine Drainage (AMD) Conditions. In: Environ. Sci. Technol. 49, S. 7701–7708, 2015

[5] MISCHO, H.; ZHITENEVA, V.; BRUNE, J.: Water quality of Reiche Zeche teaching mine. Freiberg, Saxony, Germany. In: Conference: SME Annual Meeting and Mining Engineering Conference, At: Phoenix, Arizona, USA, 2016

[6] SCHÖNING, M.J.: “Playing around” with Field-Effect Sensors on the Basis of EIS Structures, LAPS and ISFETs. In: Sensors 5 (2005), Nr. 3, S.126-138

[7] GÜTH, F.; ARKI, P.; JOSEPH, Y.: Feldeffektba sierte pH-Sensoren für die Überwachung von Kühl schmierstoffen. 12.Dresdner Sensor Symposium, 2015

[8] YATES, D.E.: LEVINE, S.; HEALY, T. W.: Site-binding Model of the Electrical Double Layer at the Oxide/Water Interface. In: J. Chem. Soc. Faraday Transactions 1 (1974), Nr. 70, S.1807-1818

[9] MIKOLAJICK, T.; KÜHNHOLD, R.; RYSSEL, H.: The pH-sensing properties of tantalum pentoxide films fabricated by metal organic low pressure chemical vapor deposition. In: Sensors and Actors B: Chemical 44 (1997), Nr. 1-3, S.262-267

[10] BOUSSE, L.; MOSTARSHED, S.; VAN SHOTT, B.; DE ROOIJ, N. F.: Comparison of the Hysteresis of Ta2O5 and Si3N4 pH-Sensing Insulators. In: Sensors and Actuators B 17, S. 157-164, 1994

[11] MIKOLAJICK, T.: Feldeffektsensoren zur pH-Wert-Messung und als Transducer für Biosensoren. In: Erlanger Berichte Mikroelektronik, Shaker Verlag, TU Erlangen-Nürnberg, Dissertation, 1996

[12] GRIMMEL, P.: Ionensensitive Ta2O5- Feldeffekttransistoren: Aufbau, Optimierung und Einsatz in der Biosensorik. Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Fakultät für Chemie und Pharmazie, Dissertation, 1991

[13] TAJIMA, K.; YAMADA, Y.; BAO, S.; OKADA, M.; YOSHIMURA, K.: Proton conductive tantalum oxide thin film deposited by reactive DC magnetron sputtering for all-solid-state switchable mirror. In: J. Phys.: Conf. Ser. (2008), 100 (8), 82017

[14] SCHÄFER, H.; GRUEHN, R.; SCHULTE, F.: The modifications of niobium pentoxide. In: Angewandte Chemie Int. Ed. Engl., S.40-52, 1966

[15] KAO, C.-H.; CHEN, H.; KUO, L.-T.; WANG, J.-C.; CHEN, Y.-T.; CHU, Y.-C.; CHEN, C.-Y.; LAI, C.-S.; CHANG, S. W.; CHE WEI, C.: Multi-analyte biosensors on a CF4 plasma treated Nb2O5-based membrane with an extended gate field effect transistor structure. In: Sensors and Actuators B: Chemical 2014, Nr. 194, S. 419 – 426, 2014

Danksagung

Die Autoren danken den Verantwortlichen für den Zugang zum Forschungs- und Lehrbergwerk „Reiche Zeche“ der TU Bergakademie Freiberg, sowie für die Möglichkeit der Probenname vor Ort.

DOI 10.5162/15dss2021/P8.6

Demonstrating Fast Current Measurement from Femtoamperes to Nanoamperes with an Ultra-Low Noise Current Amplifier

Cornelius Wendt, Alexander Bohnhorst, Stefan Zimmermann and Ansgar T. Kirk

Leibniz University Hannover, Institute of Electrical Engineering and Measurement Technology, Department of Sensors and Measurement Technology, Appelstr. 9A, 30167 Hannover, Germany
Contact: wendt@geml.uni-hannover.de

Introduction

In a large number of sensor principles, the physical or chemical property being analysed is converted into an electric current, a charge, a resistance or a capacitance, whereby in the last two cases an electric current or a charge needs to be measured. Especially ionization-based sensors such as photoionization detectors (PID) or flame ionization detectors (FID) generating currents ranging from femto- to nanoamperes. In all these cases, a current amplifier converting the electric current into a measurable voltage forms the link between the sensor and the rest of the measurement system.

The performance of this current amplifier has a decisive influence on the performance of the entire measurement system. For low limits of detection, the current amplifier must offer low noise, for a large linear range large dynamic range, and for short response times high bandwidth. The combination of all these properties in a single current amplifier is a major challenge.

Experimental

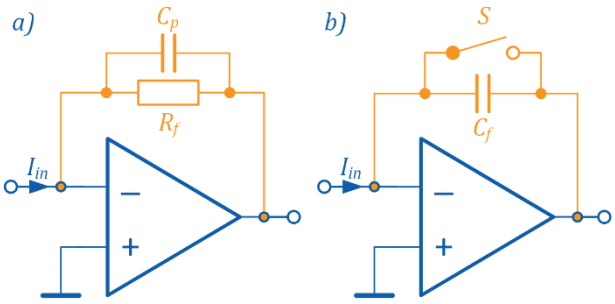


Figure 1: a) Resistive transimpedance amplifier with feedback resistor R_f and parasitic capacitance C_p. b) Capacitive transimpedance amplifier with feedback capacitance C_f and reset switch S.

Usually, the input stage of a current amplifier is designed as a resistive transimpedance amplifier, i.e. the current to be measured is converted into a voltage via a resistor. This is achieved using the circuit in Figure 1 a), in which the operational amplifier regulates the output voltage so that the current to be measured flows through the parallel network of the feedback resistor R_f and its parasitic capacitance C_p.

The higher the resistance of R_f, the lower the noise current standard deviation σ_i caused by the thermal or Johnson-Nyquist noise as given by eq. 1 [1,2]. It depends on the Boltzmann constant k_b, the absolute temperature T and and the noise bandwidth, which is approximated by the amplifier bandwidth f_g when assuming an ideal filter.

$$\sigma_i = \sqrt{\frac{4\,k_b\,T\,f_g}{R_f}} \quad (1)$$

Thus, to reduce amplifier noise at a given temperature and amplifier bandwidth, the value of the feedback resistor R_f should be chosen as high as possible. At the same time, however, a higher resistance reduces the maximum measurable current at a given output voltage and the maximum bandwidth at a given parasitic capacitance. On the one hand, as the noise current only reduces with the square root of the resistance, but the maximum measurable current reduces linearly, extremely high output voltages become necessary to achieve a large dynamic range. On the other hand, extremely low parasitic capacitances or complex compensation schemes become necessary to achieve a high bandwidth.

An alternative to overcome these limitations are capacitive transimpedance amplifiers as shown in Figure 1 b), which integrate the current to be measured on a feedback capacitor C_f and differentiate the signal again after digitization. Noise-wise, this is equivalent to a nearly infinite resistance, but the maximum measurable current can now be increased by resetting the capacitor more often through the reset switch S. However, leakage currents and charge injection of the reset switch result in new sources of error, limiting the performance of this otherwise superior concept. Here, we present an active reset architecture, which actively regulates the voltage across the capacitor to zero during reset [3], successfully compensating the errors introduced by the switches. This enables the design of a current amplifier with a unique combination of low noise, large dynamic range and high bandwidth. The basic setup is shown in Figure 2.

DOI 10.5162/15dss2021/P8.6

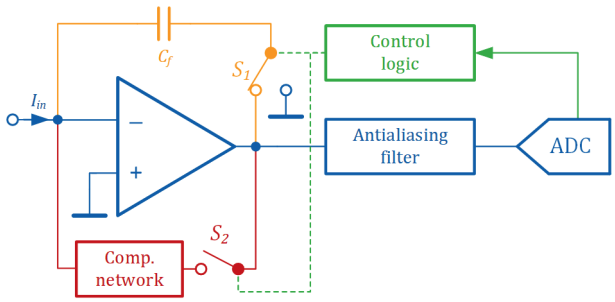


Figure 2: Basic scheme of a capacitive transimpedance amplifier with the active reset architecture, an antialiasing filter and the analog-to-digital conversion

The major advantage becomes obvious when studying the equivalent circuits of the measurement and reset configuration as shown in Figure 3. In the measurement configuration, the circuit maximizes the open resistance of the critical switch S_2 through a current-limiting compensation network in series, prevent leakage current and charge injection. Consequently, the circuit acts like an almost ideal integrator, whereby the resulting gain after differentiation only depends on the size of the capacitor C_f. When a certain charge has been integrated, the output voltage of the operational amplifier approaches its threshold, and the circuit is set to the reset configuration by the control logic. In this configuration, the closed switch S_2 turns the operational amplifier into a simple buffer, while the integration capacitor is connected between the inverting input and ground by switch S_1. Since one side of the integration capacitor and the non-inverting input of the operational amplifier are connected to ground, the voltage across the capacitor is regulated to 0 V - the capacitor is actively discharged in a quick and reliable fashion by the operational amplifier.

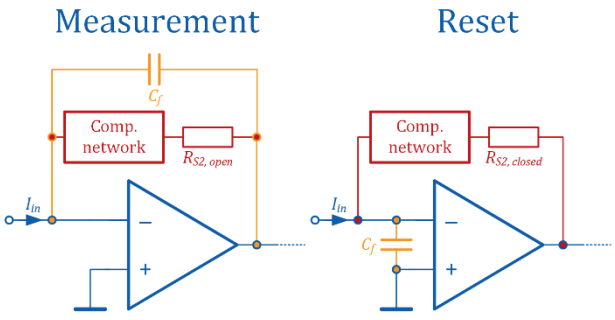


Figure 3: Equivalent circuit of the capacitive transimpedance amplifier with the active reset architecture in measurement configuration (left) and in reset configuration (right). Only the resistance of S_2 is shown, as S_1 is not connected to any critical nodes of the circuit.

This design has been successfully implemented in the demonstrator shown in Figure 4. Capacitive transimpedance amplifier, antialiasing filter and ADC are supplied galvanically isolated from earth in order to suppress unwanted interference signals. A microcontroller serves as control logic and USB interface to the measurement computer. It receives the digitized samples of the ADC and, if necessary, triggers the reset of the integration capacitor. The data are oversampled with a frequency of 1 kHz, which reduces the requirements on the digital filters.

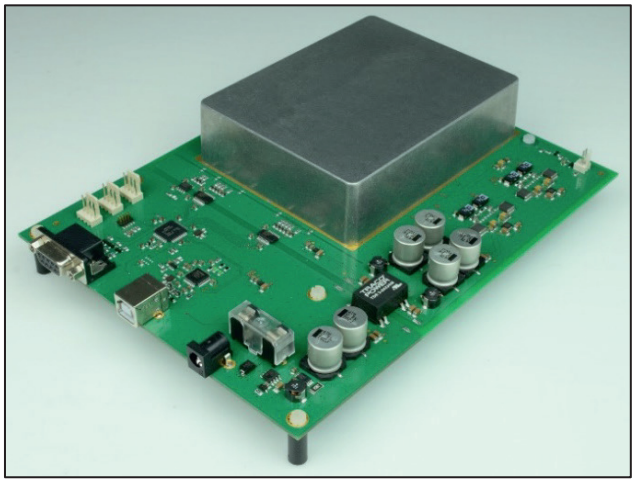


Figure 4: Photo of the capacitive current amplifier. The transimpedance amplifier circuit is covered by a shield to prevent electromagnetic interference.

Results and Discussion

The developed capacitive transimpedance amplifier shown in Figure 4 achieves a standard deviation of the measured current of 3.4 fA at a 3 dB bandwidth of 48 Hz, which corresponds to a noise current density of just 0.49 $\mathrm{fA}/\sqrt{\mathrm{Hz}}$ assuming a uniform distribution over the frequency spectrum. As shown by the comparison in Figure 5, this value is only 20 % above the theoretically possible noise current density of an ideal resistor with a resistance of 100 GΩ, (0.41 $\mathrm{fA}/\sqrt{\mathrm{Hz}}$).

However, in a real amplifier, the noise from the operational amplifier and additional noise sources of the resistor beyond Johnson-Nyquist noise would add to this. At the same time, such a high resistance as feedback element in a transimpedance amplifier would already be completely impractical for many realistic applications. On the one hand, the parasitic capacitance of the circuit would need to be just 33 fF to achieve the bandwidth of 48 Hz achieved with the capacitive transimpedance amplifier. On the other hand, to amplify a current of 10 nA at a resistor value of 100 GΩ, an output voltage of 1 kV would already be required.

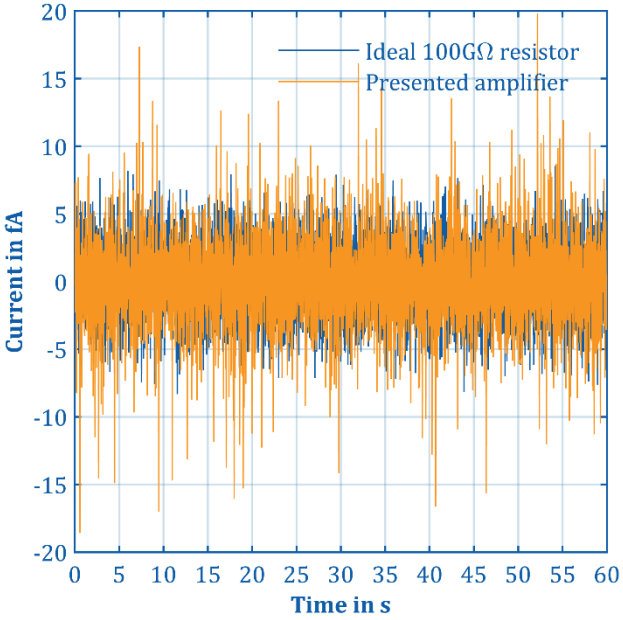


Figure 5: Comparison of the noise current of the developed capacitive transimpedance amplifier with the thermal noise of an ideal 100 GΩ resistor. Both traces use the same filter.

In contrast, the capacitive transimpedance amplifier demonstrator shown here runs with a conventional operational amplifier and is capable of covering a measurement range of six orders of magnitude from 10 fA to 10 nA without any range switching (Figure 6) while achieving the mentioned low noise current density of 0.49 $\mathrm{fA}/\sqrt{\mathrm{Hz}}$.

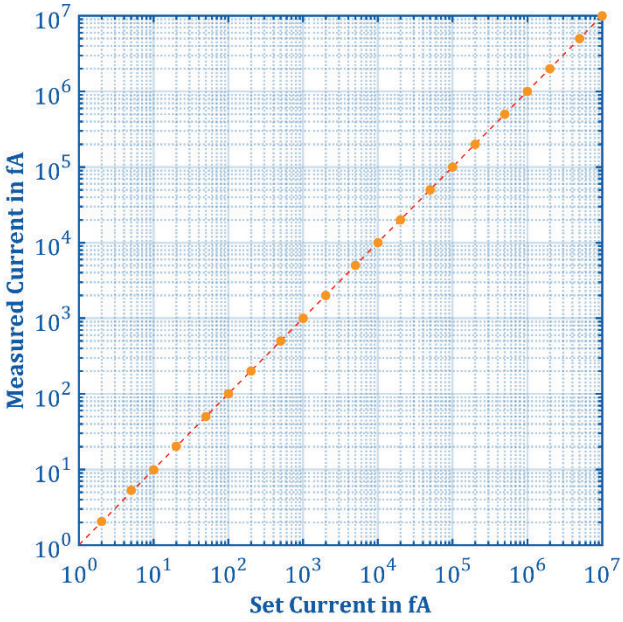


Figure 6: Current measured (dots) with the capacitive transimpedance amplifier against the set value of a current source from Keithley Instruments and Keysight Technologies and linear regression (dashed line, $R^2 = 0.99$).

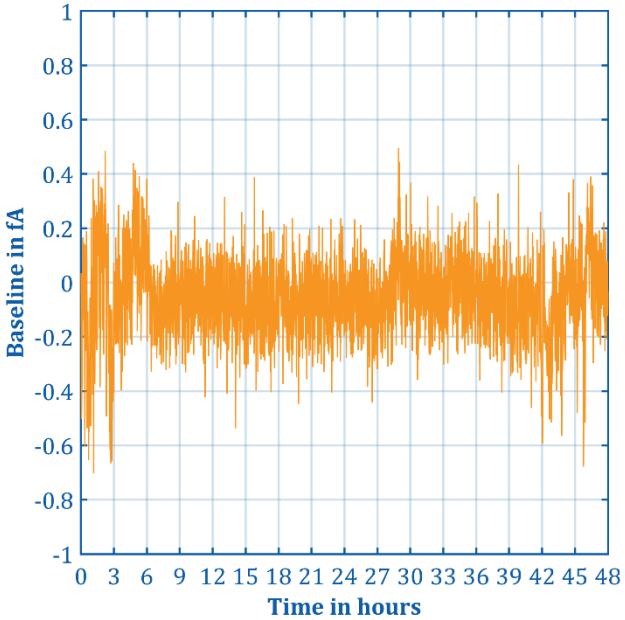


Figure 7: Baseline stability of the developed capacitive transimpedance amplifier. The baseline was determined using the median over five second measurement intervals each.

Moreover, the demonstrator achieves excellent zero-point stability even without temperature control. Over a period of two days, the zero point remained within ± 500 aA as shown in Figure 7.

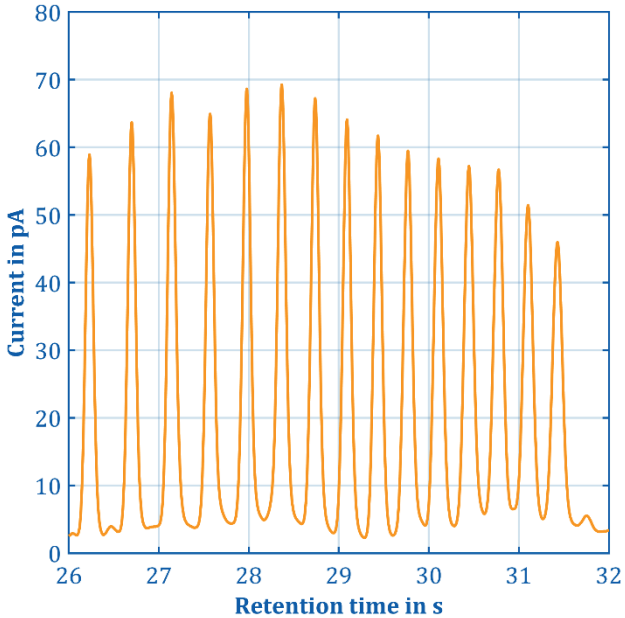


Figure 8: Measurement of current pulses generated by a flame ionization detector (FID) during a gas chromatograph (GC) run.

Figure 8 shows an exemplary measurement of fast current pulses emanating from a flame ionization de-

tector (FID) coupled to a hyper-fast gas chromatograph (GC) [4]. In this application, the characteristics of the presented amplifier are of particular advantage. The linear output signal of the FID can cover up to 7 orders of magnitude, while the hyper-fast GC generates current pulses with a full width at half maximum (FWHM) of less than 100 ms, thus requiring a high bandwidth for sampling.

Conclusion

In this work, we presented a new design of a capacitive transimpedance amplifier. As is usual for capacitive transimpedance amplifiers, it is characterised by a very low current noise density. The active reset architecture with two switches in the feedback loop of the operational amplifier and the combination of analogue and digital filters enables a continuous measurement of the current with wide linear range, excellent zero-point stability and high bandwidth.

Acknowledgements

The project "Femtoampere (fA) bis Mikroampere (µA) schnell erfassen - FUSE" is funded by the German Federal Ministry for Economic Affairs and Energy and the European Social Fund as part of the EXIST program.

References

[1] J.B. Johnson, Thermal Agitation of Electricity in Conductors, Phys. Rev. 32 (1928) 97–109.

[2] H. Nyquist, Thermal Agitation of Electric Charge in Conductors, Phys. Rev. 32 (1928) 110–113.

[3] A.T. Kirk, C. Wendt, S. Zimmermann, Rücksetzschaltung für einen kapazitiven Transimpedanzverstärker, PCT/EP 2019 077 364 A1, 2019.

[4] P. Boeker, J. Leppert, Flow Field Thermal Gradient Gas Chromatography, Anal. Chem. 87 (2015) 9033–9041.

DOI 10.5162/15dss2021/P8.7

P8.7
Herstellung stimuli-responsiver Ferrogele mittels alkalischer Präzipitation in Eisensalzen

A. Mieting, Y. Wie, D. Franke, M. Günther, G. Gerlach, Technische Universität Dresden, Dresden/D

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/P8.8

Electron Capture Detector Based on X-rays

Nic Solle, Erik Bunert and Stefan Zimmermann

Institute of Electrical Engineering and Measurement Technology, Leibniz University Hannover, Appelstr. 9A, 30167 Hannover, Germany
Contact: solle@geml.uni-hannover.de

Introduction

Electron capture detectors (ECDs), first introduced by J.E. Lovelock in 1958 [1], are characterized by their simple design and low limits of detection in the ppt_v range for substances with high electron affinity such as pesticides or halogenated compounds [1,2]. Thus, ECDs are often used in environmental analytics [3]. In classical ECDs a radioactive ^{63}Ni foil is used to ionize a carrier gas, e.g. nitrogen, generating thermalized electrons. These electrons drift towards a detector in an electric field resulting in a constant electron detector current. Analytes with sufficient electron affinity capture the thermalized electrons and are flushed out of the ECD with the carrier gas flow. Thus, the electron current reaching the detector is decreased and a measure for the analyte concentration. Pulsed operation was later introduced by R.J. Maggs et al. which increased the linear dynamic range to 10^4 [4]. Usually, radioactive ionization sources are used in ECDs because they require no maintenance and no additional power supply. However, radioactive materials are subject to regulations and costs for disposal. Therefore, despite the excellent detection limits for substances with high electron affinities, today, radioactive ECDs can be rarely found as detectors, e.g. in gas chromatography (GC).

Existing alternatives to radioactive ionization sources include non-radioactive electron sources based on helium discharge and thermionic emission [3,5–7]. Both methods show comparable results in terms of detection limits and linearity but could not be established, e.g. in GC. Helium discharge ionization sources require additional periphery such as pumps, helium gas and pulsed power supplies, and the available thermionic electron emitters cannot operate at high temperatures needed for most GC applications.

Another approach to replace the radioactive sources in ECDs is to use the ionizing radiation emitted by low energy X-ray sources. Such X-ray sources can be operated with an accelerating voltage of less than 5 kV and are not subject to costly regulatory requirements during operation. However, due to the different radiation characteristic, the ECD reaction region needs to be adapted.

Experimental

The classical ECD uses a coaxial structure to form the reaction chamber, as presented in Fig. 1. Electrode 1 consists of a ^{63}Ni foil acting as the ionization source and Electrode 2 in the middle as the detector electrode. The carrier gas with the analytes eluting from the GC column flows axially between the detector electrode and the ^{63}Ni foil through the reaction chamber. For an increased gas flow for faster response, or when using helium or hydrogen as carrier gas, nitrogen can be added as make-up gas before entering the ECD.

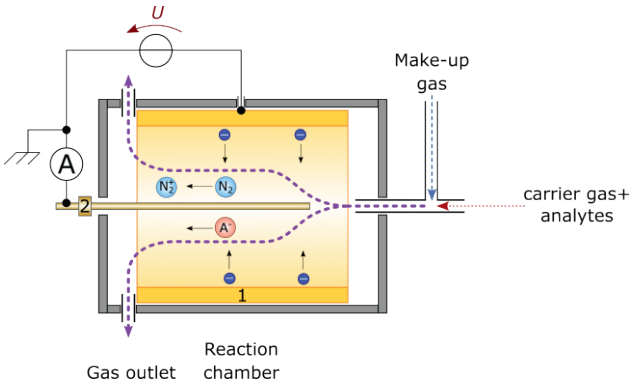


Fig. 1: Reaction chamber of an ECD based on a ^{63}Ni foil (1) with the detector electrode (2).

The radioactive β^- decay of ^{63}Ni generates high energetic electrons, which ionize the nitrogen molecules. This eventually leads to a high amount of thermalized electrons. By applying an electric field by a negative voltage *U* pointing from the detector electrode to the ^{63}Ni foil the thermalized electrons are accelerated towards the detector electrode, leading to a constant electron current on the detector. Now, electron affine analytes capture the electrons and are flushed out by the gas flow. Thus, the electron current decreases and the amplitude of the decrease is proportional to the analyte concentration. The voltage *U* can be pulsed to obtain a higher linearity of the ECD (pulsed operation). Therefore, the measured electron current is fed to a proportional-integral-derivative controller (PID controller). This PID controller fixes the electron current to a set point by applying the negative voltage *U* with a defined pulse length while changing the pulse frequency. The Frequency

change is then directly proportional to the analyte concentration [1,2,4].

Alternatively, an X-ray source can be used to ionize the carrier (or make-up) gas via photoionization [8,9] and thus generating free electrons leading to thermalized electrons. While the ^{63}Ni foil emits high energetic electrons from the entire inner surface, the X-ray source just radiates X-rays via a plane outlet window. Considering the radiation characteristic of the used X-ray source the reaction chamber of the ECD based on X-rays contains three ring electrodes while the X-ray source is attached at one side of the reaction chamber, see Fig. 2.

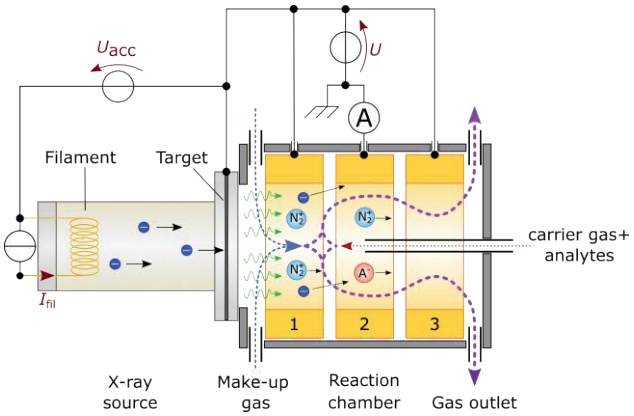


Fig. 2: Reaction chamber of an ECD based on X-rays with three ring electrodes: pusher electrode (ring 1), detector electrode (ring 2) and block electrode (ring 3).

Placed at the center axis, the X-ray source can radiate into the whole reaction chamber. Therefore, the inner diameter of the ring electrodes corresponds to the size of the X-ray outlet window of the source. The carrier gas, here nitrogen, containing the analytes is directed through a capillary reaching into the reaction chamber and enters the reaction chamber at the middle of ring 2. Due to the geometry of the chamber and the opposing make-up gas flow entering at the X-ray source, the analytes are flushed out through the gas outlet. The X-ray source ionizes the carrier gas or the make-up gas respectively and thus the required thermalized electrons are generated. By applying the negative voltage U at the outer rings an electric field pointing from the pusher electrode (ring 1) and the block electrode (ring 3) to the detector electrode (ring 2) is generated. Thus, the thermalized electrons drift against the analyte gas flow towards the middle of the chamber, as shown in Fig. 2. Here, the electrons can be captured by the analytes, resulting in a decreased electron current at the detector electrode. Since the voltage U is applied at the block electrode the electrons are prevented to be flushed out with the gas flow.

The ionization capability of the X-ray source depends on the energy density of the X-rays. Therefore, the accelerating voltage U_{acc} and the filament current I_{fil} can be adjusted to set the energy density. A detailed description of the dependency of the energy density on the acceleration voltage and the filament current can be found in [8,9].

To characterize the ECD using an X-ray source, 1,1,2-Trichloroethane (1,1,2-TCE) was chosen as a model analyte. 1,1,2-TCE was mixed with nitrogen and flushed through the reaction chamber with a flow rate of 5 ml$_s$/min[1]. In addition, nitrogen was used as the make-up gas with a flow of 10 ml$_s$/min, which results in a total flow of 15 ml$_s$/min through the reaction chamber. For the following experiments, the voltage U was typically set to an amplitude of −32 V. The electron current was amplified by a transimpedance amplifier [10], developed and adapted at our institute, and read out by a Keysight 34461A multimeter with an averaging time of 200 ms. The temperature of the reaction chamber was 80 °C. The acceleration voltage was set to a constant value of U_{acc} = 4.9 kV and the filament current to I_{fil} = 530 mA.

Results and Discussion

For a first benchmarking, the reached limit of detection and linearity of the ECD based on X-rays for 1,1,2-TCE were compared to classical ECDs. For pulsed operation, the optimum pulse width and amplitude U had to be determined at which most of the electrons reach the detector, but no negative ions. The maximum electron current difference was determined by varying U with and without an analyte in the ECD.

However, the first measurements showed a positive detector current, which cannot be caused by electrons or negative ions. To investigate this effect, the X-ray source was disabled and the pulse frequency was varied between 10 kHz and 200 kHz. With increased pulse frequency an increased detector current could be measured. This current is caused by a parasitic capacitive effect due to the design with parallel ring electrodes leading to a significant displacement current. This displacement current is directly opposite to the electron current, thus superimposing the measurement signal.

Therefore, in order to reduce this displacement current, the design was modified to resemble the classical radioactive ECD as shown in Fig. 3. Therefore, the

[1] ml$_s$/min (milliliter standard per minute): mass flow at reference conditions 20° C and 1013 mbar.

analyte inlet capillary is connected to the transimpedance amplifier and thus used as the detector electrode. The rings 1-3 are short-circuited and connected to the voltage *U* as the pusher electrode.

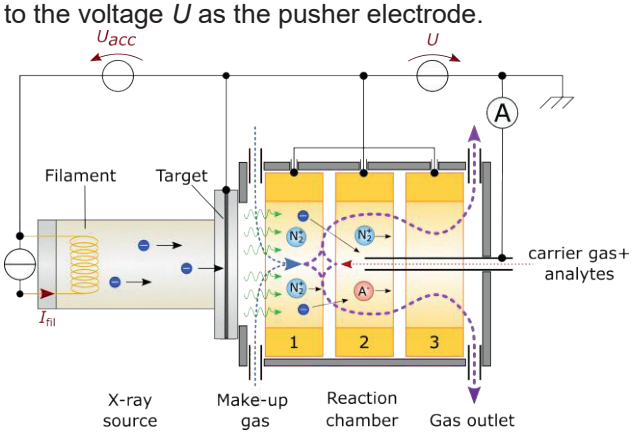


Fig. 3: Modified reaction chamber of the X-ray based ECD with the analyte inlet capillary as the detector electrode.

Using the shown structure, the displacement current is reduced to a negligible value and thus the electron current is measurable.

Now, the optimum pulse width and amplitude of *U* using this improved setup were determined as described above to $U = -15$ V with a pulse width of 0.5 µs. These values are used in the following. The resulting frequency change depending on the 1,1,2-TCE concentration is measured and shown in Fig. 4 (orange dots).

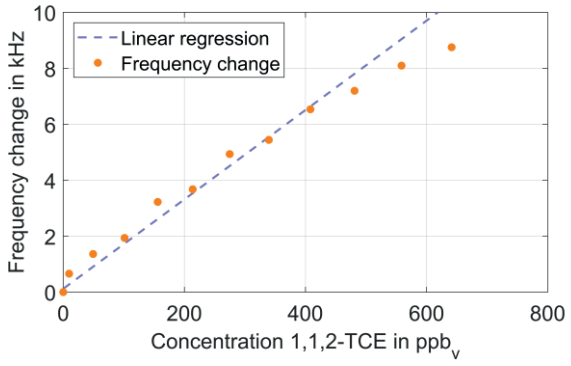


Fig. 4: Frequency change depending on the 1,1,2-trichloroethane concentration using the X-ray ECD setup from Fig. 3.

The linear regression for lower concentrations is shown as blue dashed line. Using this regression, a detection limit of about 4.5 ppb$_v$ at an averaging time of 200 ms is reached for 1,1,2-TCE, which is comparable to the detection limit of radioactive ECDs for 1,1,2-TCE [11]. Furthermore, an approximately linear behavior can be seen over a range from the detection limit of 4.5 ppb$_v$ to a concentration of about 480 ppb$_v$. This just results in a limited linear dynamic range of about 10^2.

Conclusions

In this work we present preliminary results of an ECD based on X-rays. A commercially available X-ray source was chosen and operated at low accelerating voltage of less than 5 kV avoiding costly regulatory requirements during operation. A detection limit of about 4.5 ppb$_v$ at an averaging time of 200 ms is reached for 1,1,2-trichloroethane, which is comparable to the detection limit of radioactive ECDs for 1,1,2-trichloroethane [11]. In terms of linearity, a linear dynamic range of 10^2 from 4.5 ppb$_v$ to 480 ppb$_v$ has been achieved which in comparison to radioactive ECDs is less by two orders of magnitude. Increasing the linear dynamic range is part of ongoing research.

References

[1] J.E. Lovelock, A sensitive detector for gas chromatography, J. Chrom. A 1 (1958) 35–46.

[2] J.E. Lovelock, S.R. Lipsky, Electron Affinity Spectroscopy—A New Method for the Identification of Functional Groups in Chemical Compounds Separated by Gas Chromatography 1, J. Am. Chem. Soc. 82 (1960) 431–433.

[3] E. Bunert, B. Bernhold, J.N. Woidtke, M. Sehlmeyer, S. Zimmermann, Non-radioactive electron capture detector for gas chromatography - A possible replacement for radioactive detectors, Journal of chromatography. A 1606 (2019) 460384.

[4] R.J. Maggs, P.L. Joynes, A.J. Davies, J.E. Lovelock, Electron capture detector. New mode of operation, Anal. Chem. 43 (1971) 1966–1971.

[5] W.E. Wentworth, E.D. D'Sa, H. Cai, S. Stearns, Environmental Applications of the Pulsed-Discharge Electron-Capture Detector, J. Chromatogr. Sci. 30 (1992) 478–485.

[6] A. Morozov, T. Heindl, C. Skrobol, J. Wieser, R. Krücken, A. Ulrich, Transmission of ~10 keV electron beams through thin ceramic foils: Measurements and Monte Carlo simulations of electron energy distribution functions, Eur. Phys. J. D 48 (2008) 383–388.

[7] M. Sámel, M. Stano, M. Zahoran, M. Ries, Š. Matejčík, Experimental characterisation of atmospheric pressure electron gun, Int. J. Mass Spectrom. 439 (2019) 34–41.

[8] W. Bothe, Röntgenstrahlung Ausschliesslich Röntgenoptik: Band XXIII · Zweiter Teil, Springer, Berlin, Heidelberg, 1933.

[9] I.V. Hertel, C.-P. Schulz, Atome und Grundlagen ihrer Spektroskopie, 2nd ed., Springer Spektrum, Berlin, 2017.

[10] P. Cochems, A.T. Kirk, S. Zimmermann, In-circuit-measurement of parasitic elements in high gain high bandwidth low noise transimpedance amplifiers, Rev. Sci. Instrum. 85 (2014) 124703.

[11] F. Barani, N. Dell'Amico, L. Griffone, M. Santoro, C. Tarabella, Determination of Volatile Organic Compounds by Headspace Trap, Journal of Chromatographic Science 44 (2006) 625–630.

DOI 10.5162/15dss2021/P8.9

Split-Ring Resonator as Detector for Liquid Chromatography

Kirsten J. Dehning, Moritz Hitzemann, Erk-Fietje Sterr and Stefan Zimmermann

Leibniz University Hannover, Institute of Electrical Engineering and Measurement Technology, Department of Sensors and Measurement Technology, Appelstr. 9A, 30167 Hannover, Germany

Contact: dehning@geml.uni-hannover.de

Introduction

Liquid Chromatography (LC) is an important method of physical separation of compounds in liquids. The fields of application are wide-ranging such as food, drug and environmental analysis, process monitoring in chemical industry and bioreactors [1-3]. Therefore, LC detectors require a broad range of compounds that can be detected when eluting from the LC column. Common universal detectors use different detection principles and therefore, different characteristics of the compounds, and can be categorized in light based detectors (fluorescence, absorption, refraction and scattering) and resistive detectors [4]. However, the sample preparation process for some of these detectors is time consuming and elaborate to make the compounds detectable, e.g. by optical detectors [5]. Other detectors such as mass spectrometers imply high instrumental effort with high purchasing and operating costs. Nevertheless, mass spectrometry adds a second dimension of separation for better compound identification [4]. These examples show that universal and inexpensive detectors without elaborate sample preparation would ease LC.

Following our last presentation at the Dresdner Sensor Symposium in 2019 "*Split-ring resonator: A new detector in liquid chromatography*" [6], we now present two new different split-ring resonator (SRR) topologies with different fluidic setups that are both compared to the SRR used in [6]. For calibrating the system, we use a vector network analyzer (VNA) and mixtures of isopropanol and deionized water.

A split-ring resonator (SRR) is a LCR resonant circuit that is built with a split microstrip line formed to a ring that is coupled to a microstrip transmission line. The split in the microstrip line acts as a capacitor and affects the resonance frequency. At resonance frequency, the wave couples into the ring and forms a standing wave with a wavelength depending on the circumference of the ring and the capacitance of the split. When the input signal frequency is matching the resonance frequency of the SRR, an intense electric field localized in the split is formed [7]. Thus, the amplitude of the transmitted signal through the microstrip line reaches a minimum in case of resonance. This means that the resonance frequency of the SRR can be used to measure the electromagnetic properties of liquids located at the split capacitor by changing R and C of the LCR resonant circuit. In particular, the liquid changes the capacitance of the split capacitor due to permittivity changes, especially changes in the real part of the permittivity. In recent works, SRRs are used for measuring liquids in different applications, especially with biological analytes [8-10]. This shows the general usability of split-ring resonators for liquid sensing. Here, this principle is transferred to develop a new universal detector for liquid chromatography.

The standard measuring principle for the determination of the resonance frequency of SRRs is a broadband frequency sweep using a vector network analyzer (VNA). The VNA has the advantage of analyzing the SRR by measuring the transmitted and the reflected signal at the inputs and outputs of the SRR. These measurements are performed at multiple discrete frequencies in the frequency range of the SRR. For illustration, such a broadband frequency sweep is simulated, see Fig. 1, using CST Microwave Studio for the SRR No. 3 described below. However, a broadband frequency sweep is time consuming, depending on the used VNA, and thus not suitable for LC applications with short peak width. Here, the resonance frequency needs to be recorded continuously. Therefore, another measuring principle is used in this work based on measuring the amplitude of the transmitted signal at a fixed frequency shown in Fig. 2. In this example, the permittivity of the sample liquid is changed from ε_r = 29.3 (pure deionized water) to ε_r = 29 at t = 50 s and back to ε_r = 29.3 at t = 100 s.

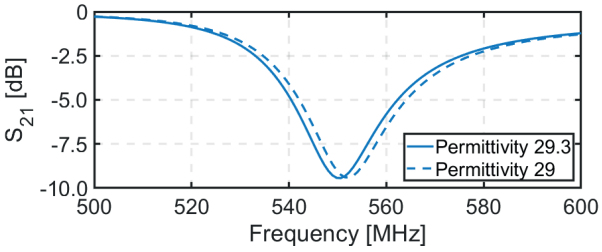


Fig. 1: Simulated frequency sweep between 500 and 600 MHz using CST Microwave Studio for permittivities ε_r = 29 and ε_r = 29.3 inside the split of the SRR No. 3 described below.

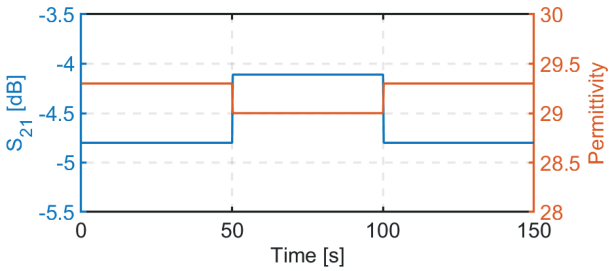


Fig. 2: Simulated transmission (CST Microwave Studio) of the SRR No. 3 at 540 MHz when changing the permittivity from $\varepsilon_r = 29.3$ to $\varepsilon_r = 29$ at t = 50 s and back to $\varepsilon_r = 29.3$ at t = 100 s.

Electronics

To enable continuous recording of the resonance frequency as required in LC applications we use an envelope detector giving a continuous output voltage at a fixed frequency that corresponds to the resonance frequency. If the permittivity of a sample placed in the split changes the resonance frequency, the amplitude of the transmitted signal at a fixed frequency also changes.

To measure the change of the amplitude of the transmitted signal, we use our self-developed electronics shown in Fig. 3 that is equipped with a controllable excitation source and two envelope detectors, one for the excitation source and one for the transmitted output signal. A temperature controlled crystal oscillator, a phase locked loop with voltage-controlled oscillator, a divider and a phase frequency detector are used to generate the output frequency. Additionally, a low pass filter for filtering the harmonics and an adjustable output amplifier are integrated. The output frequency can be set between 23.5 MHz and 6 GHz with a minimum measurable frequency change of 826.4 Hz. The frequency stability is high. In 20 s of measurement time, a maximum delta of just 840 mHz could be measured with a N9030A PXA Signal Analyzer from Keysight Technologies. The excitation source stability is also high. The measured source frequency differs by a maximum of 0.002 dBm.

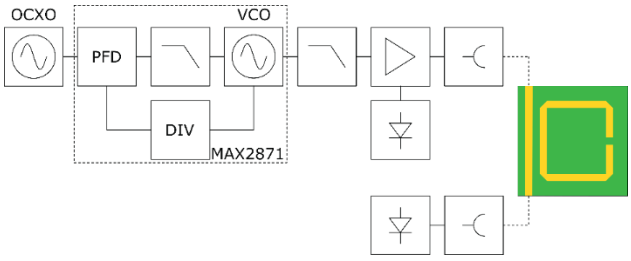


Fig. 3: Basic block diagram of the developed measuring electronics.

Experimental

Here, we present three different split-ring resonator topologies with different fluidic setups. The challenge is to increase the sensitivity while realizing a simple fluidic concept that does not imply any memory effects. The first SRR shown in Fig. 4 consists of a simple printed circuit board (PCB) with two microstrip lines. The PCB material used is Rogers RO4350B, which is suitable for high frequency applications. The split-ring itself is a quadratic microstrip line with a capacitor enlarged towards the center. Here, the board is slit and edge metalized to form a large capacitor. A glass capillary with a square cross-section, used as a fluid channel, is placed inside the split.

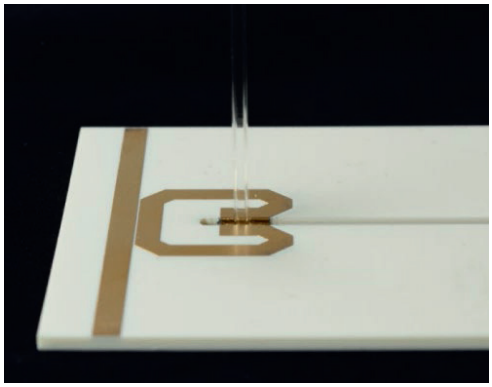


Fig. 4: Split-ring resonator No. 1 with glass capillary inside the split.

The second SRR setup shown in Fig. 5 (a) also consists of a PCB, slit and edge metallized in the split similar to the PCB shown in Fig. 4. The fluid channel shown in Fig. 5 (b) is realized by two PEEK-blocks with holes and internal channels. Thus, the fluid is guided as shown in blue in Fig. 5 (b). One major advantage of this SRR compared to the first SRR setup is the direct contact between the fluid and the edge metallized capacitor over a large electrode area giving higher sensitivity. Furthermore, the setup is more robust and easier to use.

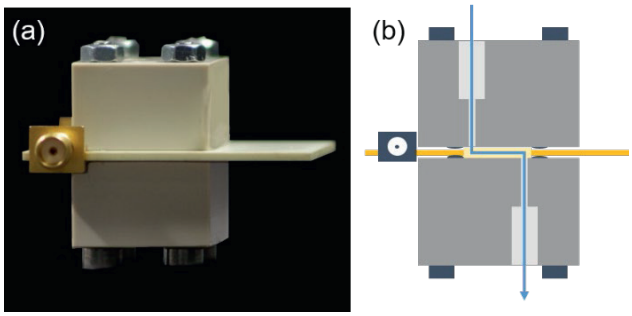


Fig. 5: (a) Split-ring resonator No. 2 with integrated flow channel in two PEEK blocks, (b) cross sectional view showing the flow channel.

The third SRR model named capillary split-ring resonator (CaSRR) is shown in Fig. 6 and consists of a microstrip line on a PCB, while the split-ring itself is made of a stainless steel capillary and a PEEK-union. The split capacity is formed inside the PEEK-union between the two opposing capillaries.

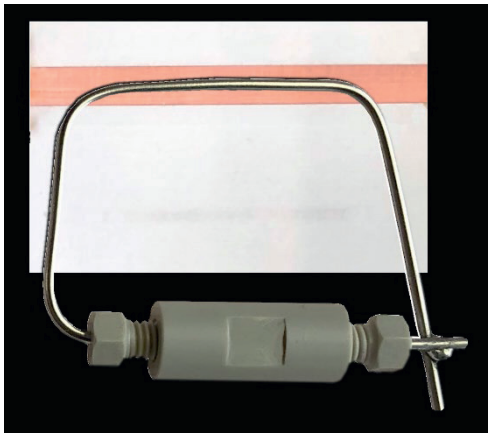


Fig. 6: Split-ring resonator No. 3: Capillary split-ring resonator.

Results

To compare the three different split-ring resonators, we use mixtures of deionized water and isopropanol to determine the sensitivities of each SRR. First measurements were performed with a vector network analyzer. To demonstrate the reversibility of the measurements shown in Fig. 7, the concentration of isopropanol in deionized water was increased in 20% steps from 0% up to 100% and afterwards decreased in 20% steps from 90% to 10%. The concentration is converted to the permittivity. The permittivity of deionized water is $\varepsilon_r = 29.3$ and the permittivity of isopropanol is $\varepsilon_r = 18.6$ at T = 20 °C [11]. The split-ring resonator with glass capillary shows an operating point dependent sensitivity between 0.31 MHz/$\Delta\varepsilon_r$ for pure deionized water and 22.61 MHz/$\Delta\varepsilon_r$ for pure isopropanol. For measurements in aqueous solutions, the SRR has a low limit of detection of $\Delta\varepsilon_{r,min} = 1.75$. To enhance the sensitivity the second SRR has nearly the same topology but direct contact between the fluid and the edge metallized capacitor over a large electrode area. This model shows higher sensitivity between 10.07 MHz/$\Delta\varepsilon_r$ for pure deionized water and 217.81 MHz/$\Delta\varepsilon_r$ for pure isopropanol giving improved limit of detection of $\Delta\varepsilon_{r,min} = 0.07$ in aqueous solutions. Unfortunately, this second SRR shows memory effects, especially if acetonitrile is used as a solvent as needed for many LC applications. The memory effect might be caused by the porous surface of the PCBs, which is not fully protected by the edge metallization. In addition, the PCB material used has a layered structure that could further enhance the observed memory effect. Therefore, a new type of split-ring resonators was developed. This SRR consists of standard stainless steel capillaries. The split is located inside a PEEK-union between the two opposing capillaries. This SRR shows a sensitivity between 7.89 MHz/$\Delta\varepsilon_r$ for pure deionized water and 15.44 MHz/$\Delta\varepsilon_r$ for pure isopropanol and a limit of detection of $\Delta\varepsilon_{r,min} = 0.09$ in aqueous solutions. So far, a vector network analyzer was used for all measurements.

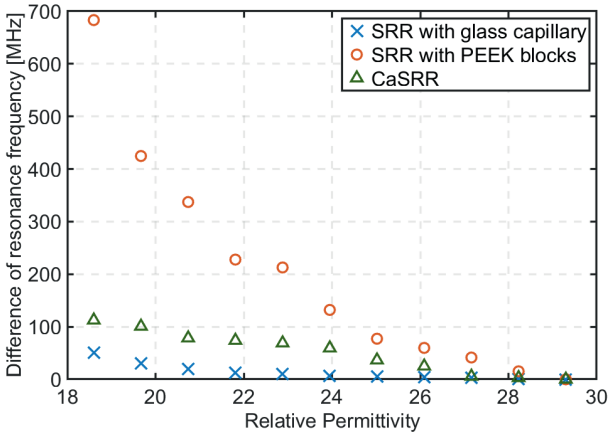


Fig. 7: Comparison of the three different SRR topologies. The resonance frequency for pure deionized water ($\varepsilon_r = 29.3$) is used as reference and subtracted from the resonance frequency measured for the isopropanol-deionized water mixtures.

From the three different SRRs, the capillary split-ring resonator has the highest sensitivity without any memory effects. Thus, this SRR topology is used in the following together with the developed electronics for continuous measurements at a fixed frequency of 650 MHz. Due to the increased sensitivity, the isopropanol-deionized sample mixtures just contain small fractions of isopropanol. The isopropanol concentration now increases in steps of 1% up to a maximum of 5%. Afterwards, the isopropanol concentration decreases from 4.5% in steps of 1% down to 0.5% and finally pure deionized water. The output voltage and the corresponding permittivity are plotted over time in Fig. 8. The mean value of every output voltage per permittivity is then plotted over permittivity in Fig. 9. From the linear regression $f(x) = -9.50\,\mathrm{mV} \cdot x + 371.69\,\mathrm{mV}$, the sensitivity is determined to 9.50 mV/$\Delta\varepsilon_r$. Considering the noise of 0.074 mV, the limit of detection is further improved to $\Delta\varepsilon_{r,min} = 0.03$ within an averaging time of just 24 ms.

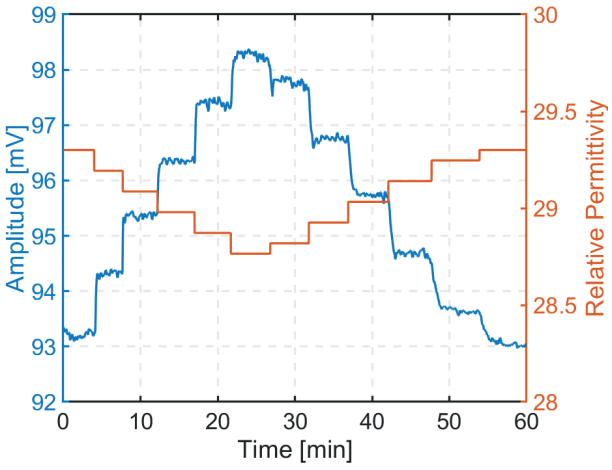


Fig. 8: Continuous measurement of small isopropanol concentrations in deionized water with the capillary split-ring resonator and the electronics developed for continuously recording of liquids.

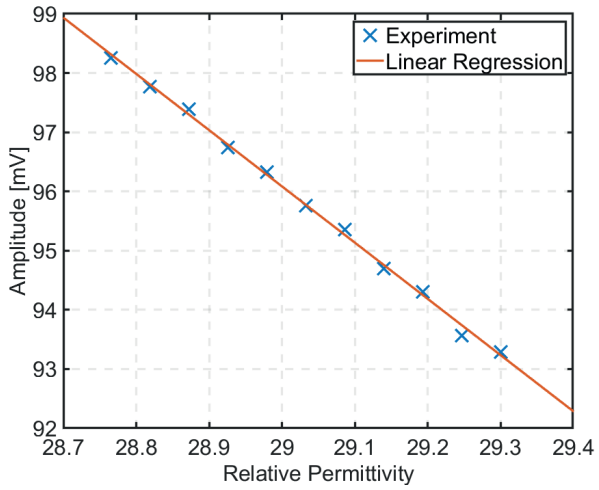


Fig. 9: Mean value of output voltage per permittivity from Fig. 8 and linear regression with $f(x) = -9.50\ \text{mV} \cdot x + 371.69\ \text{mV}$.

Conclusion

In this work, we present three different split-ring resonators with different fluidic concepts. The split-ring resonator with glass capillary shows high reproducibility and reversibility but low sensitivity. Direct contact between the sample and the electrodes of the split capacity as for the second split-ring resonator with flow channel integrated in PEEK-blocks the sensitivity increases but memory effects are observed. The new capillary split-ring resonator shows good limits of detection of $\Delta\varepsilon_{r,min} = 0.03$ for isopropanol in deionized water and also high reversibility and reproducibility. Nevertheless, the sensitivity has to be further enhanced to achieve sufficient sensitivity for liquid chromatography, e.g. by enlarging the surface of the electrodes of the split capacity and therefore enlarging the capacitance of the LCR resonant circuit. Furthermore, better limits of detection can be achieved by using a higher averaging time, which is limited by the temporal width of the LC peaks.

References

[1] Shakoor, O., Taylor, R. B., Behrens, R. H.: Assessment of the incidence of substandard drugs in developing countries. In: *Tropical Medicine and International Health* 2, 839–845 (1997); doi: 10.1046/j.1365-3156.1997.d01-403.x.

[2] Di Stefano, V., Avellone, G., Bongiorno, D., Cunsolo, V., Muccilli, V., Sforza, S., Dossena, A., Drahos, L., Vékey, K.: Applications of liquid chromatography-mass spectrometry for food analysis. In: *Journal of chromatography A* 1259, 74–85 (2012); doi: 10.1016/j.chroma.2012.04.023.

[3] Buttler, T. A., Johansson, K. A. J., Gorton, L. G. O., Marko-Varga, G. A.: On-Line Fermentation Process Monitoring of Carbohydrates and Ethanol Using Tangential Flow Filtration and Column Liquid Chromatography. In: *Analytical Chemistry* 65, 2628-2636 (1993).

[3] Swartz, M.: HPLC Detectors: A Brief Review. In: *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 33, 1130–1150 (2010); doi: 10.1080/10826076.2010.484356.

[4] Lakowicz, J. R.: *Principles of fluorescence spectroscopy*. Springer, New York (2006); doi: 10.1007/978-0-387-46312-4.

[5] Dehning, K. J., Hitzemann, M., Fisahn, S., Zimmermann, S.: Split-ring resonator: A new detector in liquid chromatography. In: *14. Dresdner Sensor-Symposium*, 167-171, Dresden (2019); doi: 10.5162/14dss2019/P2.02.

[6] Reinecke, T., Walter, J.-G., Kobelt, T., Ahrens, A., Scheper, T., Zimmermann, S.: Design and evaluation of split-ring resonators for aptamer-based biosensors. In: *Journal of Sensors and Sensor Systems* 7, 101–111 (2018); doi: 10.5194/jsss-7-101-2018.

[7] Baghelani, M., Abbasi, Z., Daneshmand, M., Light, P. E.: Non-invasive continuous-time glucose monitoring system using a chipless printable sensor based on split ring microwave resonators. In: *Scientific Report* 10 (2020), doi: 10.1038/s41598-020-69547-1.

[8] Jarowongrungsee, K., Waiwijit, U., Withayachumnankul, W., Maturos, T. Phokaratkul, D., Tuantranont, A., Wlodarski, W., Martucci, A., Wisitsoraat, A.: Microfluidic-based Split-Ring-Resonator Sensor for Real-time and Label-free Biosensing. In: *Procedia Engineering* 120, *Eurosensors 2015*, 163-166 (2015), doi: 10.1016/j.proeng.2015.08.595.

[9] Meyne, N., Cammin, C., Jacob, A. F.: Accuracy Enhancement of a Split-Ring Resonator Liquid Sensor Using Dielectric Resonator Coupling. In: *2014 20th International Conference on Microwaves, Radar and Wireless Communications (MIKON)*, Gdansk (2014), doi: 10.1109/MIKON.2014.6899869.

[10] Endress+Hauser GmbH+Co. KG: Dielectric constant (DC value) - Compendium. Maulburg (2014).

DOI 10.5162/15dss2021/P8.10

Chemische Hydrogelsensoren auf Basis des Bimorpheffekts mit kurzer Ansprechzeit

Stefan Schreiber[1], Nadja Steinke[2] und Gerald Gerlach[1]

[1]Institut für Festkörperelektronik, Technische Universität Dresden, Dresden, Deutschland
[2]Fraunhofer Institut für Keramische Technologien und Systeme (IKTS), Dresden, Deutschland
Kontakt: stefan.schreiber@tu-dresden.de

Einleitung

Elastische Polymernetzwerke (Hydrogele) weckten erstmals 1949 das Interesse zur Anwendung als Aktor [1]. Wegen ihres hydrophilen Charakters quellen Hydrogele aus dem Trockenem, wenn sie mit Wasser in Kontakt kommen. Responsive Hydrogele reagieren aufgrund funktioneller Gruppen zusätzlich auf externe Stimuli, wie u. a. Ionenkonzentration oder Temperatur.

Detektiert man die von der Quellung hervorgerufene Volumenänderung mit einem geeignetem Sensor, z. B. einem piezoresistiven Drucksensor, wird der entsprechende Stimulus messbar [2]. Durch Variation der Polymerzusammensetzung lassen sich anstatt der Ionenkonzentration auch Konzentrationen anderer gelöster Stoffe, wie zum Beispiel Urea, Ethanol oder Ammoniak [3]–[5], messen.

Für eine funktionelle Anwendung sind gegenwärtig die Quell- und Entquellzeiten der Hydrogele und somit die Messzeiten der Sensoren meist noch zu langsam. Eine Verkürzung der Antwortzeiten lässt sich durch verschiedene Maßnahmen erreichen. Zum Beispiel erhöht eine poröse Hydrogelstruktur die Quellgeschwindigkeit [6] und durch Anwendung der Kraftkompensationsmethode kann das Eindringen der Messlösung weitestgehend verhindert und so die Kinetik erheblich beschleunigt werden. Damit erreicht man eine Ansprechzeit im Bereich weniger Minuten [7].

In dieser Veröffentlichung soll vorgestellt werden, wie die Ansprechzeit des Hydrogels noch weiter bis auf wenige Sekunden reduziert werden kann. Besonders starken Einfluss auf die Quellkinetik haben die Diffusionskonstante und das Volumen des Hydrogels. Ein reduziertes Hydrogelvolumen, insbesonders eine deutlich verringerte Dicke, verkürzt die Diffusionsstrecke des Analyts und somit die Zeit, bis das Hydrogel vollständig gequollen ist.

Die Volumenänderung dünner Hydrogele, bzw. der entsprechende Quelldruck, lässt sich mittels piezoresistiver Sensoren und des Bimorph-Effekts messen [8]. Hierbei wird das Hydrogel sehr dünn auf die Biegeplatte eines piezoresistiven Drucksensor aufgebracht und lokal strukturiert. Der Bimorph-Effekt bewirkt eine Auslenkung der Biegeplatte und damit ein elektrisches Messsignal. Erste Ergebnisse zeigen, dass sich auf diese Weise die Einschwingzeiten auf wenige Sekunden verkürzen lassen. Durch die Kombination mit der Kompensationsmethode lassen sich die Messzeiten noch weiter verkürzen.

Aufbau und Methoden

Abbildung 1 zeigt schematisch den Aufbau des verwendeten Sensors. Kernelement ist ein piezoresistiver Drucksensor (C41, Firma TDK) mit einem Messbereich von 0-25 mbar. Außerdem befindet sich direkt auf dem Chip eine Diode zur Messung der Temperatur. Auf der Innenseite der Membran, in der Kavität, ist das Hydrogel strukturiert. Der Sensorchip selbst wird auf einem TO-8 Sockel aufgeklebt, sodass sich zwischen Drucksensor und Sockel eine fluidische Kammer bildet. Diese lässt sich über die Fluidkanäle mit dem Analyt befüllen.

Das Hydrogel ist bisensitiv, sodass es sowohl infolge einer sich hier beispielhaft änderenden Salzkonzentration, als auch durch eine Temperaturänderung quellen bzw. entquellen kann. Ziel ist nun, durch eine angepasste Temperaturregelung die durch Salzkonzentration verursachten Quellung so zu kompensieren, dass das Volumen

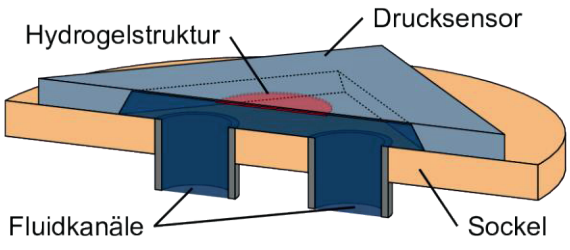


Abb. 1: Schematischer Aufbau des Hydrogelsensors

konstant bleibt, um möglichst alle Driftprozesse zu vermeiden.

Hydrogelzusammensetzung

Das bisensitive Hydrogel besteht aus den Monomeren *N*-Isopropylacrylamid (NIPAAm) und 2-Acrylamido-2-methylpropansulfonsäure (AMPS). Polymerisiertes und vernetztes PNIPAAm reagiert auf Temperaturänderungen. Steigt die Temperatur des Hydrogels, so entquillt PNIPAAm und *vice versa.* PAMPS reagiert auf den Anstieg der Salzkonzentration mit Quellen. Für die Vernetzung der Polymerstränge wird *N,N'*-Methylen-bisacrylamide (BIS) verwendet. Die Polymerisation wird mit dem photosensitiven Initiator Lithium-Phenyl-2,4,6-trimethylbenzoylphosphinat (LAP) und einer Bestrahlung mit UV-Licht gestartet. Um dem hohen Säuregehalt der Pregel-Lösung auszugleichen, wird gelöstes Natriumhydroxid (NaOH) hinzugegeben. Die prozentuale Zusammensetzung der Stoffe sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tab. 1: Hydrogelzusammensetzung

Stoff	Stoffmengenverhältnis n%
NIPAAm	97,00
AMPS	5,73
BIS	4,00
NaOH-Lsg.	6,24
LAP	0,50

Sensorvorbereitung

Damit die Hydrogelstruktur mit der Membran eine Verbindung eingeht, bedarf es eines Haftvermittlers in Form einer selbstorganisierenden Monomerschicht. Verwendet wird in Isopropanol gelöstes 3-Aminopropyltriethoxysilane (APTES). Die Silangruppe bindet sich an die Sauerstoffatome des Siliziumdioxids und bildet somit eine Lage abstehender Monomerketten, an welche sich das Hydrogel bei der Polymerisierung anbindet.

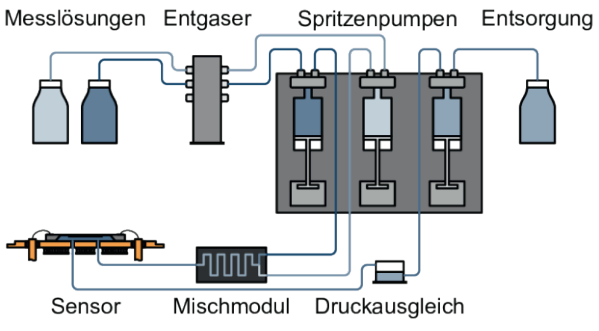


Abb. 2: Fluidischer Aufbau des Messplatzes

Strukturierung

Die Struktur des Hydrogels beeinflusst sowohl die Richtung als auch Stärke der Auslenkung infolge des Bimorpheffekts. Werden zwei Platten mit unterschiedlichen Längenausdehnungskoeffizienten verbunden, so bewirkt die Längenänderung einen Ausschlag des Verbunds in lateraler Richtung. Im Fall des Hydrogelsensors bilden Hydrogelstruktur und Siliziumplatte den Verbund. Die angestrebte Hydrogelstruktur ist eine Zylinderscheibe mit einer Höhe von 20 µm und einem Durchmesser von 1,65 mm. Es hat sich gezeigt, dass ein Verhältnis der Durchmesser von Hydrogel zur Biegeplatte von etwa 1:2 optimal für eine möglichst große Auslenkung ist [9].

Für die Strukturierung des Hydrogels wird ein Mikrokontaktprinter µCP 4.1 (GeSiM mbH, Großerkmannsdorf) verwendet.

Im ersten Schritt wird ein Poly(dimethysiloxan) (PDMS)-Stempel aus einem Master, der die Form der Hydrogelstruktur trägt, abgeformt. Die Kavität des Stempels wird mit der Hydrogel-Lösung befüllt und anschließend mithilfe des µCPs mit einem Druck von 20 kPa für 1 min auf die Sensormembran gedrückt. Unter UV-Licht (Wellenlängenbereich 320 nm bis 500 nm, OmniCure S1500, Excelitas Technologies GmbH, Wiesbaden) wird die Struktur für 1 min polymerisiert.

Messplatz (fluidisch)

Zur Charakterisierung des Sensors wird der in Abbildung 2 dargestellte Messplatz verwendet. Betrieben wird dieser mit computergesteuerten automatischen Spritzenpumpen der Firma CETONI GmbH. Als Messlösung werden eine Salzlösung (1 mol/l NaCl in H_2O) und destilliertes deionisiertes Wasser verwendet. Beide werden beim Aufziehen der Spritzen durch einen Entgaser DEGASi® Classic (dichrom GmbH) geführt, um Gaseinschlüsse aus der Lösung zu entfernen. Die Spritzenpumpen dispensen anschließend die Messlösung durch ein Mikromischmodul in den Sensor. Da der Sensor auf kleinste Druckschwankungen reagiert, wird der Rücklauf vom Sensor in einen offenen Druckausgleichsbehälter geführt, von dem die Messlösung anschließend abgesaugt und in einen Entsorgungsbehälter gefördert wird.

Messplatz (elektrisch)

Der Sensor wird, wie in Abbildung 3 gezeigt, auf zwei Peltierelemente montiert. Diese werden über einen Peltier-Controller der Firma BelektroniG geregelt. Außerdem werden mit dem Controller

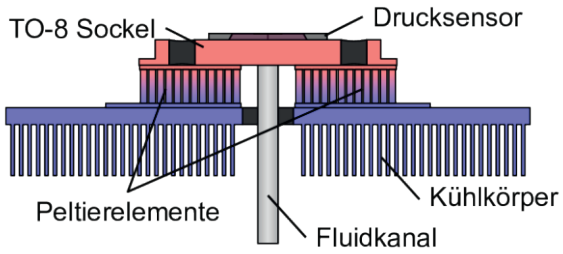


Abb. 3: Thermischer Aufbau des Messplatzes

Daten wie Sensorauslenkung und Temperatur von Sensorchip, Platine und Umgebung gemessen und aufgezeichnet.

Messdatenaufzeichnung

Spritzenpumpen und Peltierelemente werden mit der Software der jeweiligen Hersteller von einem Rechner aus gesteuert und überwacht. Beide Programme bieten eine Möglichkeit die Prozessdaten wie Pumpengeschwindigkeit, Ventilstellung und Sensordaten (Temperatur, Druck, …) aufzuzeichnen und in Form einer CSV-Datei zu speichern.

Messdatenauswertung

Zur Messdatenauswertung wird R [10], eine Software für statistische Berechnungen und Auswertungen, verwendet. Nach Einlesen der CSV-Dateien von Spritzenpumpe und Peltierregler werden die Datensätze anhand des Zeitstempels synchronisiert.

Zur Auswertung der Temperatursensitivität findet zunächst eine Unterteilung zwischen den unterschiedlichen Temperatursollwerten und der Sprungrichtung (30°C → 25°C bzw. 20°C → 25°C) statt. Anschließend werden von jedem Sprung die Startzeiten subtrahiert, sodass die Sprungantworten bei t = 0 beginnen und somit vergleichbar gemacht werden.

Für die NaCl-Sensititvität werden die Pumpendaten benötigt. Die Unterteilung erfolgt hierbei entsprechend der von den Spritzen generierten Konzentration, also des Volumenstromverhältnisses der Pumpen. Über den Zeitstempel werden die Pumpendaten mit den Daten des Peltier-Controllers synchronisiert.

Versuchsdurchführung

Wie oben beschrieben, wird im Sensor ein bisensitives Hydrogel verwendet, welches auf Änderungen von Salzkonzentration und Temperatur mit einer Volumenänderung reagiert. Um gegenseitige Einflüsse zu minimieren, wird die jeweils andere Sensitivität gezielt konstant gehalten. Im Falle der Salzsensitivität wird vom Peltierregler die Temperatur im Sensorchip konstant gehalten, während beim Messen der Temperatursensitivität ein Analyt mit konstanter Konzentration durch den Sensor geführt wird.

Temperatursensitivität

Zur Charakterisierung der Temperatursensitivität wird der Sensor während der Messung mit H_2O und einem konstanten Volumenstrom von $\dot{V}$ = 0,1 ml/min gespült. Dies ist wichtig, da durch den Volumenstrom ein konstanter Wärmeabtransport entsteht, der in der Charakterisierung zu berücksichten ist. Anschließend wird durch die Software die Solltemperatur in dem Sensor eingestellt und die Antwort des Quellverhaltens aufgezeichnet.

NaCl-Sensitivität

Für die Salzsensitivität wird der Sensor vom Regler der Peltierelemente auf einer konstanten Temperatur von 23°C gehalten, um den störenden Temperatureinfluss des Fluids, welches bei Raumtemperatur gelagert wird, zu minimieren. Der Messprozess beginnt mit dem Spülen des Sensors für 10 min mit H_2O. Dadurch sollen eventuelle Rückstände der letzten Messung und mögliche Lufteinschlüsse vom Sensorwechseln entfernet werden. Anschließend wird die NaCl-Konzentration zwischen 0 mol/l und 1 mol/l gewechselt. Nach der Messung wird erneut mit H_2O gespült, damit sich die Salzkristalle nicht ablagern.

Ergebnisse

Temperatursensitivität

Für die Aufnahme der Temperatursensitivität wurde die Sensortemperatur minütlich zwischen 20°C und 30°C gewechselt. Abbildung 4 zeigt die ersten 20 min des Versuchs, welcher insgesamt 100 min lief und jeden Temperatursprung 50 mal wiederholte. Der dunkelblaue Graph zeigt die Temperaturantwort direkt vom Sensorchip und die rote Linie die vom Quellen des Hydrogels

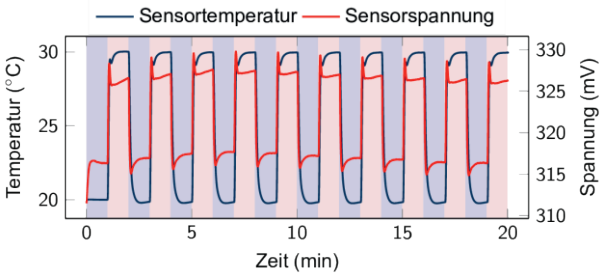


Abb. 4: Sensorsignal der ersten 20 min des Messdurchgangs. Die Solltemperatur wurde jede Minute zwischen 20°C und 30°C gewechselt

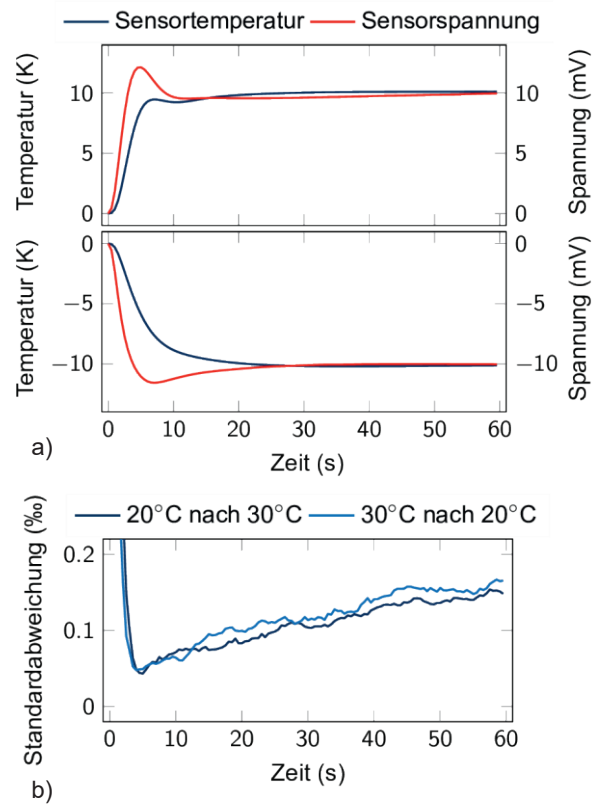


Abb. 5: a) Mittelwerte der Sprungantworten bei Erhöhung und Verringerung der Temperatur gemäß Abbildung 4 und b) zugerhörige Standardabweichungen

verursachte Änderung der Sensorspannung. Es lässt sich ein leichtes Driftverhalten der Grundlinie erkennen.

Fasst man die Temperatursprünge in einer Kurve zusammen und subtrahiert die Startwerte vom Sprung, kann man erkennen, dass das Sprungverhalten sehr reproduzierbar ist (Abbildung 5).

Betrachtet man die Standardabweichung der Sprünge in Abbildung 5b, lässt sich erkennen, dass mit zunehmender Dauer die Sprungantworten stärker streuen. Diese Streuung ist eine Erklärung für die bereits erwähnte Drift der Grundlinie. Die Ursachen dafür sind noch nicht gänzlich geklärt, es wird aber vermutet, dass die Umgebungs-

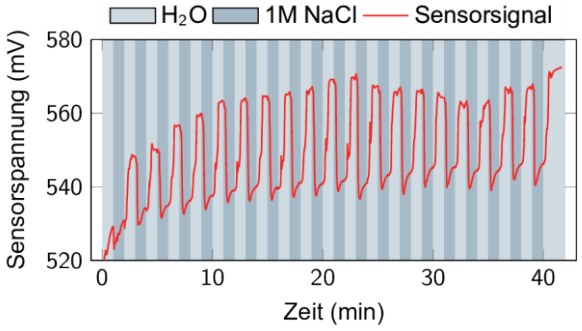


Abb. 6: Quellverhalten des Hydrogels beim zyklischen Wechsel der Konzentration zwichen 0M und 1M NaCl

temperatur und der Temperatur des Fluids trotz Regelung noch einen Einfluss auf das Messsignal haben.

Trotz der steigenden Streuung sind die Beträge der Standardabweichungen im Allgemeinen sehr gering. Dies deutet auf eine sehr hohe Reproduzierbarkeit der Sprungantworten des Hydrogels hin, deren Antwortzeiten mit weniger als 5 s erwartungsgemäß sehr gering ausfallen.

Salzsensitivität

Zur Messung der Salzsensitivität wird der Sensorchip konstant auf 23°C gehalten. Das Wechseln der Konzentration wird mit einem Programm für die Spritzenpumpen realisiert. Abbildung 6 zeigt das Quellverhalten des Hydrogels in Abhängigkeit von der Konzentrationsänderung, welche jeweils nach einer 1 min geändert wird. Es ist zu erkennen, dass das Hydrogel auf die Konzentrationsänderungen schnell reagiert, die Sprungantworten jedoch einer zeitlichen Drift unterliegen (Abbildung 6).

Zur Auswertung wurden die Sprungantworten nach Konzentrationswechsel zusammengefasst und deren Mittelwerte und Standardabweichung ermittelt (Abbildung 7).

Diskussion

Die Messergebnisse zeigen deutlich ein reproduzierbares Quellverhalten. Dies lässt darauf schließen, dass die störenden Einflüsse systematischer Natur sind und eliminiert werden können.

Relevante Einflüsse sind die Umgebungstemperatur des Sensors und die Temperatur des

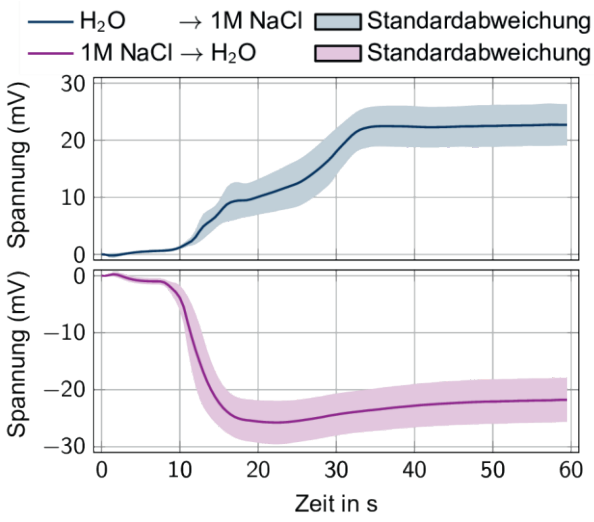


Abb. 7: Mittelwerte und Standardabweichungen der Sprungantworten bei Konzentrationsänderung gemäß Abbildung 6

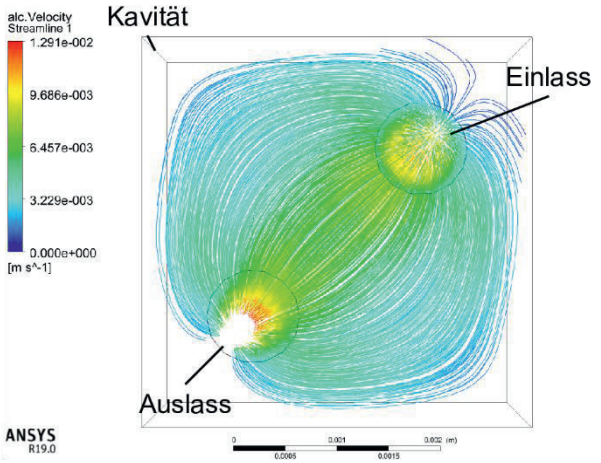


Abb. 8: Simulation des Strömungsverhaltens des Fluids in der Kavität des Sensors (Draufsicht)

Analyts. Zudem ist der Sensoraufbau, wie in Abbildung 3 gezeigt, so gestaltet, dass das Analyt die Kaltseite der Peltierelemente passiert, bevor das Hydrogel erreicht wird, sodass die Temperatur des einströmenden Analyts von der aktuellen Peltierheizleistung abhängig ist.

Außerdem ist noch die Position der Fluidkanäle zu verbessern, um zu verhindern, dass sich hinter den Einlässen in der Kavität Bereiche bilden, welche verhindern, dass das Analyt vollends ausgespült wird und somit nach dem Konzentrationswechsel noch Reste des vorangegangenen Analyts vorhanden sind (Abbildung 8).

Zusammenfassung und Ausblick

Zielstellung dieses Beitrags war es, einen Hydrogelsensor herzustellen, welcher mit einem sehr schnellen Antwortverhalten die sonst übliche lange Messdauer wesentlich verkürzt.

Dazu wurde der Bimorpheffekt genutzt, wobei das Hydrogel in einem Drucksensor auf einer Siliziumplatte strukturiert ist. Hierfür war es nötig, die Hydrogelzusammensetzung anzupassen, eine Haftung zwischen Hydrogel und Silizium herzustellen und ein geeignetes Verfahren zur Strukturierung des Hydrogels zu finden.

Die Ergebnisse zeigen, dass mit dem neuen Aufbau Sensorreaktionszeiten im Bereich von wenigen Sekunden möglich sind. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse soll in kommenden Arbeiten durch Verbesserung des Strömungsprofils, Identifikation und Eliminierung der Störeinflüsse sowie Optimierung der Hydrogelzusammensetzung, weiter verbessert werden.

Literatur

[1] A. KATCHALSKY, *Rapid Swelling and Deswelling of Reversible Gels of Polymeric Acids by Ionization*, *Experientia*, 1949, S. 319–320

[2] G. GERLACH und K.-F. ARNDT; Hrsg, *Hydrogel Sensors and Actuators*. Heidelberg ; New York: Springer, 2009.

[3] J. ERFKAMP, M. GUENTHER, und G. GERLACH, *Enzyme-Functionalized Piezoresistive Hydrogel Biosensors for the Detection of Urea*, *Sensors*, 2019, S. 2858

[4] J. ERFKAMP, M. GUENTHER, und G. GERLACH, *Hydrogel-Based Sensors for Ethanol Detection in Alcoholic Beverages*, *Sensors*, 2019, S. 1199

[5] J. ERFKAMP, M. GUENTHER, und G. GERLACH, *Piezoresistive Hydrogel-Based Sensors for the Detection of Ammonia*, *Sensors*, 2019, S. 971

[6] D. FRANKE und G. GERLACH, *Swelling Studies of Porous and Nonporous Semi-IPN Hydrogels for Sensor and Actuator Applications*, *Micromachines*, 2020, S. 425

[7] S. BINDER und G. GERLACH, *Intramolecular Force-compensated Hydrogel-based Sensors with Reduced Response Times*, *Technisches Messen*, 2019, S. 227–236

[8] N. GULNIZKIJ und G. GERLACH, *Modelling and model verification of an autonomous threshold sensor for humidity measurements*, *J. Sens. Sens. Syst.*, 2020, S. 1–6

[9] N. GULNIZKIJ und G. GERLACH, *Bistable Threshold Humidity Sensor Switch with Rectangular Bimorph Bending Plate*, *Micromachines*, 2020, S. 569

[10] *R: The R Project for Statistical Computing*. [Online]. Verfügbar unter: https://www.r-project.org/

Danksagung

Die Autoren danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) für die finanzielle Unterstützung im Rahmen des Graduiertenkollegs „Hydrogel-basierte Mikrosysteme“ (GRK 1865).

DOI 10.5162/15dss2021/P8.11

Chemiresistiver Toluolsensor auf Basis von Polymerkompositen

Maryam Ehsani, Frederic Güth und Yvonne Joseph

Institut für Elektronik- und Sensormaterialien, TU Bergakademie Freiberg, Freiberg, Deutschland
kontakt: maryam.ehsani@doktorand.tu-freiberg.de

Einleitung

Die Überwachung von flüchtigen organischen Verbindungen (VOC) in der Luft ist heute in vielen Ländern aufgrund ihrer gesundheitlichen Auswirkungen und der geltenden Vorschriften ein wichtiges Forschungsthema. Toluol ist eine der wichtigsten flüchtigen organischen Verbindungen, die zu den Schadstoffemissionen bei der Herstellung von Benzin und anderen Kraftstoffen beitragen. Für die Erkennung von toxischen Gasen wurden viele Arten von Sensoren entwickelt, die verschiedene Sensormaterialien wie z.B. Metalloxide verwenden. Der größte Nachteil dieser Materialien ist, dass sie meist hohe Arbeitstemperaturen erfordern [1,2]. Daher ist die Entwicklung von Sensormaterialien, die bei Raumtemperatur arbeiten können, wichtig für die Entwicklung von Sensoren, die ein einfaches Design, geringere Kosten sowie eine höhere Empfindlichkeit und Effizienz aufweisen [2]. Nanokomposit-Materialien auf Polymerbasis sind in letzter Zeit für sensorische Anwendungen von großem Interesse. Ein wichtiges Problem, das einer erfolgreichen Sensorleistung im Wege steht, ist jedoch häufig die mangelnde elektrische Leitfähigkeit. Auf Graphen (G) basierende Materialien werden aufgrund ihrer außergewöhnlichen chemischen, physikalischen und molekularen Eigenschaften häufig zur Verbesserung der elektrischen Leitfähigkeit von polymerbasierten Gassensoren eingesetzt [3-5]. Die hohe chemische Aktivität und die hohe Elektronenübertragungsfähigkeit von Nanomaterialien auf Graphenbasis sind auf die große Oberfläche und das hohe Oberflächen-Volumen-Verhältnis des Materials zurückzuführen [6-8]. Graphenoxid (GO) und reduziertes Graphenoxid (rGO) sind vielversprechende Nanomaterialien für die Herstellung von Gassensoren aufgrund ihrer sauerstoffhaltigen Gruppen wie Epoxid, Carboxyl, Carbonyl und Hydroxyl, die das Material funktionalisierbar machen [9,10]. Im Vergleich zu GO enthält rGO weniger solche Gruppen und zeigt aufgrund der Hydrophobie der Oberfläche eine stabilere Dispersion in organischen Lösungsmitteln, was zu einer besseren Verteilung in der Matrix und damit zu einer höheren elektrischen Leitfähigkeit führt. rGO kann für elektronische Geräte, Nanokomposit-Materialien, Polymerkomposit-Materialien, biomedizinische Anwendungen, Katalyse und vieles mehr verwendet werden [11,12]. Für Sensoranwendungen sind die Eigenschaften von Nanokomposit-Sensoren auf der Basis von rGO/Polymermaterial jedoch noch unbefriedigend [13-17], weshalb versucht wird die Eigenschaften durch weitere Modifikationen zu verbessern. In dieser Arbeit wurde Tetraethylenpentamin (TEPA) zur Reduktion und Funktionalisierung von GO (F-rGO) verwendet, um die Dispersionsqualität von rGO in Polymeren (Polymethylmethacrylat, PMMA) zu optimieren. TEPA enthält eine große Anzahl von Amingruppen, die die funktionellen Sauerstoffgruppen von GO entfernen und somit zu einer höheren Defektdichte führen, was die elektrische Leitfähigkeit des Komposits erhöhen kann (Abb.1). Das fertige F-rGO/Polymer-Komposit kann als sensitive Schicht zum Nachweis unterschiedlicher Konzentrationen von Toluoldämpfen eingesetzt werden.

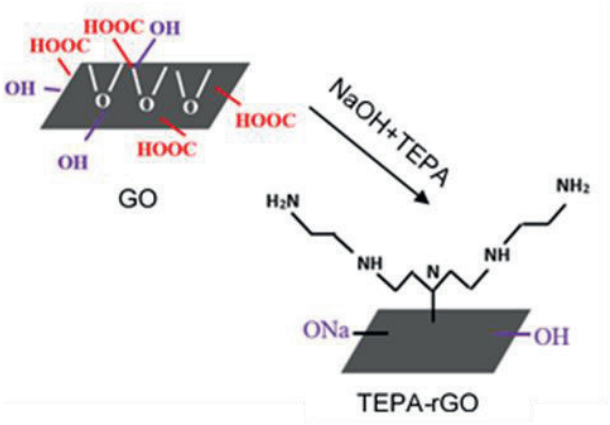


Abb. 1: Illustration der Reaktivität von GO bei NaOH- und TEPA-Behandlung

Methoden und Materialien

Als Polymerkomponente der hier präsentierten Komposite wurde Polymethylmethacrylat (PMMA) gewählt, welches mittels Emulsionspolymerisation synthetisiert wurde. Für die Polymersynthese wurde das Monomer (MMA) als Lösung (20 ml, 99%, Alfa Aesar) zu deionisiertem Wasser (200 ml) gegeben und unter Stickstoffspülung bei einer Temperatur von 60 °C auf einer Heizplatte gerührt (350 U/min, 1:30 h). Die Stickstoffspülung diente dazu, den Sauerstoff aus der Reaktionsumgebung zu entfernen.

Weiterhin wurde Azobis-(2-Methylpropionamidin) Dihydrochlorid (0,10 g, Fluka) als Radikalinitiator mit deionisiertem Wasser (50 ml) vermischt, bis eine homogene Lösung entstand. Dieser Radikalstarter fördert die Polymerisierung, da die sonstige Bildung von Radikalen durch Sauerstoff in der Reaktionsumgebung behindert werden kann. Danach wurde der Initiator zur MMA-Lösung hinzugefügt und die Polymerisation für 6 Stunden bei einer Temperatur von 70 °C durchgeführt. Für die Synthese von funktionalisiertem rGO (F-rGO) wurden 100 mg GO (Sigma-Aldrich) zu deionisiertem Wasser (50 ml) hinzugefügt und 2 Stunden lang beschallt (Sonorex, super 10P). Danach wurden 2 ml 2 molarer Natriumhydroxidlösung und 100 µl TEPA zur GO-

Lösung gegeben und 15 Stunden lang bei Raumtemperatur mit einer Geschwindigkeit von 250 U/min gerührt. Natriumhydroxid wurde als Katalysator verwendet, um die Oberfläche von GO zu modifizieren und das Reaktionsmedium basisch zu machen. Natriumhydroxid reagiert mit den Epoxidgruppen und erzeugt eine OH- und eine ONa-Gruppe auf der Oberfläche der Graphenoxidschicht (Abb.1). Dadurch wird der Ladungstransfer im F-rGO beschleunigt [18,19]. Schließlich wurde das F-rGO abfiltriert, mit deionisiertem Wasser gewaschen und in einem Trockenschrank bei 60 °C getrocknet. Die fertige Probe wurde anschließend in deionisiertem Wasser redispergiert und erneut im Ultraschallbad 1 Stunde lang bei einer Leistung von 10 % bei Raumtemperatur beschallt, um eine stabile Dispersion herzustellen, die anschließend bei Raumtemperatur gelagert wurde. Das Nanokomposit wurde mit der Emulsionsmischmethode hergestellt. Das F-rGO wurde dem Polymer in verschiedenen Massenverhältnissen (F-rGO:Polymer 1:5, 1:1, 5:1) zugegeben und die erhaltene Lösung wurde bei einer Rotationsgeschwindigkeit von 350 U/min bei 50 °C gerührt. Das erhaltene Komposit wurden zur strukturellen und morphologischen Analyse auf ein Siliziumsubstrat getropft. Die strukturellen und morphologischen Eigenschaften der Sensorschichten wurden durch Ramanspektren und Rasterelektronenmikroskopie (REM, Carl Zeiss LEO 1530) charakterisiert. Die Dicke der Schichten wurde mittels Rasterkraftmikroskopie gemessen. Zur Sensorherstellung wurden die Nanokomposite (0,25 ml je Schicht, einmal wiederholt, Gesamtvolumen 0,5 ml) auf die Oberfläche einer goldenen Interdigitalelektrode (Abmessungen der empfindlichen Oberfläche: 3 mm × 2 mm) bei Raumtemperatur mit einer Geschwindigkeit von 3000 U/min für 9 Sekunden (Spincoater-BLE-Delta 10) aufgeschleudert. An diesen Schichten wurde der elektrische Widerstand mit einem Digitalmultimeter (METEX-m-3640D) bestimmt. Die sensorischen Eigenschaften wurden als Änderung des elektrischen Widerstands des Nanokompositfilms bei verschiedenen Toluol-Konzentrationen (100 ppm, 400 ppm, 1600 ppm, 5000 ppm) mit einem in [20] beschriebenen Messaufbau bestimmt.

Ergebnisse und Diskussion

Ramanspektren wurden sowohl vom reinen GO, dem F-rGO und den F-rGO-Polymer-Kompositen aufgenommen und sind in Abbildung 2 gezeigt. Die Spektren zeigen zwei Hauptschwingungsmoden im Bereich zwischen 1000 cm-1 und 1750 cm-1, die durch D- und G-Schwingungsbänder verursacht werden. Das D-Band entsteht aus einem Atmungsmodus von K-Punkt-Photonen der A1g-Symmetrie [21] und zeigt sp^3-hybridisierten Kohlenstoff an. Damit zeigt eine höhere Intensität des D-Bands eine zunehmende Unterbrechung der aromatischen π-Elektronen an. Die G-Bande hängt mit der Streuung von E2g-Phononen erster Ordnung durch sp^2-hybridisierten Kohlenstoff zusammen [10]. Das Intensitätsverhältnis (ID/ IG) von D- und G-Bindungen liefert somit Informationen über die Umwandlung von sp^2-hybridisiertem Kohlenstoff in sp^3-hybridisierten Kohlenstoff und damit über die Defekte in graphenbasierten Proben, wobei ein höheres Verhältnis mehr Defekte auf den Graphenschichten anzeigt. Der Vergleich der Spektren von F-rGO: Polymer 1:5 und 5:1 zeigt, dass das Intensitätsverhältnis (ID/IG) mit der Zugabe von F-rGO steigt. Es werden also mit steigender F-rGO-Konzentration mehr Defekte erzeugt, die in einer niedrigeren elektrischen Leitfähigkeit resultieren. Das Intensitätsverhältnis der 1:1-Probe zeigt den gleichen Trend, allerdings ist die Intensität deutlich geringer, was vermutlich auf Schwierigkeiten bei der Messung zurückzuführen ist. Weiterhin kann in den Spektren ein 2D-Band beobachtet werden, welches hauptsächlich etwas über die Anzahl der Schichten in der Struktur aussagt. Ein Aufspalten des Peaks, wie es für das F-rGO in Abbildung 2(a) zu erkennen ist, deutet auf das Vorliegen einer Multilagenstruktur hin. Auch die 1:1- und 5:1-Probe zeigen diese Form des 2D-Peaks und liegen somit als Multilagen vor. Abweichend davon ist im Spektrum der 1:5-Probe kein Aufspalten zu erkennen. Sie liegt somit als Monolage vor. Da dies den Ladungstransfer vereinfacht, ist zusammen mit der durch das niedrige ID/IG-Verhältnis angezeigte hohe Anzahl von delokalisierten Elektronen aufgrund des sp^2-hybridisierten Kohlenstoffs für dieses Massenverhältnis von einer höheren elektrischen Leitfähigkeit auszugehen.

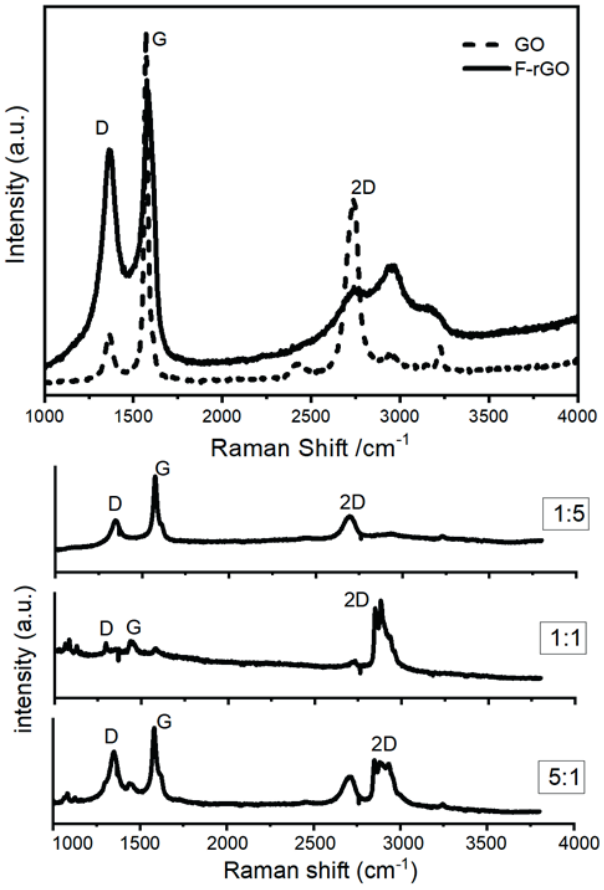


Abb. 2: Raman-Spektren von (a) GO und, F-rGO, (b) Kompositen F-rGO:Polymer (1:5, 1:1, 5:1).

In Abb. 3 (a-c) sind REM-Aufnahmen der F-rGO:Polymer-Komposite gezeigt. In diesen Bildern ist das F-rGO

weiß und die Polymermatrix schwarz dargestellt. F-rGO/Polymer-Komposite entstehen durch elektrostatische Wechselwirkung aufgrund der zahlreichen Aminogruppen in den F-rGO-Lagen. Die Aminogruppen sorgen für eine raue, zerknitterte und faltige Oberfläche der Komposite [23]. Aufgrund der Bildung kovalenter Bindungen zwischen dem Hybridmaterial und der Polymermatrix durch die Aminogruppen wurde eine Agglomeration in den Kompositen beobachtet [24,25]. Von allen Kompositen zeigt F-rGO:Polymer 1:5 die homogenste Verteilung des F-rGO im Polymer, eine geringe Aggregation der Partikel und die Bildung eines Netzwerks in der Matrix, was zu einem vielversprechenden Kompositfilm für einen Toluolsensor führt. Die Tab. 1 zeigt die gemessene elektrische Leitfähigkeit und Dicke der Komposite.

Tab. 1: Elektrische Leitfähigkeit und Schichtdicke der Komposite.

F-rGO:Polymer	**1:5**	**1:1**	**5:1**
Elektrische Leitfähigkeit × 10^{-7} (S/cm)	49	8.7	8.8
Dicke des Sensorfilms (µm)	8µm ± 0.6		

Unter den Nanokompositen zeigen TEPA-rGO/PMMA-Komposite mit einem Verhältnis von 1:5 eine höhere Leitfähigkeit als die anderen Komposite. Der Grund könnte die homogene Verteilung von TEPA-rGO in der Polymermatrix sein und damit die Bildung eines leitfähigen Perkolationspfades. Weiterhin unterstützen ein hoher Reduktionsgrad des GO und das Vorhandensein größerer Mengen homogen verteilter funktioneller Stickstoffgruppen die erhöhte Leitfähigkeit dieser Probe. Die geringe elektrische Leitfähigkeit in 1:1- und 5:1-Kompositen hingegen ist das Ergebnis der erhöhten Konzentration von Polymer- und Stickstoffelementen aus TEPA im Polymerlatex, die eine Agglomeration verursachen (siehe Abb. 3 b und c).

Die gemessene Änderung des elektrischen Widerstands als Sensorantwort der hergestellten F-rGO/Polymer-Sensoren auf unterschiedliche Konzentrationen (100 ppm, 400 ppm, 1600 ppm, 5000 ppm) von Toluol sind in Abb. 4 dargestellt. Für alle Zusammensetzungen wurde eine positive Korrelation zwischen steigender Toluolkonzentration und der Änderung des elektrischen Widerstands festgestellt.

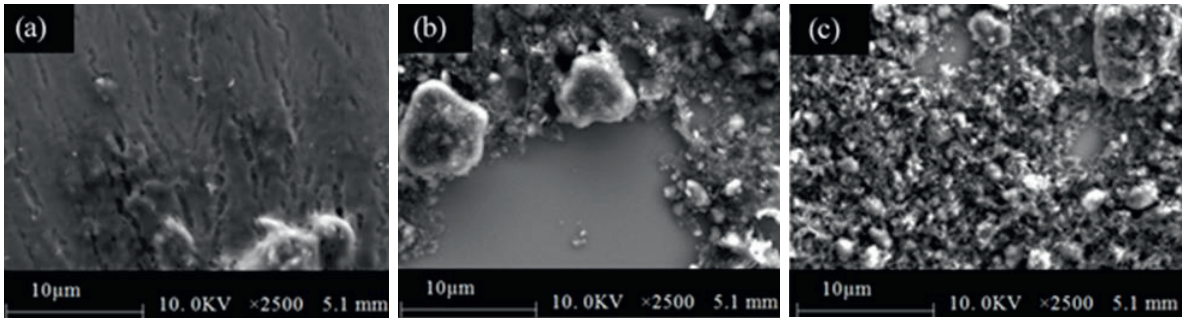


Abb. 3: REM-Bilder von F-rGO:Polymer (PMMA): (a) 1:5 (b) 1:1, (c) 5:1

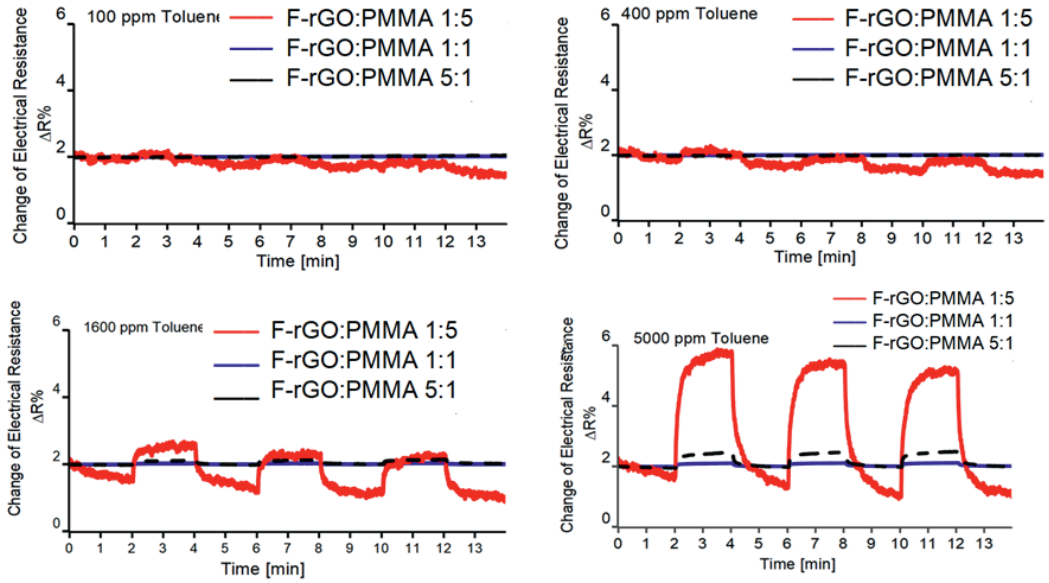


Abb. 4: Veränderung des elektrischen Widerstands von F-rGO:Polymer (PMMA) bei verschiedenen Beladungsverhältnissen von 1:5 (rote Kurve); 1:1 (blaue Kurve); und 5:1 (schwarze Kurve) gegenüber verschiedenen Konzentrationen von Toluol (100 ppm, 400 ppm, 1600 ppm und 5000 ppm).

Der Sensor auf der Basis von F-rGO:Polymer 1:5 zeigt die höchste Empfindlichkeit. Wahrscheinlich ist dies auf die hohe elektrische Leitfähigkeit zurückzuführen, die fünfmal höher ist als bei den anderen Zusammensetzungen.

Die Widerstandsänderung von F-rGO:Polymer 1:5 wurde mit 2.17% für 100 ppm und 5.71% für 5000 ppm ermittelt. Die höhere Empfindlichkeit von F-rGO:Polymer 1:5 könnte auf die starke Bindung zwischen Polymer und F-rGO zurückzuführen sein, die π-π Wechselwirkung mit dem Analyt und die homogene Dispersion des Hybridmaterials in der Matrix begünstigt. Alle untersuchten Sensoren zeigten kurze Ansprech- und Erholungszeiten, was darauf hindeutet, dass die Toluol-Moleküle im Komposit physisorbiert sind. Mit steigendem F-rGO-Gehalt zeigte der Sensor eine geringere Sensorantwort auf Toluol. Mögliche Gründe für dieses Verhalten könnten eine geringere Anzahl von Grenzflächen zwischen F-rGO und Polymer oder eine verminderte Ausbildung des Perkolationsnetzwerks durch Zugabe eines höheren F-rGO-Anteils und der resultierenden Bildung von Aggregaten sein. Die hohe Empfindlichkeit von F-rGO:Polymer 1:5 gegenüber unterschiedlichen Konzentrationen von Toluol bestätigt den zufriedenstellenden Reduktionsprozess von GO und die homogene Verteilung von F-rGO in der PMMA-Matrix.

Das erhaltene F-rGO/Polymer-Nanokomposit hat sich in dieser Arbeit als vielversprechendes Material für den Nachweis von Toluol etabliert. Es ist davon auszugehen, dass durch die Optimierung der Zusammensetzung und Durchmischung eine weitere Verbesserung des Komposits möglich ist, um bessere elektrische Eigenschaften im Bereich der Sensoranwendung zu erreichen. Darüber hinaus sind systematischere Studien erforderlich, um mehr Einblicke in den Sensormechanismus von F-rGO/Polymer gegenüber VOCs zu gewinnen.

Literatur

[1] Yuan, W.; Huang, L.; Zhou, Q.; & Shi, G.: Ultrasensitive and selective nitrogen dioxide sensor based on self-assembled graphene/polymer composite nanofibers. ACS applied materials & interfaces, 6(19) (2014), S.17003-17008.

[2] Ma, X.; Xie, G.; Su, Y.; Du, H.; Xie, T.; & Jiang, Y.: Polyvinylpyrrolidone/graphene oxide thin films coated on quartz crystal microbalance electrode for NH 3 detection at room temperature. Science China Technological Sciences, 59(9), (2016), S.1377-1382.

[3] Qi, P.; Zhao, C.; Wang, R.; Fei, T.; & Zhang, T.: High-performance QCM humidity sensors using acidized-multiwalled carbon nanotubes as sensing film. IEEE Sensors Journal, 18(13), (2018), S. 5278-5283.

[4] Basu, S.; & Bhattacharyya, P.: Recent developments on graphene and graphene oxide based solid-state gas sensors. Sensors and Actuators B: Chemical, 173, (2012), S.1-21.

[5] Thriumani, R.; Zakaria, A.; Omar, M. I.; & Halim, F. A.: An initial study on oxidized graphene-coated QCM based gas sensor for cancer related volatile sensing application. Recent Innovations in Chemical Engineering (Formerly Recent Patents on Chemical Engineering), 11(1), (2018). S. 29-39.

[6] Kaushik, A.; Kumar, R.; Jayant, R. D.; & Nair, M.: Nanostructured gas sensors for health care: an overview. Journal of personalized nanomedicine, 1(1), (2015). S.10.

[7] Kauffman, Douglas R., and Alexander Star. "Carbon nanotube gas and vapor sensors." Angewandte Chemie International Edition 47, no. 35 (2008): 6550-6570.

[8] Salavagione, H.J.; Diez-Pascual, A.M.; Lázaro, E.; Vera, S. and Gomez-Fatou, M.A.: Chemical sensors based on polymer composites with carbon nanotubes and graphene: the role of the polymer. Journal of Materials Chemistry A, 2(35), (2014). S.14289-14328.

[9] Yang, Y.; Li, S.; Yang, W.; Yuan, W.; Xu, J.; & Jiang, Y.: In situ polymerization deposition of porous conducting polymer on reduced graphene oxide for gas sensor. ACS applied materials & interfaces, 6(16), (2014). S.13807-13814.

[10] Hidayah, N. M. S.; Liu, W. W. ; Lai, C. W. ; Noriman, N. Z. ; Khe, C. S. ; Hashim, U. ; & Lee, H. C.: Comparison on graphite, graphene oxide and reduced graphene oxide: Synthesis and characterization. In AIP Conference Proceedings (Vol. 1892, No. 1, p. 150002). AIP Publishing LLC, October 2017

[11] Compton, O. C.; & Nguyen, S. T.: Graphene oxide, highly reduced graphene oxide, and graphene: versatile building blocks for carbon-based materials. Small, 6(6), (2010). S. 711-723.

[12] Jeffery, A. A.; Rao, S. R.; & Rajamathi, M.: Preparation of MoS2–reduced graphene oxide (rGO) hybrid paper for catalytic applications by simple exfoliation–costacking. Carbon, 112, (2017). S. 8-16.

[13] Krishnamoorthy, K.; Veerapandian, M.; Yun, K.; & Kim, S. J.: The chemical and structural analysis of graphene oxide with different degrees of oxidation. Carbon, 53, (2013), S.38-49.

[14] Pham, V. H.; Dang, T. T.; Hur, S. H.; Kim, E. J.; & Chung, J. S.: Highly conductive poly (methyl methacrylate)(PMMA)-reduced graphene oxide composite prepared by self-assembly of PMMA latex and graphene oxide through electrostatic interaction. ACS applied materials & interfaces, 4(5), (2012), S. 2630-2636.

[15] Sehrawat, P.; Islam, S. S.; Mishra, P.; & Ahmad, S.: Reduced graphene oxide (rGO) based wideband optical sensor and the role of Temperature, Defect States and Quantum Efficiency. Scientific reports, 8(1), (2018), S.1-13.

[16] Sheka, E. F.: The uniqueness of physical and chemical natures of graphene: their coherence and conflicts. International Journal of Quantum Chemistry, 114(16), (2014), S. 1079-1095.

[17] Wang, Z.; Li, P.; Chen, Y.; He, J.; Zhang, W.; Schmidt, O. G.; & Li, Y.: Pure thiophene–sulfur doped reduced graphene oxide: synthesis, structure, and electrical properties. Nanoscale, 6(13), (2014), S. 7281-7287.

[18] Lee, C.; Wei, X.; Kysar, J. W.; & Hone, J.: Measurement of the elastic properties and intrinsic strength of monolayer graphene. Science, 321(5887), (2008), S. 385-388.

[19] Krishna, R., Fernandes, D. M.; Venkataramana, E.; Dias, C.; Ventura, J.; Freire, C.; & Titus, E.: Improved reduction of graphene oxide. Materials Today: Proceedings, 2(1), (2015), S. 423-430.

[20] Joseph, Y.; Guse, B.; Yasuda, A.; & Vossmeyer, T.: Chemiresistor coatings from Pt-and Au-nanoparticle/nonanedithiol films: sensitivity to gases and solvent vapors. Sensors and Actuators B: Chemical, 98(2-3), (2014), S. 188-195.

[21] Thakur, S.; & Karak, N.: Green reduction of graphene oxide by aqueous phytoextracts. Carbon, 50(14), (2012) S. 5331-5339.

[22] Tripathi, S. N.; Saini, P.; Gupta, D.; & Choudhary, V.: Electrical and mechanical properties of PMMA/reduced graphene oxide nanocomposites prepared via in situ polymerization. Journal of materials science, 48(18), (2013). S. 6223-6232.

[23] Wang, C.; Zhang, Y.; Lin, L.; Ding, L.; Li, J.; Lu, R.; ... & Cheng, R.: Thermal, mechanical, and morphological properties of functionalized graphene-reinforced bio-based polyurethane nanocomposites. European Journal of Lipid Science and Technology, 117(12), (2015), S. 1940-1946.

[24] Zhang, Z.; Gao, T.; Si, S.; Liu, Q.; Wu, Y.; & Zhou, G.: One-pot preparation of P (TA-TEPA)-PAM-RGO ternary composite for high efficient Cr (VI) removal from aqueous solution. Chemical Engineering Journal, 343, (2018), S. 207-216.

[25] Cao, L., Han, G. C., Xiao, H., Chen, Z., & Fang, C.: A novel 3D paper-based microfluidic electrochemical glucose biosensor based on rGO-TEPA/PB sensitive film. Analytica chimica acta, 1096, (2020), S. 34-43.

Danksagung

Wir danken unserem Kollegen Adam Jörg für wertvolle technische Unterstützung und Angela Reichel für die Mithilfe im Chemielabor (IESM). Besonderer Dank geht an Dr. Himcinschi (Institut für Theoretische Physik, TU Bergakademie Freiberg) und Brigitte Bleiber (Institut für Werkstoffwissenschaft, TU Bergakademie Freiberg) für die Durchführung der Raman- beziehungsweise REM-Untersuchungen.

DOI 10.5162/15dss2021/P9.1

Charakterisierung der Quelldynamiken von smarten Hydrogelen mittels direkter optischer Erfassung

Guannan Mu[1], Klaudia Rückmann[1], Julia Körner[1]

[1]Institut für Grundlagen der Elektrotechnik und Messtechnik,
Leibniz Universität Hannover, Hannover, Deutschland
Kontakt: g.mu@geml.uni-hannover.de

Motivation

Stimuli-responsive (smarte) Hydrogele sind viskoelastische dreidimensionale Netzwerke aus hydrophilen Polymeren, welche die Fähigkeit besitzen, auf einen äußeren Parameter oder Stimulus (z. B. Ionenkonzentration, Licht oder pH-Wert) mit einer Volumenänderung durch Wasseraufnahme bzw. -abgabe zu reagieren [1,2]. Zusammen mit ihrer einfach zu erreichenden Bioverträglichkeit hat diese Art von Polymeren ein sehr großes Potential als Sensorelement im biomedizinischen Bereich. Einsatzmöglichkeiten reichen von passiven Anwendungen (z.B. Stützmatrix für Zellwachstum, Träger für Medikamente) bis hin zu Transducern für die Konzentration von Biomolekülen [3]. Insbesondere für letzteren Fall ist es bei der Entwicklung neuartiger anwendungsspezifischer Hydrogele notwendig, das dynamische Quellverhalten zu untersuchen und zu charakterisieren. Gängige Methoden wie Wiegemessungen und Rasterelektronenmikroskopie stoßen dabei an Grenzen, da diese z.B. kaum eine Echtzeitbeobachtung zulassen und in der Regel zudem (irreversible) Modifikationen der Proben erfordern. Deshalb ist es notwendig, neue Untersuchungsansätze zu entwickeln, die eine Echtzeitanalyse des dynamischen Quellverhaltens sowie die Beobachtung des statischen Verhaltens, insbesondere auch von kleinen Hydrogel-Proben, ermöglichen.

Aufbau zur 3D optischen Charakterisierung von Hydrogel-Proben

Hier wird dazu eine 3D optische Charakterisierungsmethode vorgestellt, die auf einer direkten Kameragestützten Beobachtung der Hydrogel-Probe in einer Fluidkammer basiert. Der Aufbau besteht aus einer 3D-gedruckten Kammer, die mit einem Glasboden (worauf das Hydrogel platziert wird) und einem Seitensichtfenster ausgestattet ist. An beiden Sichtfenstern ist jeweils eine Mikroskop-Kamera positioniert, mit welcher eine Bildaufnahme nach Benutzervorgaben mittels eines selbstgeschriebenen Python-Skriptes erfolgt. Die Fluidkammer ist zusätzlich mit mindestens einem Flüssigkeitseinlass und -auslass für die Verwendung verschiedener Lösungen und einer oberen Öffnung ausgestattet, die für eine ausreichende Beleuchtung erforderlich ist (Abb. 1a).

Aus den aufgenommenen Bildern werden mit Hilfe eines weiteren selbstgeschriebenen Python-Skriptes die Querschnittsfläche und Dicke des Hydrogels in Abhängigkeit der Zeit extrahiert.

Die Flächenbestimmung basiert auf einer Kantenerkennung mittels Threshold (Schwellenwert)-Methode. Dabei werden die Pixel des aufgenommenen Bildes in eine Matrix übertragen und für jedes Element die Threshold-Bedingung nach dem RGB-Farbschema überprüft. Liegt der Farbwert eines Pixels über dem Schwellenwert, wird dieses zur Hydrogelfläche gezählt und im verarbeiteten Bild entsprechend farbig dargestellt, ansonsten wird dieses Pixel in Schwarz umgewandelt. Die Hydrogelfläche ergibt sich demzufolge aus der Anzahl farbiger Pixel.

Wenn lediglich die relative Flächenänderung beim Quellen und Entquellen ausgewertet werden soll, kann direkt der Flächenwert in Pixel verwendet werden. Falls eine Umrechnung in mm² oder cm² erforderlich ist, muss entweder zum Anfang oder zum Ende einer Bilderserie eine Aufnahme mit einer Messskala (z.B. Lineal) erfolgen, mit welcher die Messwerte kalibriert werden können.

Die beschriebene Threshold-Methode kann für alle farbigen bzw. nicht-transparenten Hydrogele angewendet werden, wobei allerdings die Auswertebedingung entsprechend angepasst werden muss. Für eine rot gefärbte Probe wie in Abb. 1b lautet diese:

$$R > T \cdot (1 + B + G) \tag{1}$$

wobei *R, G* und *B* die Farbwerte nach dem RGB-Schema darstellen und *T* den Threshold-Wert. Letzterer muss für die auszuwertende Bilderserie so gewählt werden, dass in allen Fällen mit demselben Schwellenwert eine korrekte Kantenerkennung erfolgt. Dies sollte insbesondere bei langen Serien beachtet werden, da hierbei z.B. Veränderungen der Beleuchtung oder geringfügige Variationen des Füllstandes der Kammer einen Einfluss haben können.

Für andere farbige Gele muss die Bedingung aus Gleichung (1) entsprechend modifiziert werden, so lautet diese z.B. für milchig-weiße Gele:

$$R + G + B > T \; mit \; T > 3 \cdot (255 - x) \qquad (2)$$

Hierbei ist *x* der festzulegende Schwellwert-Parameter.

Im Fall von transparenten Hydrogel-Proben kann die Threshold-Methode nicht verwendet werden. Hierbei kommt ein komplexerer Algorithmus zur Anwendung, wobei die Flächenbestimmung durch Umwandlung in ein Graustufenbild mit anschließender Verwendung eines Gauß- und eines Canny-Filters und ggf. Fehlerkorrekturen realisiert wird. Details hierzu finden sich in [4].

Aus den nach der Bildverarbeitung erhaltenen Kurven lassen sich direkt Rückschlüsse auf die dynamischen Eigenschaften wie z.B. Zeitkonstanten des Quellens und Entquellens, Hysterese und Überschwingen ziehen. Gleichzeitig können auch die statischen Eigenschaften, wie z.B. die maximale Volumenänderung im Gleichgewichtszustand, ermittelt werden.

Weiterhin erlauben die aufgenommenen Bilder eine dreidimensionale Rekonstruktion der betrachteten Probe und damit eine Analyse der Isotropie bzw. die Echtzeitbeobachtung der Morphologie während des Quellvorganges.

Experimentelle Ergebnisse

Die vorgestellte Charakterisierungsmethode wurde mit unterschiedlichen smarten Hydrogelen getestet, um Reproduzierbarkeit von Messungen, (Langzeit-)Stabilität, Sensitivität und Detektionslimit, sowie etwaige Herausforderungen und Einschränkungen zu eruieren. Abb.1b zeigt beispielhaft originale und verarbeitete Bilder (Seitenansicht und Draufsicht) für ein 800 µm dickes mit Gold-Nanopartikeln dotiertes Acrylamid-Hydrogel in einer Konzentration von 0,25x Phosphat-gepufferter Salzlösung (PBS). In Abb. 1c ist der aus einer Serie von 12.915 aufgenommenen Bildern extrahierte Zeitverlauf der Volumenänderung bei einem Konzentrationswechsel 1x – 0,25x – 1x PBS dargestellt. Dieser ergibt sich aus der Python-gestützten Auswertung der zeitlich synchronisierten Bildserien beider Kameras und der Schwellwert-Bedingung aus Gleichung (1).

Zusammenfassung

Mit dieser neuen Detektionsmethode ist es möglich, eine breite Palette von smarten Hydrogelen (chemische Zusammensetzung, Formen) in der gewünschten Lösungsumgebung sowohl hinsichtlich ihres dynamischen als auch stationären Verhaltens in einfacher und dennoch präziser Weise zu charakterisieren.

Literatur

[1] Bahram, M.; Mohseni, N.; Moghtader M. An Introduction to Hydrogels and Some Recent Applications; *IntechOpen*, 2016.

[2] A. Richter, G. Paschew, S. Klatt, J. Lienig, K. F. Arndt, H. P. Adler. Review on Hydrogel-based pH Sensors and Microsensors. *Sensors* 2008, 8(1), 561–581

[3] J. Tavakoli and Y. Tang. Hydrogel based sensors for biomedical applications: An updated review. *Polymers*, 9:264, 2017.

[4] K. Rückmann, G. Mu, J. Magda, F. Solzbacher, C. F. Reiche, J. Körner. A facile real-time optical characterization method for dynamic properties of smart hydrogels. *In preparation*, 2021.

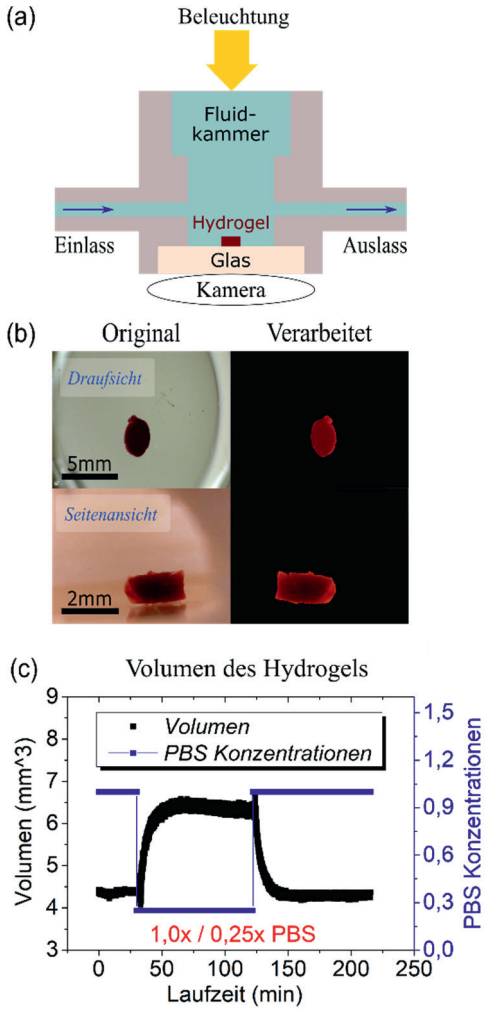


Abb. 1: (a) Aufbau zur optischen Charakterisierung. (b) Aufgenommenes (links) und verarbeitetes Bild (rechts) eines Acrylamid-basierten Hydrogels (Dicke 800 µm, Durchmesser 1 mm) in 0,25x PBS-Lösung. (c) Dynamische Quellungsreaktion als tatsächliche Volumenänderung derselben Hydrogel-Probe in zwei verschiedenen PBS-Konzentrationen, die aus den verarbeiteten optischen Bildern extrahiert wurde.

DOI 10.5162/15dss2021/P9.2

P9.2
Untersuchung kostengünstiger (Feinstaub-) Sensoren für die Überwachung der Aerosolausbreitung unter realen Bedingungen

M. Kerner, S. Antonyuk, Technische Universität Kaiserslautern, Kaiserslautern/D

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/P9.3

Entwicklung eines Hochtemperaturmessgerätes für die elektrische Leitfähigkeit, die Hall-Konstante und den Seebeck-Koeffizienten

Robin Werner[1], Jaroslaw Kita[1], Michael Gollner[2], Florian Linseis[2] und Ralf Moos[2]

[1]Lehrstuhl für Funktionsmaterialien, Universität Bayreuth, Bayreuth, Deutschland
[2]Linseis Messgeräte GmbH, Selb, Deutschland
Kontakt: Functional.Materials@Uni-Bayreuth.de

Einleitung

Die elektrische Leitfähigkeit, die Hall-Konstante und der Seebeck-Koeffizient beschreiben maßgeblich die wichtigsten elektrischen Transporteigenschaften von Materialien. Die Messung der o.g. temperaturabhängigen Parameter erfordert dabei mehrere, oft aufwändige Messgeräte. Ein Blick auf die kommerziell verfügbaren Messgeräte verrät, dass die elektrische Leitfähigkeit entweder zusammen mit der Hall-Konstante oder mit dem Seebeck-Koeffizienten gemessen wird.

Bei den Geräten bzw. Aufbauten zur Messung des Seebeck-Koeffizienten wird dazu oft ein Ofen auf die gewünschte Messtemperatur geregelt. Ein weiterer, in dem Ofen verbauter Heizer sorgt für einen Temperaturgradienten innerhalb der Probe und ermöglicht die Messung einer Thermospannung und daraus die Bestimmung des Seebeck-Koeffizienten.

Für die Messungen der Hall-Konstante hingegen werden eine homogene Temperaturverteilung und ein zusätzliches Magnetfeld benötigt. Das Magnetfeld kann entweder über Permanentmagneten oder über Elektromagneten erzeugt werden. Wichtig dabei ist die Ausrichtung der magnetischen Feldlinien, welche senkrecht zur Richtung des durch die Probe des fließenden Stromes angeordnet sein sollten. Die magnetische Flussdichte sollte dabei unabhängig von der Erzeugungsart so groß wie möglich sein, um die Messgenauigkeit der Hall-Spannung zu erhöhen. Dabei spielen der Polabstand und die Polflächen eine wichtige Rolle. Über den Polabstand lässt sich die Stärke der Flussdichte eines Magnetfeldes einstellen, während die Größe der Polflächen primär die Homogenität bestimmt. Um bei einer betragsmäßig hohen magnetischen Flussdichte messen zu können, ist daher ein möglichst niedriger Polabstand zu wählen. Der geringe Abstand macht die Verwendung von sehr kleinen, nicht-magnetischen Öfen oftmals kompliziert und erschwert damit eine Integration der Messung des Seebeck-Koeffizienten.

Im Rahmen dieses Beitrages wird über den Stand der Entwicklung eines Hochtemperatur-Kombimessgerätes zur Messung der elektrischen Leitfähigkeit, der Hall-Konstante und des Seebeck-Koeffizienten berichtet. Dabei wird speziell auf die Erweiterung eines zuvor in Dickschichttechnologie entwickelten Hochtemperatur-Hall-Messplatzes um die Funktion der Seebeck-Messungen und deren Herausforderungen eingegangen [1].

Probenträger in Dickschichttechnologie

Der neue Probenträger besteht aus einem Al_2O_3-Substrat auf dessen Unterseite abgedeckte siebgedruckte Heizleiterstrukturen aufgebracht wurden (Abb. 1). Durch Joule'sche Erwärmung der primären Heizleiterstruktur kann der Probenträger und somit

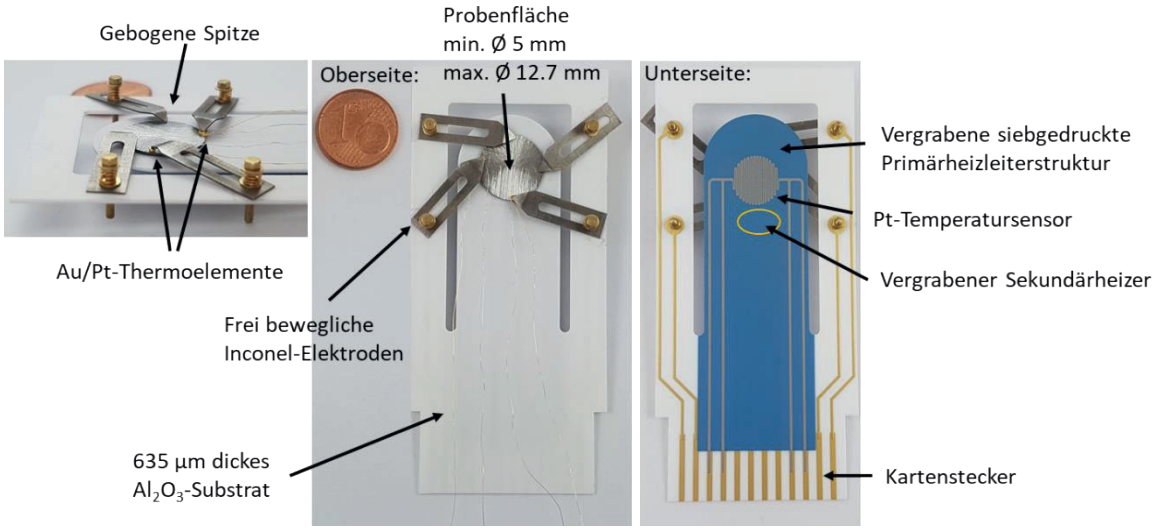


Abb. 1: Probenträger aus Aluminiumoxid mit siebgedruckten Heizleiterstrukturen, frei beweglichen Elektroden, zwei Au/Pt-Thermoelementen für Messungen der elektrischen Leitfähigkeit, der Hall-Konstanten und des Seebeck-Koeffizienten bis 800 °C

auch eine auf der Oberseite platzierte Probe bis zu einer Temperatur von 800 °C erhitzt werden. Ein zusätzlicher Sekundärheizer erlaubt das Einstellen einer variablen Temperaturdifferenz innerhalb der Probe für Messungen des Seebeck-Koeffizienten.

Auf der Oberseite befinden sich vier freibewegliche Inconel-Elektroden, zwischen denen Proben beliebiger Geometrie bis zu einem Durchmesser von 12,7 mm nach der Van-der-Pauw-Messmethode kontaktiert werden können [2]. Die für die Bestimmung des Seebeck-Koeffizienten erforderliche Kontaktstellentemperatur kann über die Thermospannungen zweier Au/Pt-Thermoelemente gemessen werden, die zwischen Elektrode und Probe geklemmt werden [3].

Die Funktionsfähigkeit dieses Probenträgerkonzeptes in Dickschichttechnologie für die einzelnen elektrischen Transportparameter konnte bereits in vorangegangenen Arbeiten gezeigt werden [1,4].

Herausforderungen

In diesem Beitrag wird auf die Herausforderungen eingegangen, die die Messung der elektrischen Leitfähigkeit, der Hall-Konstante und des Seebeck-Koeffizienten mit den aus Abb. 1 dargestellten Probenträger in einem Messzyklus mit sich bringen. Ein besonders wichtiger Punkt ist dabei der sogenannte „Cold-Finger-Effekt“.

Über die Thermoelemente/Inconel-Elektroden wird ein Wärmestrom aus der Probe nach außen in den kalten Bereich abgeführt. Dadurch reduziert sich an den elektrischen Kontaktstellen die Temperatur (siehe Abb. 2).

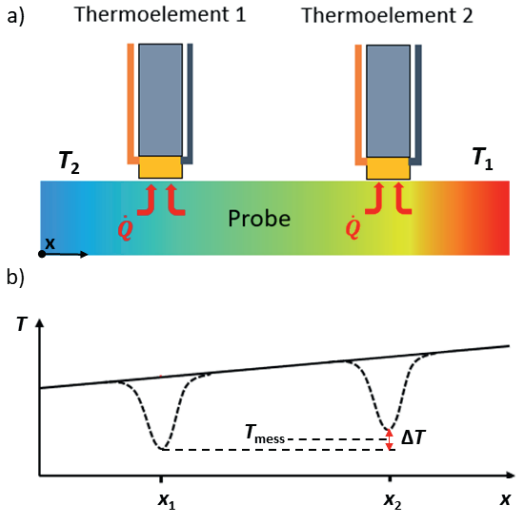


Abb. 2: Schematische Darstellung des Cold-Finger-Effekts a) Temperaturverlauf zwischen zwei Thermoelementen während der Messung des Seebeck-Koeffizienten b) Temperaturprofil mit angedeutetem Cold-Finger-Effekt an den elektrischen Kontakten

Für die Messungen des Seebeck-Koeffizienten ist die Kontaktstellentemperatur allerdings besonders wichtig, da zwischen den Thermoelementen nicht nur die Temperaturdifferenz gebildet, sondern aus deren Mittelwert auch die Messtemperatur des Seebeck-Koeffizienten bestimmt wird (Abb. 2b). Ist dieser Cold-Finger-Effekt besonders stark ausgeprägt, kann es vorkommen, dass die Messtemperatur des Seebeck-Koeffizienten deutlich unterhalb der Messtemperatur der Van-der-Pauw-Messungen liegt, was sowohl Messfehler als auch eine eingeschränkte Vergleichbarkeit der Messergebnisse nach sich zieht [5,6]. Mit Hilfe von FE-Simulationen konnte dieser Effekt signifikant verringert und dadurch der Messaufbau wesentlich verbessert werden.

Im Rahmen dieses Beitrages soll mithilfe von Messungen und FE-Simulationen auf den Einfluss der Thermoelementgeometrie auf den Cold-Finger-Effekt und die daraus resultierenden Vor- und Nachteile für ein solches Hochtemperatur-Kombimessgerät eingegangen werden.

Literatur

[1] WERNER, R.; KITA, J.; GOLLNER, M.; LINSEIS, F.; MOOS, R.: Novel, low-cost device to simultaneously measure the electrical conductivity and the Hall coefficient from room temperature up to 600 °C, *J. Sens. Sens. Syst.* 10 (2021), S. 71–81, doi: 10.5194/jsss-10-71-2021

[2] VAN DER PAUW, L.J.: A Method of Measuring Specific Resistivity and Hall Effect of Discs of Arbitrary Shape, In: Semiconductor Devices: Pioneering Papers, edited by: SZE, S. M., World Scientific, Singapore, S. 174–182, https://doi.org/10.1142/9789814503464_0017, 1991

[3] KIM, Y.-G.; GAM, K.S.; KANG, K.H.: Thermoelectric properties of the Au/Pt thermocouple, *Sci. Instrum. 69* (1998), S. 3577–3582, doi: 10.1063/1.1149141

[4] WERNER, R.; KITA, J.; GOLLNER, M.; LINSEIS, F.; MOOS, R.: Adding Seebeck coefficient measurements to an existing high temperature device for Hall constant and electrical conductivity measurements, *SMSI Sensor and Measurement Science International*, Virtual Conference, 03-06 May 2021, Nuremberg, Germany, doi: 10.5162/SMSI2021/A6.2

[5] BERNHARD, F.: Handbuch der Technischen Temperaturmessung, 2. Edition, Springer, Berlin, Heidelberg, ISBN 978-3-642-24505-3, 2014

[6] BORUP, K.; DE BOOR, J.; WANG, H.; DRYMIOTIS, F.; GASCOIN, F.; SHI, X.; CHEN, L.; FEDOROV, M.; MÜLLER, E.; IVERSEN, B.; SNYDER, G.J.: Measuring thermoelectric transport proper-ties of materials, *Energy Environ. Sci.* 8 (2015), S. 423-435, doi: 10.1039/c4ee01320d

DOI 10.5162/15dss2021/P9.4

Neuartiger pyroelektrischer Detektor mit integrierter Signalkonditionierung und digitaler Kommunikationsschnittstelle

Robin Lehmkau, InfraTec GmbH, Dresden, Deutschland
Kontakt: r.lehmkau@infratec.de

Einleitung

Pyroelektrische Infrarot-Detektoren eignen sich aufgrund ihrer Robustheit und der hervorragenden Leistungsfähigkeit vor allem für die Flammendetektion und Gasanalyse. Sie verfügen über eine hohe Empfindlichkeit über einen breiten Wellenlängenbereich und benötigen keine Biasspannung bzw. -strom, da die thermische Energie direkt in elektrische Ladung gewandelt wird. Die wesentlichen Bestandteile konventioneller Detektoren sind ein oder mehrere pyroelektrische Sensorelemente sowie ein hybrid integrierter analoger Vorverstärker. Zwei weit verbreitete Betriebsarten sind der Spannungs- und Strombetrieb. Der Spannungsbetrieb kann z.B. als Sourcefolger mit einem Sperrschicht-Feldeffekttransistor (JFET) implementiert werden, wobei die Signalspannung über R_g niederohmig am Ausgang zur Verfügung gestellt wird und R_s den Sourcestrom des JFET reguliert.

Demgegenüber wird beim Strombetrieb in der Regel ein Transimpedanzverstärker mit Operationsverstärker sowie einer hochohmigen Feedbackimpedanz genutzt. Beide Varianten sind in Abb. 1 dargestellt.

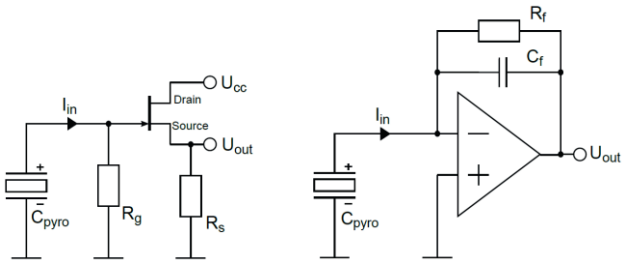


Abb. 1: Spannungsbetrieb (links) und Strombetrieb (rechts) mit den Höchstohmwiderständen R_g und R_f im Gigaohm-Bereich

Dem allgegenwärtigen Entwicklungstrends der Miniaturisierung und Digitalisierung folgend, entwickelt InfraTec einen neuartigen digitalen Detektor. Die erwarteten Vorteile sind unter anderem, dass sich der Aufwand für die Aufbau- und Verbindungstechnik vereinfacht. Des Weiteren werden empfindliche analoge Leitungen auf ein Minimum gekürzt, wodurch sich die elektromagnetische Verträglichkeit (EMV) verbessert. Zudem erleichtert sich die Systemintegration durch das direkte Auslesen digitaler Messerwerte ohne eine zusätzliche externe Nachverstärkung und Analog-Digital-Wandlung. Ein weiterer entscheidender Vorteil ist, dass die Signalkonditionierung hinsichtlich elektrischer Verstärkung und Filterung flexibel und jederzeit für den jeweiligen Anwendungsfall eingestellt werden kann und nicht durch diskrete Bauelemente fixiert ist.

Der Kern des digitalen Detektors ist ein neuer Application-Specific Integrated Circuit (ASIC), welcher die wesentlichen Schritte der pyroelektrischen Signalverarbeitung ausführt. Eine wichtige Herausforderung für das ASIC-Design ist der sehr hohe notwendige Verstärkungsfaktor für geringe pyroelektrische Ströme mit einer Amplitude von teilweise < 1 pA. Ein klassischer analoger Höchstohmwiderstand im Gigaohm-Bereich ist nicht praktikabel auf kleiner Fläche in Silizium integrierbar. Deshalb muss ein alternatives Schaltungskonzept verwendet werden, welches ohne Höchstohmwiderstand trotzdem stabil und störunanfällig arbeitet.

Dieser Beitrag unterteilt sich dazu im Folgenden in drei Hauptbereiche. Zunächst wird der entwickelte ASIC mit neuer Funktionalität vorgestellt. Anschließend werden die Messergebnisse präsentiert sowie im letzten Teil die Leistungsfähigkeit im Vergleich zum Stand der Technik evaluiert.

Funktionsprinzip Schaltkreis

Die Bestandteile des neuartigen digitalen Detektors sind in Abb. 2 dargestellt. In der Gasanalyse trifft typischerweise modulierte Infrarotstrahlung, welche mithilfe von optischen Filtern und Fenstern hinsichtlich des Wellenlängenbereichs begrenzt wird, auf das Sensorelement, z.B. bestehend aus Lithiumtantalat.

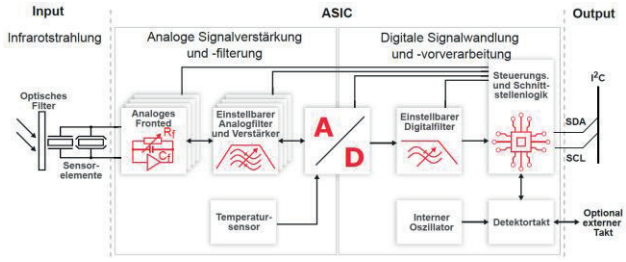


Abb. 2: Übersicht der implementierten Funktionen im ASIC mit Eingangs- und Ausgangssignal

Dieses erwärmt sich und durch den pyroelektrischen Effekt können elektrische Ladungsträger in Form eines Stromes i_p in Abhängigkeit des pyroelektrischen Koeffizientens p, der aktiven Sensorfläche A und der Temperaturänderung des Sensorelements dT/dt entsprechend Gl. (1) abgegriffen werden [1].

$$i_\mathrm{p} = p \cdot A \cdot \frac{dT}{dt} \qquad (1)$$

Der entstehende Strom fließt in den ASIC, welcher die wesentlichen Schritte der pyroelektrische Signalverarbeitung und -konditionierung ausführt. Dazu ist er in einen Analog- und einen Digitalteil strukturiert.

Analoge Signalverarbeitung

Die analoge Eingangsstufe ähnelt einem klassischen Transimpedanzverstärker bzw. dem Strombetrieb aus Abb. 1. Der wesentliche Unterschied ist, dass der Feedbackwiderstand R_f durch eine geschaltete Kapazität C_{sw} gebildet wird. Dabei wird eine Schaltungstopologie entsprechend Abb. 3 verwendet, die unempfindlich gegenüber parasitären Kapazitäten der einzelnen Schalter ist. In [2] wird die Funktionsweise detailliert beschrieben. Zusammengefasst wird der Kondensator C_{sw} mit einer definierten Schaltfrequenz f_{sw} auf- und entladen, womit sich das tiefpassgefilterte Ausgangssignal nahezu äquivalent zu einem ohmschen Widerstand entsprechender Größe verhält. Φ_1 und Φ_2 sind dabei nicht überlappende Taktsignale.

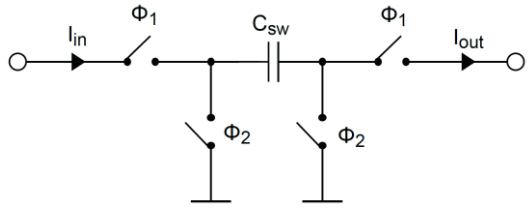


Abb. 3: Geschaltete Kapazität C_{sw} mit nicht überlappenden Takten Φ_1 und Φ_2

Der wirksame Widerstand R_{sw} berechnet sich nach Gl. (2). Für ausgewählte Kombinationen aus Schaltkapazität C_{sw} und Schaltfrequenz f_{sw} lassen sich folgende sehr hochohmige Widerstandswerte in Tabelle 1 erreichen.

$$R_{\mathrm{sw}} = \frac{1}{f_{\mathrm{sw}} \cdot C_{\mathrm{sw}}} \qquad (2)$$

Tabelle 1: Implementierter Feedbackwiderstand in Abhängigkeit der Schaltfrequenz und -kapazität

f_{sw}	C_{sw}	R_{sw}
16 kHz	50 fF	1,25 GΩ
16 kHz	25 fF	2,50 GΩ
1 kHz	50 fF	20 GΩ
1 kHz	25 fF	40 GΩ

Zur Einordnung der Flächenersparnis gibt es ein passendes Beispiel in [3] zur Dimensionierung eines RC-Filters. Darin ersetzt eine geschaltete Kapazität von 1 pF mit einem Takt von 100 kHz den äquivalenten 10 MΩ-Widerstand. Durch die geschaltete Schaltungstopologie wird eine Flächenreduktion im integrierten Schaltkreis um den Faktor 500 erreicht.

In der SPICE-Simulation aus Abb. 4 sind die Parameter demonstrativ so eingestellt, dass die Schaltflanken eines 500 Hz-Taktes zum Auf- und Entladen von C_{sw} im Ausgangssignal $U_{out\ raw}$ der Eingangsstufe erkennbar sind. Anschließend wird das Signal tiefpassgefiltert mit einer Grenzfrequenz von 100 Hz, wodurch eine Glättung erzielt wird. Die gefilterte Spannung $U_{out\ lp}$ entspricht der eines äquivalenten analogen Widerstands.

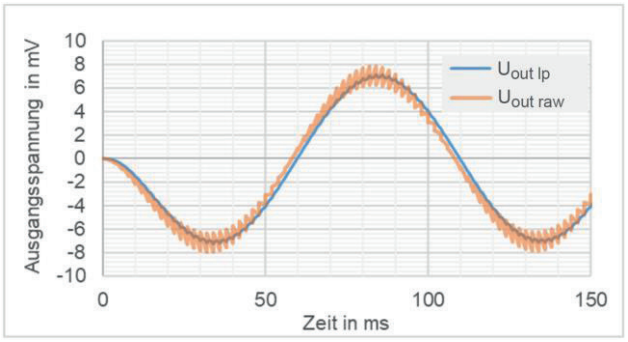


Abb. 4: SPICE Simulation eines Transimpedanzverstärkers mit 10 Hz Eingangssignal sowie einer geschalteten Kapazität (f_{sw} = 500 Hz, C_{sw} = 1 pF) für das Roh-Ausgangssignal (orange) und dem tiefpassgefiltertem Ausgangssignal (blau)

Im Anschluss an den Transimpedanzverstärker kann das Signal weiter gefiltert und verstärkt werden. Damit ist es möglich, den Eingangsspannungsbereich des folgenden Analog-Digital-Wandlers optimal auszusteuern. Unerwünschte niederfrequente Störungen, z.B. in Folge von Schwankungen der Umgebungstemperatur, werden mit einem Hochpass gedämpft. Für ein hohes Maß an Flexibilität sind die Grenzfrequenzen des Hoch- und Tiefpasses einstellbar. Auch die Feedbackkapazität und der Feedbackwiderstand, welcher durch die geschaltete Kapazität implementiert ist, können entsprechend Tabelle 2 über einen weiten Bereich konfiguriert werden:

Tabelle 2: Einstellbare Bereiche für ausgewählte Parameter der analogen Signalverarbeitung

Parameter	Bereich
R_f	4 … 2048 GΩ
C_f	50 … 6400 fF
Hochpass-Grenzfrequenz	0,5 … 4 Hz
Tiefpass-Grenzfrequenz	12,5 … 100 Hz
Integrierte Nachverstärkung	0 … 22,5 dB

Für den Großteil der pyroelektrischen Anwendungen mit typischen Modulationsfrequenzen von 1 … 100 Hz sowie optischen Strahlungsintensitäten von 0,1 … 10 W/m² kann das resultierende Stromsignal mit hohem Signal-Rausch-Abstand nahezu ideal konditioniert und in eine Spannung überführt werden.

Abschließend digitalisiert ein Delta-Sigma-Wandler mit 16 Bit Auflösung und 1,6 V Eingangsspannungsbereich das Analogsignal. Der Konvertierungsfaktor

c_{adc}, der das Verhältnis der analogen Spannung zur Bitzahl widerspiegelt, berechnet sich zu:

$$c_{\mathrm{adc}} = \frac{1{,}6\ \mathrm{V}}{(2^{16}-1)\ \mathrm{counts}} = 2{,}44\ \frac{\mu\mathrm{V}}{\mathrm{count}}. \qquad (3)$$

Damit ist es möglich, beliebige analoge und digitale Detektoren bezüglich ihrer Leistungsfähigkeit direkt miteinander zu vergleichen.

Digitale Signalverarbeitung

Der Digitalteil steuert alle internen Logiksignal, bereitet die Messdaten weiter auf und stellt sie in Registern zum Auslesen per I²C-Schnittstelle zur Verfügung. Im ersten Schritt muss das Ausgangssignal des Delta-Sigma-Wandlers systembedingt tiefpassgefiltert werden, um hochfrequente Störungen zu minimieren. Dazu wird im ASIC ein Dezimationsfilter verwendet [4]. Das gesampelte Signal kann dann per I²C-Schnittstelle im Fast Mode Plus (FM+) mit bis zu 1 MHz in Abhängigkeit der Buskapazität ausgelesen werden. Die weitere Datenaufbereitung und -auswertung erfolgt zuletzt in einer übergeordneten Steuerungseinheit.

Ein sehr wichtiger Schritt für die präzise Signalauswertung ist die Synchronisation aller Taktquellen im Messsystem. Bei analogen Detektoren müssen die Taktquelle für die Strahlungsmodulation f_{mod} sowie Abtastzeitpunkt bzw. -frequenz f_a des kontinuierlichen analogen Detektorsignals in der Steuerungseinheit synchronisiert werden. Anschließend wird z.B. die diskrete Fourier-Transformation (DFT) des abgetasteten Signals verwendet, um den Effektivwert der Grundwelle der Modulationsfrequenz auszuwerten. Als besondere Form der DFT kann für eine schnellere Berechnung auch der Görtzel-Algorithmus benutzt werden, der nur einzelne spektrale Anteile berechnet [5].

Die Abtastfrequenz hängt bei digitalen Detektoren vom Systemtakt des ASIC und nicht von der Steuerungseinheit ab. Agieren die Takte des Infrarotemitters f_{mod} und des digitalen Detektors f_{det} asynchron, können aufgrund von Fertigungstoleranzen und Temperaturdriften der Quarzkristalle bzw. Oszillatoren größere Frequenzabweichungen entstehen. Daraus folgt, dass sich die Phase zwischen den Taktquellen f_{mod} und f_{det} kontinuierlich ändert und der Startzeitpunkt zum Abtasten eines Intervalls sich an einer undefinierten Stelle der Strahlermodulation befindet. Das zweite Problem ist, dass die Frequenzauflösung Δf einer DFT von der Abtastfrequenz f_{det} und der Anzahl der Messwerte N wie folgt in Gl. (3) abhängt [6]:

$$\Delta f = \frac{f_{\mathrm{det}}}{N}. \qquad (4)$$

Weichen f_{mod} und f_{det} zu stark von ihren Sollwerten ab, wird in der DFT die reale Modulationsfrequenz f_{mod} durch keinen berechneten Frequenzanteil genau getroffen, sondern liegt im ungünstigsten Fall genau zwischen zwei Punkten oder wird dem falschen Frequenzpunkt zugeordnet. Bei der sich anschließenden Auswertung der Magnitude an der Stelle der Strahlerfrequenz ergibt sich für diesen Fall ein Fehler.

Um die Synchronisation der genannten Takte im Messsystem zu gewährleisten, verfügt der digitale Detektor über eine zusätzliche Clock-Funktion (CLK), welche in Abb. 5 angedeutet ist. Typischerweise arbeitet der ASIC mit einer Taktfrequenz von 32 kHz. Als Quelle kann entweder ein interner oder extern eingespeister Takt verwendet werden. Nutzt man den internen Takt sind etwaige Abweichungen im DFT-Spektrum nicht vermeidbar. Vorteilhafter ist es, einen Takt durch die übergeordnete Steuerungseinheit vorzugeben, der zusammen mit der Modulationsfrequenz des Infrarotemitters aus der gleichen Quelle abgeleitet wird. Damit ist eine präzise phasen- und frequenzstabile Signalauswertung möglich.

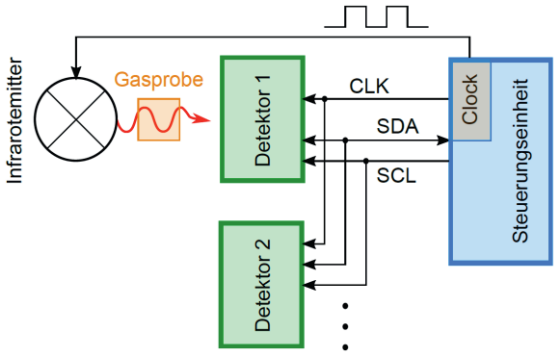


Abb. 5: Beispielhaftes pyroelektrisches Messsystem mit einem extern vorgegebenen Detektortakt CLK sowie der I²C-Kommunikationsschnittstelle (SDA, SCL)

Der Systemtakt des ASIC ist neben der Synchronisierung ein kritischer Parameter für die Genauigkeit einzelner Komponenten der Signalverarbeitung. Dieser hat direkten Einfluss unter anderem auf den Feedbackwiderstand, die Bandpass-Grenzfrequenzen sowie die Abtastfrequenz.

Die I²C-Schnittstelle (SDA, SCL) ermöglicht es zusätzlich, mehrere Detektoren, wie in Abb. 5 angedeutet, parallel an einem Bus anzusteuern, sofern Bustakt und -kapazität aufeinander abgestimmt sind.

Messergebnisse digitaler Detektor

Pyroelektrische Detektoren lassen sich hinsichtlich mehrerer Parameter charakterisieren. Im Rahmen dieses Beitrags werden folgende Größen evaluiert:

- Rauschdichte U_n,
- Empfindlichkeit R_v,
- Spezifische Detektivtät D* bzw. Signal-Rausch-Abstand (SNR).

Häufig werden die genannten Werte für eine bessere Vergleichbarkeit bei einer Modulationsfrequenz

von 10 Hz ermittelt. Die Strahlungsquelle ist typischerweise ein schwarzer Strahler mit einer Temperatur von 500 K sowie einem mechanischen Chopper ohne zusätzliche optische Filter. Für eine erste Evaluierung sind mehrere Prototypen des digitalen Detektors mit vier Messkanälen wie in Abb. 6 aufgebaut worden. Das analoge Pendant ist der LRM-244 von InfraTec in Abb. 7 [7]. Dieser hat die gleiche Außengeometrie und Montage der Sensorelemente wie der digitale Prototyp.

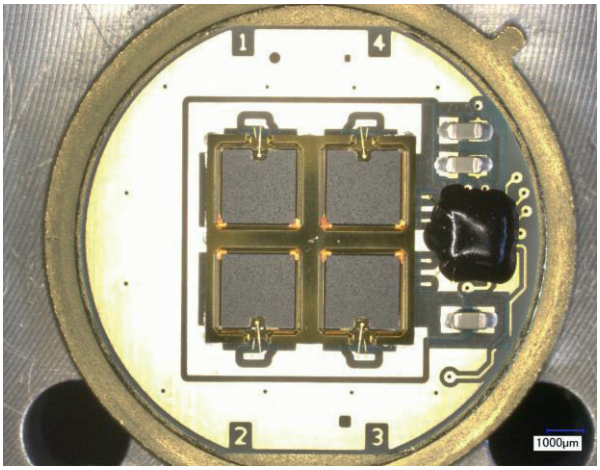


Abb. 6: Prototyp des digitalen Detektors mit 4 jeweils kompensierten Sensorelementen im TO8-Gehäuse



Abb. 7: Pyroelektrischer analoger Detektor (LRM-244) mit vier Messkanälen im TO8-Gehäuse

Bei den folgenden Messungen beträgt die Abtastfrequenz 1 kHz, die Nachverstärkung ist 0 dB und der weitestmögliche Frequenzbereich von 0,5 … 100 Hz wird ausgenutzt. Die ausgelesenen digitalen Messwerte werden mit dem Konvertierungsfaktor nach Gl. (3) in die korrespondierende Spannung überführt, um einen direkten Vergleich mit dem analogen Detektor zu ermöglichen.

Zunächst ist in Abb. 8 die Rauschdichte des digitalen Detektors dargestellt. Die Messwerte werden dabei mit dem Welch-Algorithmus verarbeitet, bei dem mehrere DFT-Spektren mit einer definierten Überlappung gemittelt werden [8]. Die Vorteile sind, dass der Datenverlust im spektralen Randbereich durch die digitale Fensterung reduziert und die Messunsicherheit minimiert werden.

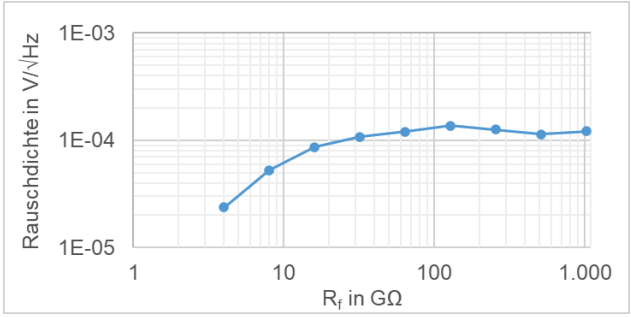


Abb. 8: Rauschdichte des digitalen Detektors in Abhängigkeit des eingestellten Feedbackwiderstands R_f für C_f = 200 fF bei 10 Hz

Das thermische Rauschen der geschalteten Kapazität ist für Frequenzen f << f_{sw} ein weißes Rauschen und entspricht der Rauschdichte des äquivalenten Widerstandswerts [9]:

$$U_n = \sqrt{4 \cdot k \cdot T \cdot R_{sw}} = \sqrt{\frac{4 \cdot k \cdot T}{f_{sw} \cdot C_{sw}}}. \qquad \textbf{(5)}$$

Schaltungsbedingt wird dieses Grundrauschen von weiteren Rauschquellen überlagert und verstärkt. Das Verhalten der Rauschdichte lässt sich näherungsweise in zwei Bereiche einteilen. Für Werte von R_f < 100 GΩ wächst das Rauschen bedingt durch den steigenden Widerstandswert.

Der zweite Bereich für R_f > 100 GΩ weist eine konstante Rauschdichte auf. Der Grund dafür ist, dass die Messwerte bei 10 Hz bereits oberhalb der elektrischen Grenzfrequenz des Transimpedanzverstärkers liegen. Die Grenzfrequenz berechnet sich zu:

$$f_{c\,el} = \frac{1}{2 \cdot \pi \cdot R_f \cdot C_f}, \qquad \textbf{(6)}$$

und beträgt für R_f = R_{sw} = 128 GΩ und C_f = 200 fF circa 6,2 Hz. Ab dieser Frequenz ist die Rauschdichte nahezu unabhängig von R_f und wird von C_f dominiert.

Der zweite wichtige Parameter von pyroelektrischen Detektoren ist die Empfindlichkeit. Abb. 9 zeigt die Abhängigkeit der Empfindlichkeit des digitalen Detektors vom Feedbackwiderstand R_f. Aufgrund der sinkenden Grenzfrequenz steigt das Ausgangssignal für R_f > 100 GΩ nicht mehr signifikant, da C_f dominiert.

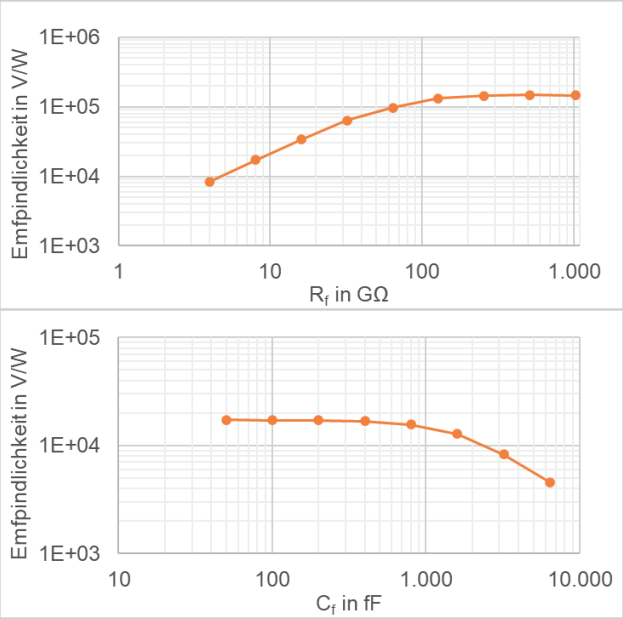


Abb. 9: Messung der Empfindlichkeit R_v des digitalen Detektors in Abhängigkeit des Feedbackwiderstand R_f (oben) für C_f = 200 fF und -kapazität C_f (unten) für R_f = 8 GΩ mit einem Labormessaufbau (schwarzer Strahler mit 500 K und 10 Hz Modulation)

Ein ähnliches Verhalten zeigt sich bei der Erhöhung der Feedbackkapazität C_f mit einem konstanten R_f = 8 GΩ. Für C_f = 1 pF beträgt dann $f_{c\,el}$ = 20 Hz, wodurch der Verstärkungsfaktor des Transimpedanzverstärkers zunehmend gedämpft wird und die Empfindlichkeit sinkt.

Mithilfe der Empfindlichkeit R_v und der Rauschdichte U_n kann die spezifische Detektivität D* frequenzabhängig berechnet werden mit:

$$D^* = \frac{R_v}{U_n} \cdot \sqrt{A}\,, \qquad (7)$$

wobei A die Fläche des pyroelektrischen Sensorelements ist und 4 mm² beträgt. Für optimierte Feedback-Parameter von R_f = 128 GΩ und C_f = 50 fF lässt sich ein $D^* \approx 3 \cdot 10^8$ cm$\sqrt{\text{Hz}}$/W erreichen. Im Idealfall ist die elektrische Verstärkung so eingestellt, dass die auftreffende optische Strahlungsleistung den gesamten ADC-Eingangsbereich aussteuert.

Der ASIC bietet zusätzlich die Möglichkeit die Bandbreite mittels Hoch- und Tiefpass, wie in Abb. 10 dargestellt, zu begrenzen, um die effektive Rauschleistung zu reduzieren. Das führt zu einem glatteren Signalverlauf im Zeitbereich, da das Gesamtrauschen gefiltert wird.

Frequenzanteile von 100 Hz werden beispielsweise durch den schmaleren Bandpass um circa 20 dB gedämpft. Jedoch bleiben die Frequenzanteile der Rauschdichte zwischen den Grenzfrequenzen des Bandpasses wie bei 10 Hz nahezu unverändert.

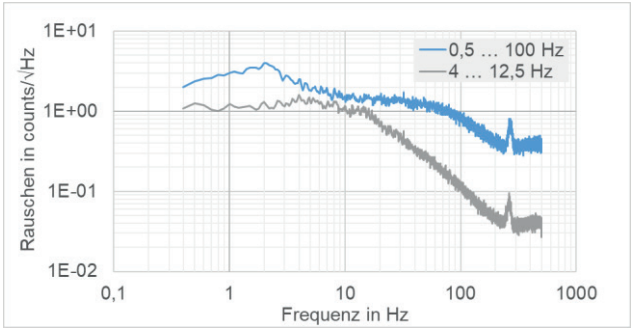


Abb. 10: Messung der frequenzabhängigen Rauschdichte eines digitalen Detektors für den größtmöglichen (0,5 ... 100 Hz) und den kleinstmöglichen (4 ... 12,5 Hz) Bandpassbereich

Die Dämpfung durch den Bandpass wirkt zudem gleichermaßen auf die Rauschdichte und das Signal, womit kein SNR-Gewinn zu erwarten ist. Ein Vorteil wäre, dass unerwünschte Störungen nicht im Rauschspektrum zu sehen sind und die Amplitude im Zeitbereich genauer bestimmt werden kann.

Vergleich der Leistungsfähigkeit analoger und digitaler Detektoren

Der neuartige digitale Detektor wurde erfolgreich in Betrieb genommen und mehrere Prototypen aufgebaut. Die Emulation des ohmschen Höchstohmwiderstands mit einer geschalteten Kapazität ermöglicht die monolithische Integration auf deutlich kleinerer Chipfläche. Durch die nachfolgende Tiefpassfilterung kann man für das Signal- und Rauschverhalten die Näherung aus Gl. (2) für den Feedbackwiderstand R_f annehmen. Das heißt, die geschaltete Kapazität verhält sich für Frequenzen $f < f_{sw}$ bezüglich des Signal- und Rauschverhaltens sehr ähnlich zu einem ohmschen Widerstand. Dieser Abschnitt beleuchtet verschiedene Aspekte zum Vergleich des digitalen Prototyps mit dem analogen Referenzdetektor LRM-244.

Detektorparameter

Im Beispiel aus Abb. 9 reicht die Empfindlichkeit R_v bei 10 Hz von unter 10.000 V/W bis zu Werten von über 100.000 V/W. Je nach eingebautem Feedbackwiderstand von typischerweise 10 … 100 GΩ befindet sich die Empfindlichkeit von analogen Strombetriebsdetektoren in der gleichen Größenordnung. Speziell für den LRM-244 beträgt diese circa 100.000 V/W.

Die Rauschdichte bei 10 Hz des digitalen Prototyps ist für R_f > 100 GΩ in etwa 100 µV/$\sqrt{\text{Hz}}$. Der LRM-244 hat aufgrund des hochoptimierten OPV und einfacheren Systemaufbaus eine geringere Rauschdichte von 40 µV/$\sqrt{\text{Hz}}$ bei 10 Hz.

Das Verhältnis der Rauschdichten spiegelt sich nahezu auch in der abgeleiteten spezifischen Detektivität wider. Der digitale Detektor erzielt circa $D^* \approx 3 \cdot 10^8$ cm$\sqrt{\text{Hz}}$/W bei 10 Hz, wobei der LRM-244

Werte von $D^* \geq 6 \cdot 10^8$ cm$\sqrt{\text{Hz}}$/W erreicht. Damit ist auch das SNR beim analogen Detektor höher.

Detektor- und Systemintegration

Mithilfe des hochintegrierten ASIC ergibt sich weiteres Optimierungspotential für das Detektordesign. In der einfachsten Form kann auf zusätzliche Glättungs- und Abblockkondensatoren verzichtet werden, womit für die interne Signalverarbeitung nur der ASIC mit einer Fläche von < 2 mm² statt mehreren diskreten Bauelementen benötigt wird.

Ein entscheidender Vorteil des neuen Detektors ist die universelle Konfigurierbarkeit der gesamten Signalkonditionierung. Jeder Messkanal kann individuell per I²C-Befehl eingestellt werden. Häufig befindet sich im optischen Pfad jedes Messkanals ein unterschiedliches Schmalbandfilter mit abweichenden Transmissionskoeffizienten, um ausgewählte Gaskonzentrationen zu detektieren. Folglich treffen verschiedene Strahlungsleistungen auf die jeweiligen Sensorelemente. Die Verstärkerelektronik kann nun darauf einzeln abgestimmt werden, um ein höchstmögliches SNR für jeden Kanal zu erzielen. Der Dynamikbereich umfasst je nach Frequenz mehrere Größenordnungen.

Für die weitere externe Signalauswertung ist keine Analogverstärkung mehr notwendig. Zusätzlich entfällt die Analog-Digital-Wandlung, wodurch Platz und Kosten des Gesamtsystems bei insgesamt geringer Leistungsaufnahme reduziert werden können. Zum Betrieb des Detektors wird eine Leistung < 1 mW benötigt, womit auch ein Einsatz in batteriebetriebenen mobilen Geräten denkbar ist. Im Vergleich erreichen spezielle analoge Detektoren ohne externe Signalverarbeitung eine Leistungsaufnahme von < 0,5 mW.

Der digitale Detektor verfügt zudem über eine integrierte Temperaturmessung. Häufig sind die Konzentrationsmessungen in der Gasanalyse nichtlinear und temperaturabhängig, beginnend beim Detektor. Etwaige systematische Abweichungen können mittels einer Temperaturkalibrierung korrigiert werden.

Durch den hochspezialisierten ASIC ist der digitale Detektor für bestimmte Anwendungen optimiert und verfügt nicht mehr über alle Freiheitsgrade eines analogen Detektors. Das Ausgangssignal analoger Detektoren kann mit einer beliebigen elektrischen Schaltung konditioniert und digitalisiert werden. Damit sind auch Modulationsfrequenzen > 100 Hz mit Abtastraten > 1 kHz sinnvoll auswertbar. Außerdem kann mit einer angepassten Schaltung die Leistungsaufnahme und Rauschdichte für Detektoren im Spannungsbetrieb auf ein absolutes Minimum reduziert werden.

Zusammenfassung

Die wichtigsten Parameter für einen pyroelektrischen Detektor sind in der folgenden Tabelle 3 für den analogen LRM-244 und den digitalen Prototypen gegenübergestellt.

Tabelle 3: Vergleich des analogen und digitalen Detektors anhand ausgewählter Parameter

Parameter bei 10 Hz	LRM-244	Digitaler Prototyp
R_v in kV/W	100	< 10 … > 100
U_n in µV/$\sqrt{\text{Hz}}$	≈ 40	≈ 10 … 100
D^* in cm$\sqrt{\text{Hz}}$/W	$\approx 6 \cdot 10^8$	$\approx 3 \cdot 10^8$

Der digitale Detektor hat durch die höhere Rauschdichte U_n eine geringere Detektivität D^*. Dafür ermöglicht die Digitalisierung mithilfe des integrierten ASIC eine weitere Miniaturisierung des Gesamtsystems. Dazu zählen ein einfacherer und kompakterer internen Detektoraufbau sowie eine Reduzierung des externen Hardware-Aufwands, da keine analoge Signalverarbeitung und Analog-Digital-Wandlung mehr notwendig sind. Damit kann der Detektor für viele Anwendungen in der Gasanalyse und Flammendetektion verwendet werden und ist flexibler als ein vergleichbarer analoger Detektor. Zukünftig wird der digitale Schaltkreis weiter optimiert, um die Rauschdichte zu reduzieren und die Detektivität sowie das SNR weiter zu erhöhen.

Literatur

[1] Budzier, H.; Gerlach, G.: *Thermische Infrarotsensoren: Grundlagen für Anwender*. Wiley-VCH Verlag, 2010, S. 193ff

[2] Allen, Phillip E.; Holberg, Douglas R.: *CMOS analog circuit design*. In: Oxford University Press, 2002, S.513 ff

[3] Gregorian R.; Kenneth M.; Temes G.: *Switched-Capacitor Circuit Design*. In: Proc. IEEE (Proceedings of the IEEE), 1983, S. 941-966

[4] Clifford M.: *Fundamental Principles Behind the Sigma-Delta ADC Topology: Part 1*. In: https://www.analog.com/en/technical-articles/behind-the-sigma-delta-adc-topology.html, 2016

[5] Lysaght, T.; Timoney, J.; Brown, S.: *An Evaluation of the Goertzel Algorithm for Low-Power, Embedded Systems.* In: 25th IET Irish Signals & 26-27 June 2014, 2014, S. 357-361

[6] Meyer, M.: *Signalverarbeitung: Analoge und digitale Signale, Systeme und Filter*. 8. Auflage, Springer Vieweg, 2017, S. 166ff

[7] Datenblatt LRM-244: https://www.infratec.de/downloads/en/sensor-division/detector_data_sheet/infratec-datasheet-lrm-244-_.pdf

[8] Welch, P.; *The use of fast Fourier transform for the estimation of power spectra: A method based on time averaging over short, modified periodograms*. In: IEEE Transactions on Audio and Electroacoustics, 1967, S. 70-73

[9] Fischer, J. H.: *Noise Sources and Calculation Techniques for Switched Capacitor Filters*. In: IEEE J. Solid-State Circuits (IEEE Journal of Solid-State Circuits) (1982), Nr. 4, S. 742-752

DOI 10.5162/15dss2021/P9.5

Compact, ultra-fast polarity switching ion mobility spectrometer with gas chromatographic pre-separation

Merle Sehlmeyer[1], André Ahrens[1], Alexander Bohnhorst[1], Moritz Hitzemann[1], Holger Brües[2], Andreas Walte[2], Veronika Ruzsanyi[3], Stefan Zimmermann[1]

[1]Institute of Electrical Engineering and Measurement Technology, Leibniz University Hannover, Appelstr. 9A, 30167 Hannover, Germany
[2]Airsense Analytics GmbH, Hagenower Straße 73, 19061 Schwerin, Germany
[3]Institute for Breath Research, Tyrolean Cancer Research Institute, University of Innsbruck, Innrain 66, A-6020 Innsbruck, Austria
Contact: sehlmeyer@geml.uni-hannover.de

Introduction

Ion mobility spectrometers (IMS) are highly sensitive measurement devices that allow detection of trace gases in air in the low ppt_v range in less than one second. A gaseous sample is characterized by ionization and subsequent drift of the formed ions in an electric field at atmospheric pressure. In this way, different ion species can be separated based on their specific ion mobility in a neutral gas. [1,2]

In real applications, gas mixtures often consist of a large number of different substances, which can lead to chemical interferences during the ionization process. Thus, identification of individual substances in a gas mixture with IMS can be difficult. However, chemical interferences can be minimized by pre-separation, e.g. by gas chromatography (GC). Such pre-separation significantly reduces chemical interferences and thus target compound discrimination during ionization and adds another dimension of separation – the retention time. [1]

Ion mobility spectrometry is an established analytical technique. Especially the combination with pre-separation by GC can be found in different applications, for example in food industry [3] and breath analysis [4].

The aim of this work is to combine a small, ultra-fast polarity switching IMS with gas chromatographic pre-separation in a compact setup including a GC convection oven to analyze complex gas mixtures within two minutes.

Experimental

Ultra-fast polarity switching ion mobility spectrometer

A drift tube IMS has three main components – an ionization region, a drift region and a detector. There are different physical and chemical options to ionize a gaseous sample as described in [2] and [5]. Here, X-rays are used for ionization. Subsequently, the ions are injected into the drift tube by an electrical pulse. Driven by an electric field E, the ions drift through the drift tube towards the detector. During their drift, the ions collide with molecules of the neutral gas and lose kinetic energy. The combination of acceleration by the electrical field and deceleration by collisions leads to a specific average drift velocity v of each ion species. [2,5,6]

The ion mobility K can be described as a function of the charge number of the ion species z, the particle density of the neutral gas N, the Boltzman constant k_B, the absolute temperature T, the ion mass m, the mass of neutral gas molecules M and the collision cross-section between the ions and the neutral gas molecules Ω as described in [2] and [7]:

$$K = \frac{v}{E} = \frac{3}{16}\frac{z}{N}\sqrt{\frac{2\pi}{k_b T}\left[\frac{1}{m}+\frac{1}{M}\right]}\frac{1}{\Omega}$$

Due to their specific ion mobility, the ions reach the detector, often a Faraday plate, separated in time. When the ions reach the detector, an ion current can be measured. Plotted over time, the ion current generates the ion mobility spectrum. [2]

Usually, drift tube IMS analyze ions of one polarity, where the polarity is determined by the orientation of the electric field. Since ionization of gas mixtures usually generates positively and negatively charged target ions, [8] describes an ultra-fast polarity switching IMS. It allows switching polarity of all required voltages, including the drift voltage of 2700 V, and thus the direction of the electric fields in just 25 ms.

If the drift voltage U_{drift} from the injection grid to the detector is positive, positively charged ions can be detected. Accordingly, if this voltage is negative, negatively charged ions reach the detector which leads to a negative ion current in the ion mobility spectrum. Requiring just 25 ms for polarity switching, two gas chromatograms in both ion polarities can be recorded during one single GC run, which cuts the total measuring time in half. Fig. 1 illustrates polarity switching with an exemplary ion mobility spectrum of negatively charged ions (Fig. 1 – blue dots) and positively charged ions (Fig. 1 – red dots), where dot size represents the effect of collision cross section.

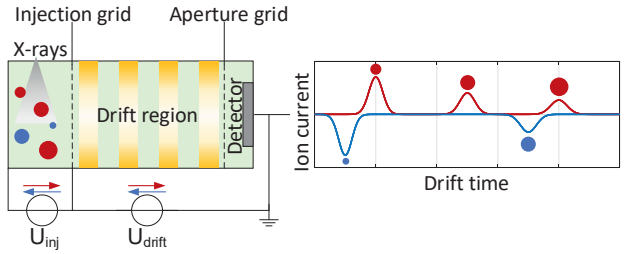


Fig. 1: Schematic of an ultra-fast polarity switching IMS with an exemplary dual ion mobility spectrum. Positively charged ions (red) lead to a positive ion current and negatively charged ions (blue) lead to a negative ion current.

Fig. 2 shows a photo of the IMS with its X-ray source on top. The IMS is based on printed circuit boards. This makes it a cost-effective system compared to classical IMS mainly made of ceramics or polyether ether ketone (PEEK) and metal drift rings. Outer dimensions of the miniaturized IMS drift tube are 25 mm x 25 mm in cross-section and a total length of 65 mm. With a drift voltage of 2700 V over the 50 mm long drift region (electrical field E = 54 V/mm), the resolving power is R_P = 60.

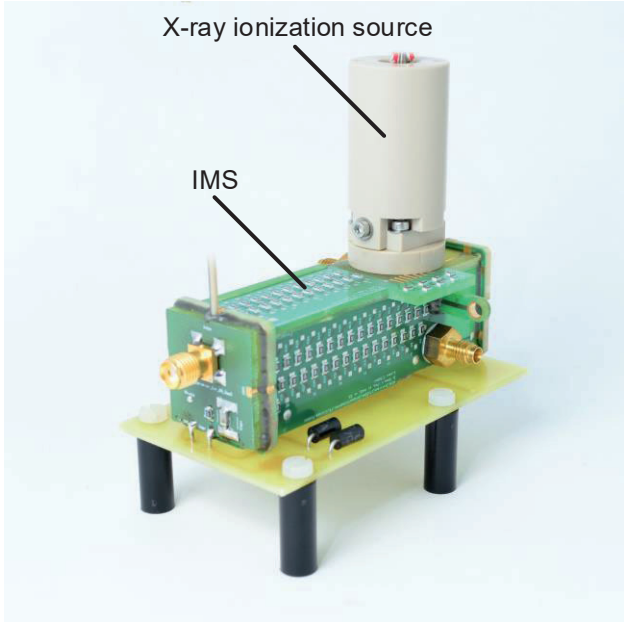


Fig. 2: Ultra-fast polarity switching IMS with X-ray ionization source.

GC convection oven

In case of gas mixtures consisting of a large number of substances, an analysis by IMS is difficult. Reasons are chemical interferences during the ionization process and spectral overlap of peaks. To minimize these effects pre-separation, e.g. by GC, is useful.

In GC, the gaseous sample flows through a capillary coated with a liquid stationary phase driven by a carrier gas (mobile phase). The individual sample components interact to different extents with the stationary phase, so that the individual substances of the sample leave the GC separated by retention time and thus reach the IMS one after the other. [1,9]

In this work, a small GC convection oven is built. Inside two parallel columns (MXT-5) with inner diameter of 500 µm and a length of 300 cm are placed. For high efficiency of pre-separation, it is essential that all columns have exactly the same length. Otherwise differences in retention times of the same compound due to different column lengths can lead to peak broadening and thus limited GC resolving power.

In this oven, exchange of the GC columns is simple. Thus, GC parameters e.g. column type, length, inner diameter and number of columns can be adapted easily. Using special ferrules made of Polytetrafluorethylene (PTFE), it is possible to mount up to seven parallel GC columns in the oven, as shown in Fig. 3 and Fig. 4.

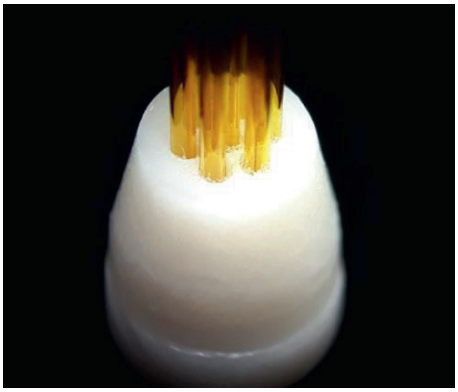


Fig. 3: 1/16" PTFE-ferrule for bundling seven GC columns (Rtx-Volatiles, 250 µm ID) [1].

The convection oven has an inner housing (10 cm x 10 cm x 3 cm) and an outer housing (12 cm x 12 cm x 5 cm) as depicted in Fig. 4. In the middle of the oven a small fan is placed to circulate the air inside the oven. A second bigger fan on the top cover cools down the oven after a GC run (see Fig. 5). Between the bottom and top layers two heaters made of high temperature resistant printed circuit boards (PCB) are placed. Electrically connected in parallel the heaters resistance is 1.65 Ω. Applying a voltage of 24 V, an electric heating power of up to 350 W is available.



Fig. 4: GC convection oven with seven parallel columns.

The oven is controlled by a temperature controller (PXU10030, red lion controls). By programming the controller, a temperature ramp can be driven. This enables fast GC runs. Increasing the temperature during a GC run causes the less volatile components to lower retention times. Thereupon, the range of retention times is smaller and the hole sample passes the GC faster, what minimizes the analysis time.

The maximum temperature ramp is 20 K/min. Thus, a GC run with a linear ramp from 40 °C to 70 °C lasts only 90 s.

GC-IMS

Fig. 5 shows the measuring setup with the electric, temperature controllers, IMS, GC oven and a six-port valve.



Fig. 5: Photo of a compact, ultra-fast polarity switching IMS with GC pre-separation and X-rays ionization source.

Fig. 6 depicts the gas flows inside the GC-IMS. Carrier gas and drift gas (Fig. 6 – blue lines) are synthetic air (Westfalen, 20.5 Vol.-% Oxygen, 79.5 Vol.-% Nitrogen, ≤ 5.0 ppm_v humidity). GC carrier gas continuously flushes the six-port valve and GC columns, while a sample (Fig. 6 – green line) streams continuously through the sample loop. If a GC measurement starts, six-port valve switches and the sample volume of 250 µl is injected into the GC by carrier gas (Fig. 6 – orange line).

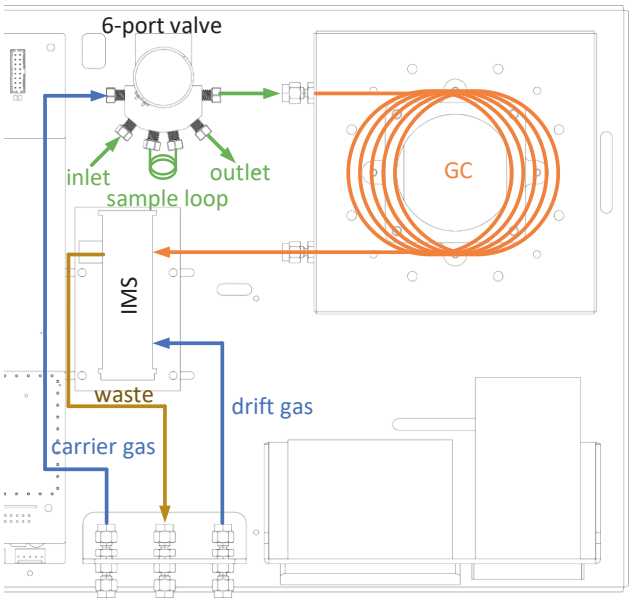


Fig. 6: Schematic of the gas flows inside the GC-IMS.

The GC separates the components of the sample based on their retention times. The pre-separated components reach the IMS separated in time and are ionized by X-rays. Afterwards, the components are separated again in an electric field based on their ion mobility and can be measured as ion current at the detector. Plotting this current in a so-called heat map allows an analysis of the sample based on retention time, drift time and amplitude of the ion current, which represents the concentration of the different ion species. The operating parameters of the GC-IMS are listed in Tab.1.

Tab. 1: Operating parameters of the GC-IMS.

	Parameter	Value
IMS	Drift length	50 mm
	Drift voltage	2700 V
	Injection voltage	350 V
	Resolving power	60
	Temperature	25 °C
X-rays	Filament current	650 µA
	Acceleration voltage	-3700 V
Flows	Drift gas flow	150 ml_s/min*
	Sample gas flow	10 ml_s/min
	GC carrier gas flow	15 ml_s/min
	Sample loop volume	250 µl
GC oven	Max. temperature	90 °C
	Max. temperature ramp	20 K/min
	Length GC columns	300 cm
	ID GC columns	500 µm
	Film thickness	5 µm

*ml_s/min (milliliter standard per minute, mass flow at reference conditions 20 °C and 1013 mbar)

Results and Discussion

To test the system, a mixture of 200 ppb_v Ethanol, 200 ppb_v 1-Propanol, 200 ppb_v 1-Butanol and 3 ppb_v Potassium cyanide is investigated. Potassium cyanide reacts with humidity to Hydrogen cyanide before injection into the GC. The sample is mixed in a bag made of Polyethylene terephthalate (PET). Thus, it can be contaminated with carbon dioxide and humidity from the environment. Starting at 40 °C the temperature in the GC oven rises with 20 K/min up to 70 °C. Thus, the alcohols and Hydrogen cyanide are separated well according to their retention times and enter the IMS one after the other. Ionization by X-rays forms positively charged ions of the alcohols and negatively charged ions of Hydrogen cyanide.

The system provides three parameters – retention time, drift time and amplitude of the ion current. Plotted as a heat map, see Fig. 7, the drift time is on the ordinate, the retention time on the abscissa and the amplitude in color range from -400 pA (Fig. 7 – blue) to +400 pA (Fig. 7 – red).

In positive IMS polarity, humidity elutes first, followed by Ethanol, 1-Propanol and 1-Butanol. In the IMS, the humidity reacts with Nitrogen to form Ammonia, that can be seen in the following heat map [10]. In negative IMS polarity, Carbon dioxide can be observed first, followed by Hydrogen cyanide.

While the GC already separates the test mixture, the IMS gives additional information, such as drift time and formation of dimers and trimers that underpin substance identification. The formation of alcohol monomers, dimers and trimers can be seen in the heat map below. Furthermore, co-eluting compounds seen in the same IMS polarity can be separated by IMS drift time but quantitative analysis is difficult due to chemical interferences during the ionization process.

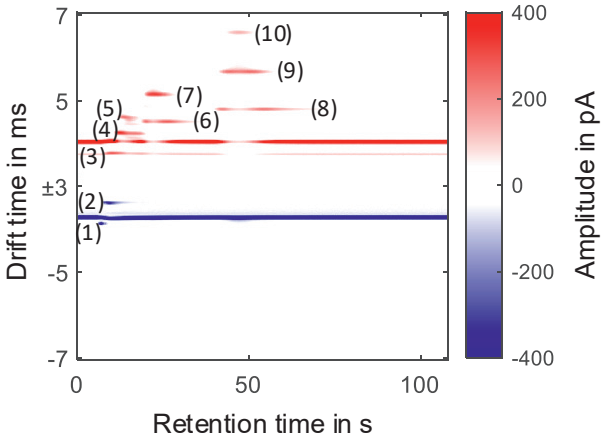


Fig. 7: GC-IMS heat map of positively and negatively charged ions of a sample mixture of (1) Carbon dioxide, (2) Hydrogen cyanide, (3) Ammonia, (4) Ethanol monomer, (5) Ethanol dimer, (6) 1-Propanol monomer, (7) 1-Propanol dimer, (8) 1-Butanol monomer, (9) 1-Butanol dimer, (10) 1-Butanol trimer.

Conclusion

This work presents a small GC convection oven with two parallel columns (MXT-5, 500 µm ID, 300 cm in length) for efficient and fast pre-separation of a sample consisting of Ethanol, 1-Propanol, 1-Butanol and Potassium cyanide. The mixture is pre-separated by the GC with a temperature ramp of 20 K/min from 40 °C up to 70 °C within 90 s. Coupling of GC with an ultra-fast polarity switching IMS with resolving power of $R_P = 60$ allows an additional dimension of separation of both positively and negatively charged ions by drift time and thus an analysis of the eluate in both polarities. Plotting of the orthogonal information of GC and IMS in a so-called heat map shows clear separation of the test mixture containing 200 ppb_v Ethanol, 200 ppb_v 1-Propanol, 200 ppb_v 1-Butanol and 3 ppb_v Potassium cyanide (converting to Hydrogen cyanide with humidity).

References

[1] A. Ahrens, S. Zimmermann, Towards a hand-held, fast, and sensitive gas chromatograph-ion mobility spectrometer for detecting volatile compounds, Analytical and bioanalytical chemistry 413 (2021) 1009–1016.

[2] G.A. Eiceman, Ion mobility spectrometry, CRC Press, Boca Raton, 1993.

[3] S. Wang, H. Chen, B. Sun, Recent progress in food flavor analysis using gas chromatography-ion mobility spectrometry (GC-IMS), Food chemistry 315 (2020) 126158.

[4] D.M. Ruszkiewicz, D. Sanders, R. O'Brien, F. Hempel, M.J. Reed, A.C. Riepe, K. Bailie, E.

Brodrick, K. Darnley, R. Ellerkmann, O. Mueller, A. Skarysz, M. Truss, T. Wortelmann, S. Yordanov, C.L.P. Thomas, B. Schaaf, M. Eddleston, Diagnosis of COVID-19 by analysis of breath with gas chromatography-ion mobility spectrometry - a feasibility study, EClinicalMedicine 29 (2020) 100609.

[5] A.T. Kirk, Driftzeit-Ionenmobilitätsspektrometer mit hoher analytischer Leistungsfähigkeit. Dissertation, Hannover, 2020.

[6] A. Ahrens, S. Zimmermann, P2.03 - Bundled column GC-IMS – a miniaturized system for fast and sensitive on-site analytics (2019) 172–175.

[7] H.E. Revercomb, E.A. Mason, Theory of plasma chromatography/gaseous electrophoresis. Review, Anal. Chem. 47 (1975) 970–983.

[8] M. Hitzemann, A.T. Kirk, A. Bohnhorst, M. Lippmann, F. Schlottmann, S. Zimmermann, Improved electronics for a compact ultra-fast switching ion mobility spectrometer, Conf. Int. Society of Ion Mobility Spectrometry – ISIMS '19 (2019) p. 72.

[9] K.D. Bartle, P. Myers, History of gas chromatography, TrAC Trends in Analytical Chemistry 21 (2002) 547–557.

[10] N. Hartmann, S. Peters, M. Thinius, J. Kleffmann, H. Kersten, T. Benter, Production of NH3 in N2-Corona Discharges and 63Ni-Sources: Unequivocal Identification and Quantification, 64th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (2016).

Acknowledgement

Funded by the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF) under grant number 13N15238.

DOI 10.5162/15dss2021/P9.6

Versatile platform for metal oxide semiconductor gas sensors for application specific optimization of temperature cycled operation

Christian Fuchs[1], *Henrik Lensch*[1], *Oliver Brieger*[1], *Tobias Baur*[2], *Andreas Schütze*[1]
[1]*Lab for Measurement Technology, Saarland University, Saarbrücken, Germany*
[2]*3S GmbH, Saarbrücken, Germany*
Contact: c.fuchs@lmt.uni-saarland.de

Introduction

The gas sensor market is constantly evolving, partly due to the still increasing interest in environmental measurements to fulfill the legislative guidelines (e.g., WHO guidelines [1]) to restrict the exposure of people to certain gases, but also in the context of IoT devices for comfort. New sensors are developed in a rapid manner, so that sensors are often replaced by newer versions within short timeframes. Designing electronics to put these rapidly developing sensors into operation is time consuming and an obstacle to fast evaluation of new sensor systems that make full use of the sensors´ capabilities.
Therefore, a hard- and software platform to control metal oxide semiconductor (MOS) gas sensors and optimize their operation for different applications is being presented. The goal was to create a hardware system that meets the compromise between easy installation of various sensors and useful functionalities for sensor signal capturing. Multiple versions of the system allow the evaluation of a variety of analog and digital sensors and to control temperature cycled operation (TCO) to increase selectivity, sensitivity, and stability [2].
The platform is discussed in the three categories electronics, firmware, and graphical user interface (GUI).

Electronics

In the electronics domain, three different systems were developed; two analog versions and a digital version. With all their peripheral components, they form either an “Analog Measurement System” or a “Digital Measurement System”

Analog Measurement System

The task of the Analog Measurement System is to retrieve information from an analog gas sensor, respectively its heater unit and its sensitive layer. Therefore, voltage over and current through the heater as well as the conductance G of the sensitive layer are to be measured.

Fig. 1 shows the block diagram for the analog system. It consists of a “Sensor Board”, a “Log Board” and a measurement board.

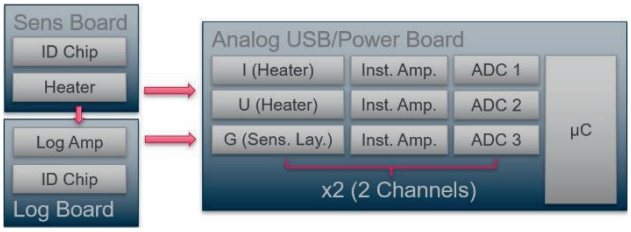


Fig. 1: Block diagram for the Analog Measurement System (represents both analog versions).

Within the system, there are two different measurement boards to be chosen:
The “Analog USB Board” is suitable for microstructured analog gas sensors with low power consumption (e.g., AS-MLV-P2 by Sciosense) and the “Analog Power Board” can be used for ceramic analog gas sensors with high power consumption (e.g., GGS-1530 by Umweltsensortechnik).
The Analog Sensor Board provides the voltage over the heater for the Analog USB/Power Board and the conductance of the sensitive layer for the Log Board. From there, the conductance is processed and forwarded to the measurement board. The three different information types are processed and delivered to the microcontroller. There are two channels of that kind which allow simultaneous operation of up to two analog sensors. From the microcontroller, the data is processed by firmware and GUI.

Analog USB Board

The Analog USB Board allows to define a temperature cycle, i.e. allows for temperature cycled operation (TCO), and controls the temperature of the sensitive layers set by the heater accordingly.
The heater is the key part of the analog measurement process. When connected to a stack of Sensor Board and Log Board, the Analog USB/Power Board is connected to the positive and negative potential of the heater. Therefore, it can access the voltage over the

heater as well as the current through the heater by using a shunt (cf. Fig. 2). Voltage and current are then processed symmetrically via following instrumentation amplifiers.
Furthermore, the symmetric, conductance-related voltage from the Log Board is forwarded to an instrumentation amplifier. After amplification, the data is slightly filtered and carried on to the microcontroller or rather Teensy 4.0 [6] which is also used for the Digital Board. Therefore, the firmware can be written in a general fashion for all systems.

Analog Power Board

Compared to the Analog USB Board, the Analog Power Board only differs within the reference voltage for the DAC and the instrumentation amplifiers and necessary changes to keep the system consistent with the increased voltage and power demand (cf. Fig. 2).

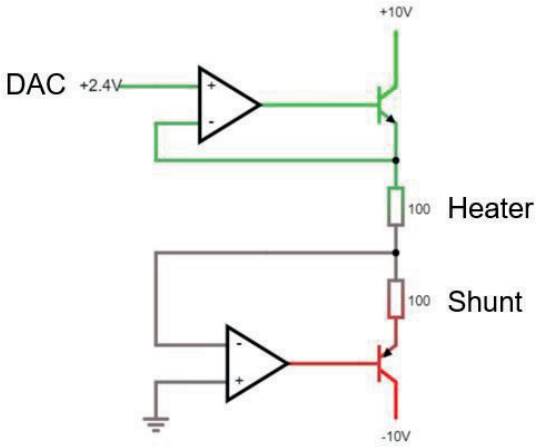


Fig. 2: Conceptional schematic for the heater voltage and current input section (power version).

While that increases the power consumption and necessary robustness of the building parts, it leads to a bigger measurement range and a higher measurement accuracy.

Analog Sensor Board

The Analog Sensor Board is designed to mount the analog sensor that is to be analyzed and it provides analog connections for the Log Board and the Analog USB/Power Board.
The Analog Sensor Board itself can be mounted and connected to the Log Board which can thereby process the output of the sensitive layer. For the measurement board, it provides pins to the positive and negative potential of the heater. Additionally, every Analog Sensor Board contains an ID chip to be identifiable by the hardware and the user.

Log Board

The Log Board performs logarithmic amplification which allows a large dynamic measurement range [7] and creates a symmetric signal for the conductance. Accordingly, the characteristic curve of the sensor is described by

$$U_{log} = 0{,}5\ \mathrm{V} \cdot \log\left(\frac{1\ \mathrm{mA} \cdot R_{sens}}{250\ \mathrm{mV}}\right).$$

The Log Board uses an USB-C port for power supply and provides analog connections to the Analog USB/Power Board. Similar to the Analog Sensor Board, every Log Board carries an ID chip. In this case, the characteristic curve shown above is also saved on the ID chip.

Digital Measurement System

The Digital Measurement System is a very flexible variant of the system because it directly retrieves digital sensor information. The standardization of digital busses (I2C, SPI) makes the incorporation and use of new digital sensors easy and efficient. Furthermore, there is no analog data processing needed which leads to a much simpler hardware system.
The Digital Measurement System does not need a Log Board, but it is also a combination of the “Digital Sensor Board” and the “Digital Board” as shown in Fig. 3:

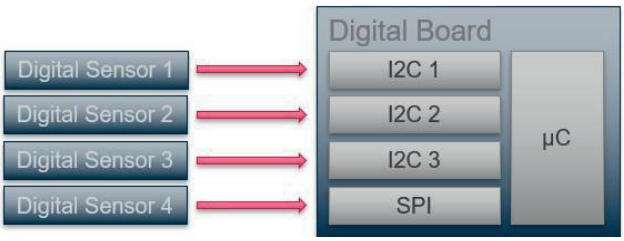


Fig. 3: Block diagram for the Digital Measurement System.

The Sensors send their measurement data directly via digital busses. Three I2C busses as well as an additional SPI bus can be used simultaneously which allows the use of up to four digital sensors. From there, firmware and GUI take over for data processing and management.
For the Digital Measurement System, the number of operable sensors can be increased by serial concatenation of different sensors at each channel whereas the Analog Measurement System is limited to two sensors. Analog and digital in- and outputs for

synchronization with other systems are available for both the Digital- and the Analog Measurement System.

Digital Sensor Boards

In this case, the Digital Sensor Board only needs to forward its digital sensor output to the Digital Board.
The Digital Sensor Board consists of the sensor itself, connectors for supply and I2C/SPI, and an opening hole for the sensor to perceive gases.
As well as the Analog Sensor Boards, it also contains an ID chip.

Digital Board

As the analog versions, the Digital Board allows TCO for digital sensors, if the firmware of the digital sensor supports this feature.
The Digital Board consists of a Teensy 4.0 and the necessary periphery to run sensors via I2C or SPI. The possibilities and constraints here are mostly derived by the firmware because, for this board, the compatibility of a sensor depends mainly on the firmware implementation. The three necessities for a sensor to be compatible with the digital board are:

1) Sends sensor data via I2C (or SPI)
2) Can be run with $\leq$ 3.3V
3) Firmware implementation is possible

The Digital Board, an example for the Analog Board and the Analog Sensor Board plugged onto a Log Board are shown in Fig. 4:

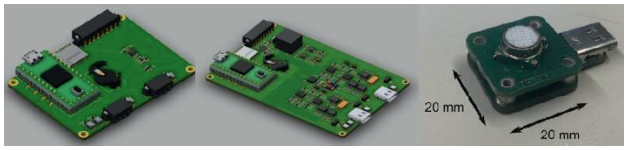


Fig. 4: Left to right: Digital Board, Analog USB Board, Analog Sensor Board on top of a Log Board.

Firmware

The firmware handles the different hardware components and assures that time relevant tasks are executed correctly without delay from any further control software. Since the different hardware versions have different levels of functionality, the firmware differs between board types. Nevertheless, there is only one source that can detect what hardware is used and compile the correct code with a user-supplied tag. This means that there is only one code for all the different hardware systems.
To make a new sensor available to the system, the communication interface needs to be implemented, and the relevant variables have to be made available to the internal registry system of the firmware. After that, these variables are automatically shown in the GUI and, depending on configuration, saved to file without further changes.
This modularity enables easy implementation of further semiconductor gas sensors and other kinds of sensors (accelerometer, pressure sensor, etc.) if the electrical specifications fit to the described hardware. Additional GPIO Pins enable the use of customizable triggers to signal events.
As soon as a sensor is connected (assuming the type of sensors has already been implemented), the firmware automatically detects the sensor type and sets it to a default configuration, predefined in the firmware. Depending on the available commands, it can be run in the mode provided by the manufacturer or in an advanced mode where the user can define sensor characteristics e.g.: hotplate temperature profiles, sample rates, and which of these values should be saved to file, etc.
The sensor configuration can either be done in the GUI or by configuration file, which is added during compilation. This makes it possible to create custom system configurations for easy distribution to clients without extensive knowledge of gas sensors operating modes or the hardware setup. Currently, the data is streamed via USB to the host device (e.g., PC, notebook, Raspberry Pi), for which the GUI is currently mandatory. In a future release the data can also be written to a SD card, but this is not implemented yet. Therefore, it is only possible to stream data via USB to any connected host device.
As mentioned above, the analog version differs from the digital one. As shown in Fig. 4 the analog version has a much larger front end which consists of analog digital converters and a heater controller for each channel. To operate as many sensors as possible with as few different hardware systems as possible, the parameters of these chips must be calibrated for each sensor type. Therefore, characteristic features of the sensor like sensor resistance range, hotplate base resistance and temperature characteristics, logarithmic amplifier gain, etc. need to be known in advance.
For temperature control, a PID feedback controller is implemented. The P, I, and D parameters also need to be known for each sensor type to ensure correct operation because they heavily rely on the sensor and hotplate size, position, and package assembly. Fortunately, all parameters needed for operation of

already implemented sensors are stored on the ID chip of each sensor board and will be read automatically during the connection process. Thus, the system sets itself up for the connected analog sensors automatically. For new sensors, this has to be done once and saved to the ID chip during assembly of the sensor chips.
To ensure the greatest possible flexibility in configuration, it is possible to select the control method of the temperature feedback controller for the heater between resistance, voltage, current or power. It is also possible to change the control method during measurements to test different control methods.

Graphical User Interface – GUI

The control software and graphical user interface “Sensor Control Center” is written in Python and identifies sensors automatically for the user by retrieving ID information from the firmware. Firmware updates can be uploaded through the GUI as well. The GUI can be mainly divided into three sections.

Hardware Settings and Readout Section

The hardware settings and readout section of the GUI lists all sensors connected to a channel of the chosen digital board or analog USB board. All hardware systems can independently be parametrized which is handled by an internal tree structure. Each sensors resistance, heater setpoint, and temperature feedback is registered and live updated as well as the alterable sample rate of the board. Additionally, analog devices also list their alterable PID Controller settings. An example for a list of hardware settings is shown in Fig. 5:



Fig. 5: Hardware Settings and Readout Section: Parameters and states of the connected hardware.

Sequence Section

The sequence section enables the design of temperature cycles for each listed sensor or individual hotplate. The established temperature cycle will also be displayed in a plot area as shown in Fig. 6:



Fig. 6: Sequence section: Design of a temperature cycle as displayed by the GUI.

Measurement Section

The measurement section provides writable fields to safe meta information regarding the measurement like filename, user, E-Mail, project, and a general comment field. In a last step, the measurement length and a memory location can be assigned before the start of the measurement. Running measurements can be monitored with a live updated table and adjustable time intervals of the measurements are saved in the Hierarchical Data Format (HDF5).

Results

With the described sensor patforms, a variety of sensors can be used. Some notable examples of already incorporated sensors are listed here for the different board types:
Analog USB Board:

- Sciosense AS-MLV
- Sciosense AS-MLV-P2
- Sciosense CCS 801
- Figaro TGS 8100

Analog Power Board:

- Umweltsensortechnik GGS all types

Digital Board:

- Sensirion SHT 35
- Sensirion SGP 30/40 (cf. fig. 7)
- Sensirion SCD 41
- Bosch BME 280/680/688 (cf. fig. 7)
- Renesas ZMOD 4410/4450/4510 (cf. fig. 7)

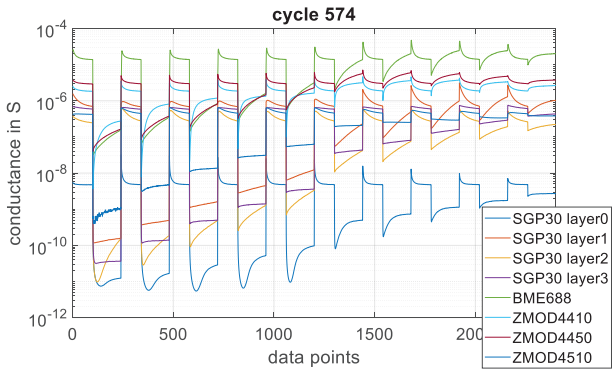


Fig. 7: Conductance of the gas sensitive layers in a temperature cycle with the Sensirion SGP30, Bosch BME688, Renesas ZMOD connected to the same system.

The system was already used to perform publicized measurement campaigns for measuring indoor air quality as a whole and characteristic VOCs selectively with a variety of gas sensors. This is only possible with a modular extendable system which can perform temperature cycled operation reliable [3], [4] and [5].

Additionally, an example of one temperature cycle with different sensors is shown in Fig. 7. The sensors are all sampled with the same sample rate of 20 Hz per sensitive layer. This shows the versatility of the system. The number of connectable sensors is only limited by the data throughput of the three I2C channels, which highly depends on communication overhead and sample rate.

Discussion

The measurements presented above show, that the Analog Measurement System follows high quality standards. The presented hardware enables to use the sensors on their technological limit, allowing the detection of sub-ppb concentrations of various gases in the laboratory and the detection of low ppb concentrations in complex backgrounds [3].

Additionally, the use of digital sensor systems allows an efficient and consistent usage of new sensor types.

By using three hardware versions with their unique firmware and a unified graphical user interface (GUI) with an easy to expand tree structure, a fast incorporation of new gas sensors for testing in new applications is possible. Furthermore, the developed systems enable the use of gas sensors in a broad range of applications and cover the bigger part of the gas sensor market.

Literature

[1] WHO Regional Office for Europe (2000): *WHO air quality guidelines for Europe*, 2nd edition, Copenhagen.

[2] A. Schütze, T. Sauerwald: *Dynamic operation of semiconductor sensors*, in: R. Jaaniso and Ooi Kiang Tan (eds.): *Semiconductor Gas Sensors*, Woodhead Publishing, 2nd Edition, 2020, Pages 385-412

[3] T. Baur, J.F. Amann, C. Schultealbert, A. Schütze: *Field Study of Metal Oxide Semiconductor Gas Sensors in Temperature Cycled Operation for Selective VOC Monitoring in Indoor Air,* in Atmosphere 2021, 12, 647 https://doi.org/10.3390/atmos12050647

[4] T. Baur, M. Bastuck, C. Schultealbert, T. Sauerwald, A. Schütze: *Random gas mixtures for efficient gas sensor calibration* in Journal of Sensors and Sensor Systems 2020, 9, 411-424, https://doi.org/10.5194/jsss-9-411-2020

[5] C. Schultealbert, J.F. Amann, T. Baur, A. Schütze: *Measuring Hydrogen in Indoor Air with a Selective Metal Oxide Semiconductor Sensor* in Atmosphere 2021,12, 366. https://doi.org/10.3390/atmos12030366

[6] PJRC, Teensy 4.0 Development Board, Prod. Page. (2021). https://www.pjrc.com/store/teensy40.html (accessed November 8, 2021).

[7] T. Baur, C. Schultealbert, A. Schütze, T. Sauerwald, *Device for the detection of short trace gas pulses*, Tech. Mess. 85 (2018) 496–503. doi: https://doi.org/10.1515/teme-2017-0137

DOI 10.5162/15dss2021/P10.1

Temperaturverteilung beheizter keramischer Sensorelemente innerhalb eines Gehäuses – Experimentelle Untersuchungen

Thomas Wöhrl, Julia Herrmann, Gunter Hagen, Jaroslaw Kita, Ralf Moos

Lehrstuhl für Funktionsmaterialien, Universität Bayreuth, Bayreuth, Deutschland
Kontakt: funktionsmaterialien@uni-bayreuth.de

Einleitung

Für einen effizienten Betrieb von Abgasnachbehandlungseinrichtungen zur Emissionsminderung bei Verbrennungsprozessen spielen Hochtemperatur-Gassensoren eine wichtige Rolle [1].

Die Detektion des zu erfassenden Abgasbestandteils geschieht meist über eine spezielle Funktionsschicht, die einen Temperaturbereich mit einer optimalen Empfindlichkeit besitzt. Die Einsatztemperatur wird dabei durch die Verwendung von Heizleiterstrukturen erreicht, die in vielen Anwendungsfällen im Dickschicht-Verfahren hergestellt und in das Sensorbauteil integriert werden [2].

Die meist notwendige örtliche Trennung der Funktionsschicht von der Heizleiterstruktur kann zu ungewünschten Temperaturdifferenzen und -inhomogenitäten im Bereich der Funktionsschicht führen. Durch die Verwendung von speziell für den Anwendungsfall entwickelte Schutzkappen wird ebenfalls versucht, die Einflüsse der Umgebung auf das Temperaturprofil des Sensors möglichst gering zu halten.

Der vorliegende Beitrag befasst sich daher mit dem Aufbau und den Messergebnissen zur In-situ-Bestimmung der Temperaturverteilung eines Gassensors innerhalb einer Schutzkappe.

Messprinzipien und Aufbau

Die Grundlage für die Sensoren bildet ein Aluminiumoxid-Substrat, auf dessen Rückseite eine mäanderförmige Heizleiterstruktur aus Platin im Siebdruck-Verfahren aufgebracht wird, die den Sensor während der Messungen auf ca. 600 °C erhitzt [3].

Infolge der hohen Anforderungen an das Messsystem, wie z.B. die Notwendigkeit einer orts- und zeitaufgelösten Messung in unterschiedlichen Einbaulagen, stehen im Folgenden zwei Methoden zur Bestimmung des Temperaturprofils auf der Vorderseite des Sensors zur Verfügung.

Die Verwendung einer Wärmebildkamera stellt die erste Variante zur Beurteilung der Temperaturverteilung dar. Für Messungen unter realen Bedingungen wird eine Schutzkappe mit einer Aussparung für ein Infrarot-durchlässiges Fenster benötigt. Das Glas besitzt dazu einen hohen Transmissionsgrad der elektromagnetischen Strahlung im Arbeitsbereich der verwendeten Wärmebildkamera und eine entsprechende Temperaturbeständigkeit [4].

Dadurch ist es möglich, das Temperaturprofil des Sensors auch innerhalb einer Schutzkappe mit einer Infrarotkamera zu ermitteln. Diese Messmethodik eignet sich natürlich nur bei Aufbauten, bei denen ein optische Verbindung zwischen dem Sensor und der Wärmebildkamera möglich ist.

Dementsprechend wird eine weitere Alternative benötigt, bei der auch Temperaturmessungen innerhalb eines abgeschlossenen Raumes durchgeführt werden können. Dazu werden Sensoren mit einem Array aus siebgedruckten Thermoelementen auf der Vorderseite hergestellt [5]. Eine Herausforderung stellt dabei die geringe Sensorbreite dar, die die maximale Anzahl an Messpunkten pro Sensor begrenzt. Aus diesem Grund entstanden mehrere Sensoren mit unterschiedlichen Thermoelement-Anordnungen, die einen möglichst großen Bereich der Funktionsschicht abdecken.

Aufgrund der hohen Empfindlichkeit und der notwendigen Kontaktierung mit Ausgleichsleitungen setzen sich die Thermoelemente aus einer Kombination von Gold- und Platin-Leiterbahnen zusammen [6]. Ein Sensor mit einer entsprechenden Thermoelementanordnung innerhalb der Schutzkappe mit dem vorher erwähnten Infrarot-durchlässigen Fenster ist exemplarisch in Abb.1 a) dargestellt.

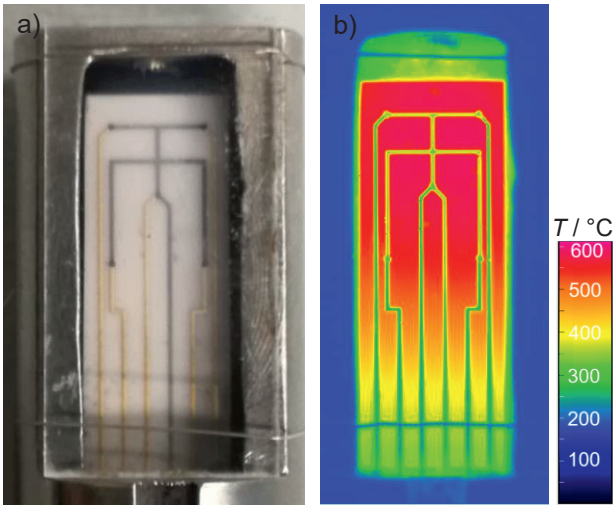


Abb. 1: a) Im Siebdruckverfahren hergestellter keramischer Sensor mit einer Thermoelementstruktur innerhalb einer Schutzkappe mit einem Infrarot-durchlässigen Fenster. b) Wärmebildaufnahme bei einer Sensortemperatur von ca. 600 °C

Messergebnisse und Diskussion

Beim direkten Vergleich der Messungen mit der Wärmebildkamera und den Thermoelementsensoren ohne Verwendung einer Schutzkappe kann eine gute Übereinstimmung der beiden Messsysteme festgestellt werden. Für die Messungen mit der Infrarotkamera wurde anstelle des Sensors aus Abb. 1a) ein vorderseitig unbedrucktes Substrat verwendet, um die Einflüsse des unbekannten Emissionsgrades der Zuleitungen zu umgehen.

Im nächsten Schritt wird die Schutzkappe mit der Aussparung für das Infrarot-durchlässige Fenster verwendet und der Transmissionsgrad in den Einstellungen der Infratotkamera entsprechend angepasst. Ein Beispiel einer Wärmebildaufnahme unter Verwendung der Schutzkappe ist in Abb. 1b) zu sehen. Auch bei diesen Messungen liefern beide Methoden eine gute Vergleichbarkeit. Die durchschnittliche Abweichung der beiden Messmethoden liegt unterhalb von 5 °C.

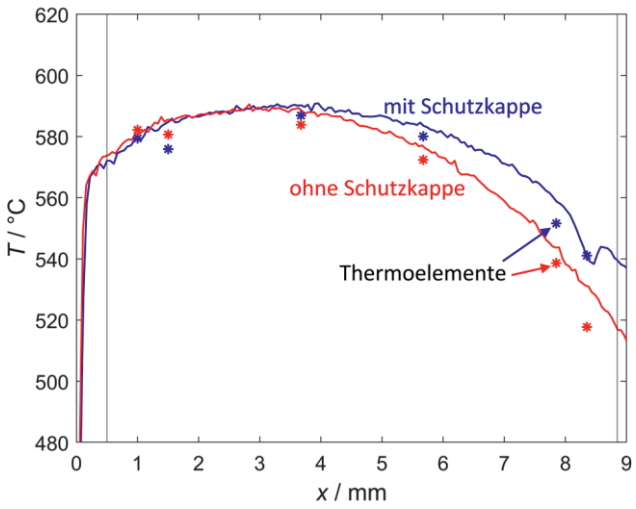


Abb. 2: Vergleich der Temperaturverläufe entlang des Sensors mit und ohne Verwendung einer Schutzkappe, jeweils gemessen mit einer Infrarotkamera und den siebgedruckten Thermoelementen

Durch die Verwendung der Schutzkappe kann eine erhebliche Temperaturerhöhung in Richtung der Einspannung des Sensors im Vergleich zu den Messungen ohne Schutzkappe festgestellt werden (siehe Abb. 2). Für den Bereich der Funktionsschicht liegt der maximale Temperaturunterschied der beiden Messungen bei ca. 20 °C. Die Schutzkappe sorgt folglich für eine Veränderung der Wärmeübertragungsmechanismen, was in diesem Fall zu einem homogeneren Temperaturprofil entlang des Sensors führt [7].

Weitere Untersuchungen haben ergeben, dass auch die Orientierung und Anströmung des Sensors im Gehäuse eine Veränderung der Temperaturhomogenität im Bereich der beheizten Zone zur Folge hat.

Ausblick

Nach erfolgreicher Evaluation der beiden Messmethoden bieten sich weitere Anwendungsgebiete, zur näheren Untersuchung an, um die Einflüsse auf das Signal keramischer Hochtemperatursensoren, z.B. durch veränderliche Umgebungs- und Gehäusetemperaturen, beurteilen zu können.

Dementsprechend eignet sich die vorgestellte Messmethodik auch zur Entwicklung von optimierten Layouts für Heizleiterstrukturen, die ein homogeneres Temperaturprofil erzielen sollen.

Weiterhin können die gewonnenen Erkenntnisse dazu dienen, neuartige Schutzkappen zu entwerfen, die die Strömungsverhältnisse im Inneren verbessern und der Sensor dadurch ein umgebungsunabhängigeres Signal liefert.

Literatur

[1] RICHTER D.; FRITZE H.: *High Temperature Gas Sensors*. In: KOHL, C.D.; WAGNER, T. (Hrsg.): Gas Sensing Fundamentals, Springer-Verlag, 2014, S.1-3, doi: 10.1007/978-3-642-54519-1

[2] HAGEN G.; HARSCH A.; MOOS R.: *A pathway to eliminate the gas flow dependency of a hydrocarbon sensor for automotive exhaust applications*, In: Journal of Sensors and Sensor Systems, 7 (2018), S.79-84, doi: 10.5194/jsss-7-79-2018

[3] WIEGÄRNTER S.; HAGEN G.; KITA.; REITMEIER W.; HIEN M.; GRASS P.; MOOS R.: *Thermoelectric hydrocarbon sensor in thick-film technologyfor on-board-diagnostics of a diesel oxidation catalyst*, In: Sensors and Actuators B: Chemical, 214 (2015), S. 234-240, doi: 10.1016/j.snb.2015.02.083

[4] GÜNZLER H.; GREMLICH H.U.: IR-Spektroskopie, Wiley-VCH Verlag, 2003, S.92-94, doi: 10.1002/9783527662852

[5] KITA J.; WIEGÄRTNER S.; MOOS R.; WEIGAND P.; PLISCOTT A.; LABRANCHE M.H.; GLICKSMAN H.D.: *Screen-printable type S thermocouple for thick-film technology*, In: Procedia Engineering, 120 (2015), S.828-831, doi: 10.1016/j.proeng.2015.08.692

[6] BERNHARD F.: Handbuch der Technischen Temperaturmessung, Springer-Verlag, 2014. S. 896 – 1040, doi: 10.1007/978-3-642-24506-0

[7] MAREK R.; NITSCHE K.: Praxis der Wärmeübertragung, Hanser-Verlag, 2019. S.19-22, ISBN: 978-3-446-44499-7

DOI 10.5162/15dss2021/P10.2

P10.2
Bestimmung der Verdampfungsgeschwindigkeit von Ag und Ag-Cu in der Schwerelosigkeit

M. Schulz, H. Fritze, Technische Universität Clausthal, Clausthal/D

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/P10.3

P10.3
Oberflächenwellensensoren für Hochtemperaturanwendungen basierend auf neuartigen Materialsystemen

B. Leszczynska, M. Seifert, N. Hampel, R. Weser, H. Schmidt, T. Gemming, A. Winkler, S. Menzel, Leibnitz-Institut für Festkörper- und Werkstoffforschung Dresden, Dresden/D

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/P10.4

P10.4
Untersuchung der Langzeitstabilität von LiNb1-xTaxO3-Mischkristallen für Sensoranwendungen bei hohen Temperaturen

S. Hurskyy, Y. Suhak, H. Fritze, Technische Universität Clausthal, Clausthal/D;
S. Ganschow, Leibniz Institut für Kristallzüchtung, Berlin/D

Manuskript lag nicht vor

DOI 10.5162/15dss2021/P13.1

Modular design of a gas mixing apparatus for complex trace gas mixtures

Dennis Arendes[1], Tobias Baur[2], Henrik Lensch[1], Johannes Amann[1], Andreas Schütze[1]
[1]Lab for Measurement Technology, Saarland University, Saarbrücken, Germany
[2]3S GmbH, Saarbrücken, Germany
Contact: d.arendes@lmt.uni-saarland.de

Introduction

Volatile organic compounds (VOCs) found in our environment can lead to reduced cognitive functions or serious health problems at elevated concentrations [1]. Their sources are manifold and range from the human metabolism to human activities such as cooking, heating, and cleaning, to emissions from furnishings, hygiene articles and building materials [2]. With the gold standard gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) being too expensive for consumer applications and not real-time capable, cost effective real-time measurement of these substances is possible by using metal oxide semiconductor (MOS) gas sensors combined with dynamic operation [3]. However, to make full use of the increased selectivity, the MOS sensor systems must be calibrated with application-specific complex gas mixtures. For this calibration, a gas mixing apparatus (GMA) is needed to produce well-defined, adjustable, and reproducible gas mixtures. Since more than 300 different VOCs are found in indoor air [4], creating an exact replicate of indoor air or similar complex atmospheres is not feasible. This contribution describes the design and realization of a GMA being able to provide sufficiently complex and representative, yet still manageable VOCs mixtures also with realistic atmospheric background of humidity and inorganic gases.

Design basics

Basically, a GMA is based on a carrier gas flow, in this case zero-air, to which different gaseous substances are added via several test gas flows forming the measurement line flow. Zero-air is dry (dew point below -35 °C), purified air which contains very low concentrations of trace gases (e.g., hydrogen and hydrocarbons with a concentration below 0.1 ppm) due to catalytic purification [5]. The required variable concentrations can be set by varying the volume flows of the test gas flows. The different volume flows are set by using mass flow controllers (MFCs). The MFCs used are from the GMA50A model series from the company MKS Instruments Deutschland GmbH.

Therefore, a simple test gas generation is performed by a test gas cylinder with a defined gas concentration, typically magnitudes higher than needed, connected to an injection MFC which controls the substance's flow, followed by a valve (here type 6624 from the Bürkert GmbH & Co. KG). An optional pressure sensor can be installed between gas cylinder and MFC to monitor the inlet pressure of the MFC. Hence, the dynamic range of gas concentrations is determined by gas cylinder concentration, injection flow, and measurement line flow. The smallest possible concentration is determined by the minimum flow rate of the MFC.

The purity of test gas cylinders is typically 99.999 % (rating 5.0) meaning that impurities up to 10 ppm are included. Due to that, there is a natural lower limit of available concentrations for gas cylinders. In order to generate ultra-low concentrations of a test gas a more complex set-up is needed. To lower the impact of impurities, a gas cylinder with a higher test gas concentration is used and diluted with zero-air prior to injection into the mixing chamber. The dilution stage evenly dilutes target gas and impurities.

The concept of this two-stage pre-dilution was already introduced in [6] and was only fluidically optimized in the new GMA. The dilution consists of a gas MFC with small flow rate (typically a maximum flow of 10 or 20 ml/min) which has the test gas attached to it and a larger flow dilution MFC (500 ml/min) which is attached to zero-air. With these two MFCs it is possible to generate a dilution depending on the flow ratio of both MFCs. Finally, the prediluted mixture is injected into the measurement line with an injection MFC (same size as the gas MFC) and a valve as mentioned before. This module can also have the optional pressure sensor between gas MFC and cylinder as before, but an additional pressure sensor in the predilution mixing chamber is mandatory. The injection MFC needs a constant differential pressure to work properly and must therefore be monitored constantly, since this pressure is set by the flow setting of two MFCs, not automatically by the cylinder pressure (the necessary pressure varies for different MFC manufacturers but is set to 2 bar in our system). This intermediate pressure is controlled via a pressure regulator attached to the mixing stage, the output of which is connected to the exhaust line. In addition, a further valve has been installed upstream of the gas MFC, which applies either test gas or zero air to the inlet of the MFC, so that a line can be completely purged without consuming other test gas. This valve is type 0330 also from the Bürkert GmbH & Co. KG.

Due to this predilution the GMA can achieve a dilution ratio of the cylinder concentration varying from 1:1 with no separate carrier gas flow in the measurement line up to 1:12505000 with a measurement line gas flow of 1000 ml/min. The range of the dilution ratios depends on the size of the MFCs used. The values above were calculated based on a 20 ml/min injection MFC, a 500 ml/min dilution MFC and a 20 ml/min gas MFC. This allows a wide concentration range of test gases, which is needed to simulate indoor air conditions where VOCs typically occur mostly in the low ppb range, but also up to several ppm are found during cleaning or cooking.

With this principle, it must be ensured that the prediluted gas is completely mixed. Depending on the flow behavior, there are different ways to mix gases. The turbulence behavior of flows is indicated by the Reynolds number Re as a characteristic number. This indicates whether laminar or turbulent flows are formed. In pipelines, a Reynolds number of less than 2100 corresponds to laminar flow and a Reynolds number greater than 4000 to turbulent flow. The Reynolds number is given by

$$\mathrm{Re} = \frac{\rho \cdot \bar{v} \cdot l^*}{\eta}$$

where ρ is the density of the medium, $\bar{v}$ is the mean velocity, η is the viscosity, and l^* is the characteristic length [7]. Assuming a cylindrical tube with a diameter of 1/16 inch with a constant flow rate of 500 ml/min air, results in a mean flow velocity of approx. 13.8 m/s. With the density of air of 1.2041 kg/m^3 and l^* being the tube diameter, this results in a Reynolds number of 848, hence, in laminar flow, in which a total mixing of gases is unlikely. Mixing of gases under laminar flow conditions is only caused by diffusion.

For this reason, a diffusion section with a defined length is included, built of a 1/16-inch mixing tube which is coiled to save assembly space. If the distance is too short, there will be insufficient mixing and the set concentration will be incorrect. If the diffusion distance is too long, the settling time of the line suffers, requiring more time than necessary to traverse the assembly, thereby increasing dead time between two different concentrations. The selected distance considers a small diffusion constant and therefore slowest mixing time required for complete diffusion. The following relationship generally applies:

$$Q = \frac{V}{t} = \frac{A \cdot L}{t} = \frac{\pi \cdot \frac{d^2}{4} \cdot L}{t}$$

Here, Q is the volume flow in the tube, V the volume, t the time, A corresponds to the tube cross-section, L the tube length and d the tube diameter. The average square distance $\langle x^2 \rangle$ traveled is considered, the diffusion constant D is described by the Einstein-Smoluchowski equation [8]:

$$D = \frac{\langle x^2 \rangle,}{2 \cdot t}$$

In the worst case, the considered average squared distance $\langle x^2 \rangle$ becomes even to the square of the diameter d. By substituting these two equations into each other, the time can be shortened out of the equation and finally rearranged according to the length L.

$$L = \frac{2 \cdot Q}{\pi \cdot D}$$

The diffusion constant was determined using Chapman-Enskog theory [9]:

$$D = \frac{3}{8} \cdot \left[\frac{N \cdot (M_1 + M_2)}{\pi \cdot 2 \cdot M_1 \cdot M_2}\right]^{\frac{1}{2}} \cdot \frac{(k_B \cdot T)^{\frac{3}{2}}}{p \cdot \sigma_{12}^2 \cdot \Omega}$$

Here, N is the Avogadro constant, k_B the Boltzmann constant, T the temperature in Kelvin, p the absolute system pressure, M_i the molar masses of air and the gas diffusing through it, σ the collision diameter and Ω the collision integral. The index 12 represents the arithmetic mean of the collision diameters of air and the diffusing gas. For the desired case, the following assumptions are made: an absolute pressure of 3 bar and a temperature of 293 K. The test gases diffuse into dry zero-air. Its average molar mass M is 0.028949 kg/mol. The collision integral Ω is not always determined, but is of the order of slightly above one [9]. To consider the worst case, a value of 1.1 is assumed. The collision diameter of air in this case is $3.617 \cdot 10^{-10}$ m (average of all components). In the worst case, the diffusion constant is small. For instance, toluene with a diffusion diameter σ of 1.2 nm and a molar mass of 92.14 kg/mol [9] has a diffusion constant in air of $1.0002 \cdot 10^{-5}$ m^2/s which is the smallest of all test gases considered in the present setup.

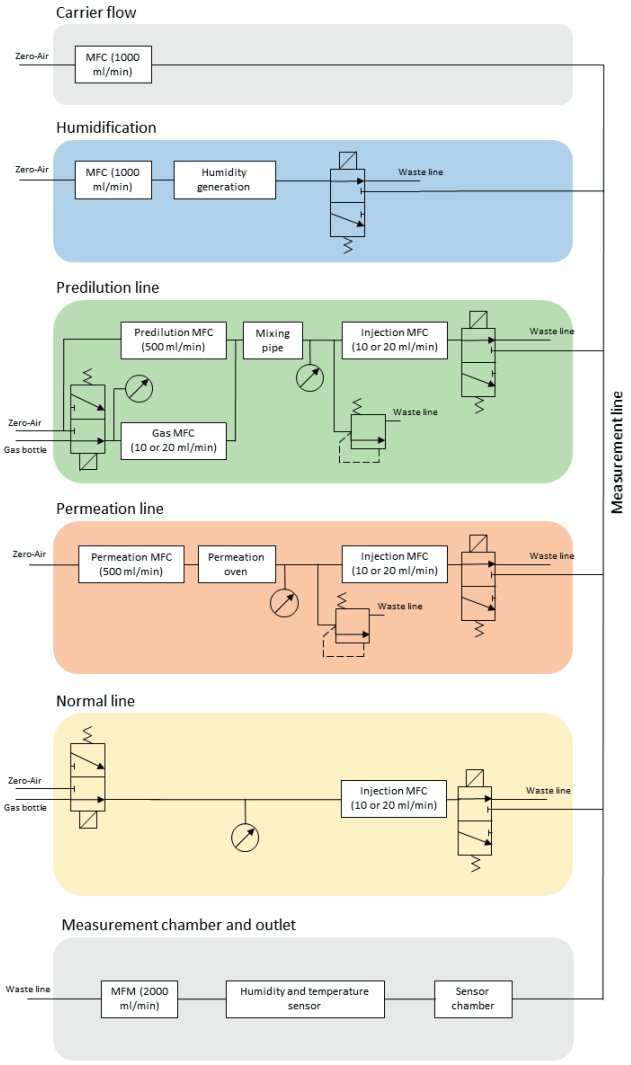


Figure 1 Schematic overall system of the GMA

The volume flow Q in a line is just the maximum of the adjustable flows of the MFCs in the worst case. This is 520 ml/min for the selected MFCs. This results in a length of the mixing tube of 552 mm. To allow an extension to other gases, a safety factor of 1.2 was selected, so that a tube with a length of 660 mm was installed. This also applies to the mixing of all gases in the measurement line. With a length of approximately 700 mm from the last injecting line to the actual apparatus outlet, this is sufficiently long

for this purpose. For this reason, no additional mixing tube is required here.

For various reasons, especially low vapor pressure, it is sometimes not possible to acquire a substance in a gas cylinder. To bypass this problem for small concentrations another module, the permeation module, is designed. In this module, the test substance is generated by permeation from permeation tubes in permeation furnaces. An MFC is positioned in front of these furnaces, which sets a defined zero-air flow through the furnace. This enriches the zero-air with the permeated substance. The concentration of test gas after the permeation furnace can be further reduced by pre-dilution and then injected into the measurement line via the injection MFC as described before for the predilution line.

To achieve high concentrations of substances not available in gas cylinders (e.g., humidity, siloxanes) a bubbler module was created. Since humidity is the typical application for the bubbler module, due to the strong cross-sensitivity of MOS sensors to humidity [10], it serves as the example to describe the mode of operation. Humidity is defined as a mixture of gas and water vapor. It depends mainly on pressure, temperature, and the water vapor concentration. Humidity generation works via bubbling of zero-air through water in a wash bottle. In this process, a flow of zero-air is introduced through simple glass tubes or frits at the bottom of such a wash bottle and then bubbles upward through the respective liquid. The zero-air is thus humidified to saturation vapor pressure (100 % relative humidity). In order to suppress the impact of impurities (e.g. lime or organic impurities), water with the highest purity class, normally used for high performance liquid chromatography (HPLC), is used. This means that there are also few interfering substances in the final test gas. To filter out large water particles and aerosols, a second wash bottle is used in series to the first one, in which analytical grade glass wool is placed. This serves as a particle trap preventing these aerosols from reaching the measurement line and evaporating further after the humidity has been changed, thus falsifying the set humidity. Furthermore, sensors in the downstream could be wetted by droplets either disturbed the sensor operation or even destroying them. As humidity generation is temperature-dependent, as described above, both wash bottles are kept at a constant temperature of 20 °C in a thermostat (Kiss K12 from Huber Kältemaschinenbau AG is used in the present GMA).

In order to also be able to measure at high humidity levels, e.g., 90 % RH or more, the total flow rate in the measurement line should not be too high. For a higher total flow in the measurement line at the same humidity, the flow through the wash bottles would have to be increased. However, above a certain flow speed, the humidified air in the bubbler no longer reaches the saturation vapor pressure because it is exchanged to quickly [11]. As a result, the actual humidity at the sensor no longer corresponds to the setpoint. To prevent this, the total carrier gas flow is usually reduced, so that the humidity line alone can provide the entire carrier gas flow if required. To monitor the current humidity level, a humidity sensor can be placed at the end of

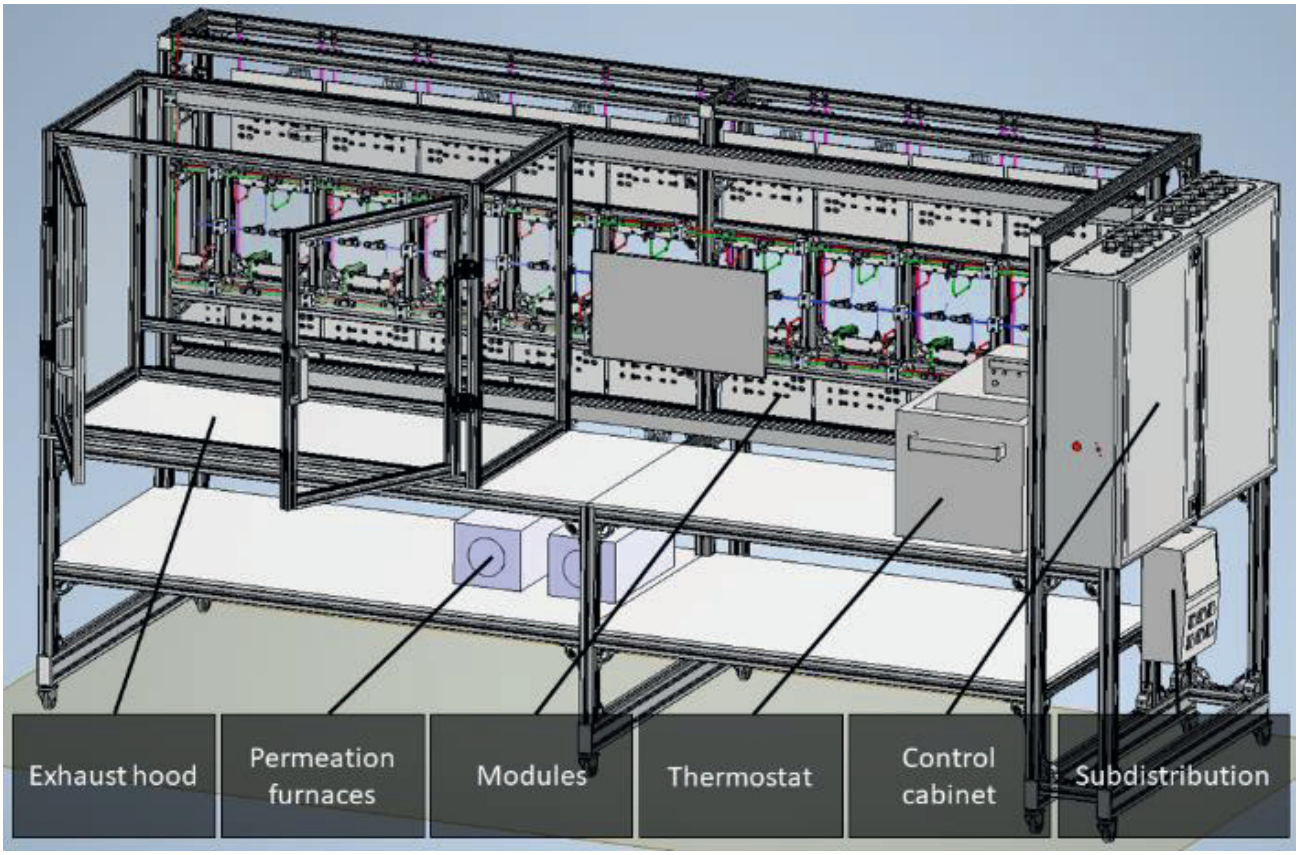


Figure 2 CAD model of the entire gas mixing apparatus from the operator side

the measurement line. The overall GMA concept is shown in Figure 1. Mixing of all injected gases is achieved in the measurement line, which leads to the sensor chamber plus additional sensors for controlling the total flow, temperature and relative humidity.

Concept realization

The GMA was designed with a total of 21 independent gas supply lines, 18 of which are test gas lines. This allows measurement gas mixtures with one representative for each of the 12 relevant VOC substance groups [12] plus several interfering gases simultaneously. Each gas line can inject a specific gas into the shared carrier line, the resulting mixture is finally flowing to test chambers with the sensors to be calibrated. Great emphasis was placed on a standardized modular design allowing easy expansion and conversion. Based on this modular design, other methods of providing gases besides pre-dilution and permeation can also be integrated into the apparatus.

Three lines are mandatory for the basic function of the GMA. One carrier gas line and one humidity line, which set the desired total gas flow including the correct humidity, and one line with a mass flow meter (MFM) monitoring the total flow which can thus reveal leakage in the system or malfunction of individual MFCs. The remaining 18 lines can then be used as required by the modules described above.

The hardware is controlled by a programmable logic controller (PLC) receiving the control values for every device from a separate control computer. The control computer calculates the flow rate for each MFC and sets the corresponding valves for each gas exposure based on the gas concentrations set by the user. It also checks if the concentrations are within the limits of the dynamic range, monitors every feedback value, automatically detects failures (e.g., pressure failure, no or wrong MFC flow rate) and displays them in a GUI. The overall status of the apparatus is also displayed via a signal tower. This control strategy is necessary since every exposure consists of up to 91 possible distinct values which must be set and monitored. Usually, one characterization measurement consists of several hundred gas exposures and is therefore prone to error if done by hand.

In total, the GMA is 3 m long, 1 m wide and 1.6 m high. The dimensions are based on the available space in the laboratory. The CAD model of the GMA is shown in Figure 2. Green pipes represent the distribution of zero-air to all modules and red pipes indicate the exhaust line. The measurement line is marked in blue. Supply pipes to connect the gas cylinders are shown in magenta.

Optimization

In a line with more than one MFC (predilution line, permeation line), identical concentrations can be achieved by different MFC flow settings. These settings have an influence on the GMA performance. This includes the test gas consumption, flush duration between two different concentrations and whether the predilution line has to be used with a closed predilution MFC passing the gas from gas cylinder to injection MFC without dilution.

These MFC setpoint options result in various states that must be avoided. Since some of these states are directly derived from the different performance options, conflicts of objectives arise. The software configuration for the desired setup handles the conflicting goals.

One undesirable state is a maximum opening of the gas MFC while the dilution MFC has not yet been minimized, resulting in unnecessarily high gas consumption. However, measurements have shown that a high gas MFC flow rate is beneficial for a fast concentration change within a line. The conflict of objectives that arises here is solved in the current software version by minimizing the gas consumption. Due to a large dead volume between the injection MFC and the measurement line, the injection MFC should be

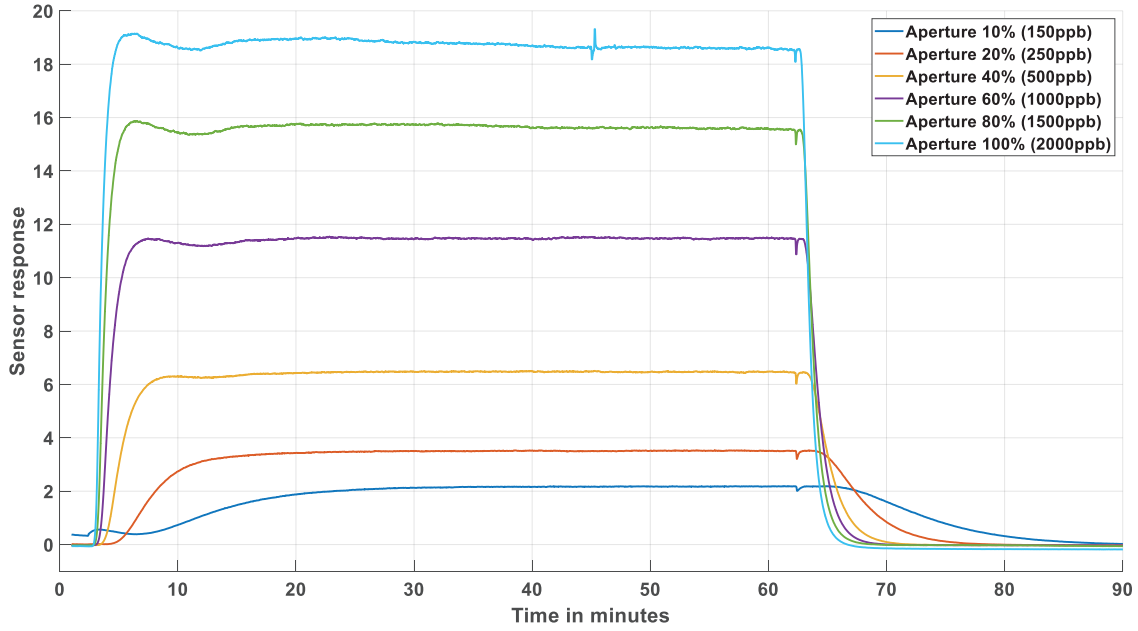


Figure 3 Influence of the injection MFC setpoint on the rise time for a gas exposure

opened as much as possible. This increases the flow through the large dead volume and reduces the time between concentration changes.

At high humidity levels, another undesirable condition becomes apparent. The gases injected into the measurement line through the predilution lines are dry, i.e., have a relative humidity of 0 %. With a total flow of usually 1000 ml/min and a desired humidity of 90 %, a maximum of 100 ml/min can therefore be contributed from all 18 lines. Thus, if one injection MFC is then opened too much, gases from all available lines cannot be supplied, significantly restricting the dynamic range. Finally, the injection MFC cannot be fully opened in no-dilution mode since a relative pressure of 2 bar is required which is not possible without dilution and maximum opening of both MFCs.

To investigate these states and test various optimization rules, measurements were carried out on a single predilution line. The risetime of a predefined hydrogen concentration with different MFC settings was investigated. Hydrogen was used because it interacts well with the sensor used and at the same time is non-toxic to the user. The gas MFC as well as the injection MFC have a maximum flow rate of 20 ml/min, the dilution MFC of 500 ml/min. A SGP30 MOS sensor from Sensirion [13] was used for evaluation, operated at a constant temperature of 400 °C. The second sensor layer was evaluated because it exhibits the lowest noise level. The sampling rate was 20 Hz.

First, the influence of the injection MFC is examined in more detail. For this purpose, the gas MFC was opened to the maximum and the dilution MFC was varied to achieve a whole number as concentration as output. One gas exposure required 60 min with 30 min flush time with zero-air between two concentrations. The injection MFC was varied in 6 steps between 10 % and 100 %. The results are shown in Figure 3.

Especially for very small injection MFC flow rates, the influence of the injection MFC on the resulting time constant is immediately obvious. In both the rising and falling slopes, a significant improvement is evident for larger injection flow rates with maximum injection flow achieving the smallest time constant. The result can be explained by the rather large dead volume leading to the injection MFC which is only flushed by the relatively small flow of the injection MFC with a maximum of 20 ml/min. Therefore, it is advantageous to increase the flow rate of the injection MFC first before adjusting the two other MFCs for gas and predilution. Accordingly, further measurements were performed with the injection MFC set to maximum flow. Note that the small peak in the measurement with 100 % opening after approx. 45 min is an artifact and has no further significance relevant for the evaluation.

Further measurements showed that the degree of opening of the dilution MFC has no relevant influence on the time constant. The degree of opening of the gas MFC, on the other hand, does. For this purpose, the injection MFC was opened to the maximum and the dilution MFC was set to 5 % flow rate. The flow rate of the gas MFC was varied as shown in Figure 4.

Especially at the rising edge the influence of the gas MFC setpoint on the time constant is clearly shown. A large flow rate of the gas MFC is therefore favorable for optimization. However, this creates a conflict of objectives between the small time constant and the general desire to save (test) gas during measurements to reduce cost.

The reason for this effect of the MFC setpoint at first glance seems inexplicable, we suspect that this is caused by the test gas used, i.e., hydrogen. Therefore, the same measurement is repeated for acetone to investigate the influence of the gas on the time constant. The settings of all MFCs remain the same. The measurement shows the same, slower behavior for small gas MFC flow rates for acetone as for hydrogen. The cause of this effect is therefore not the used test gas.

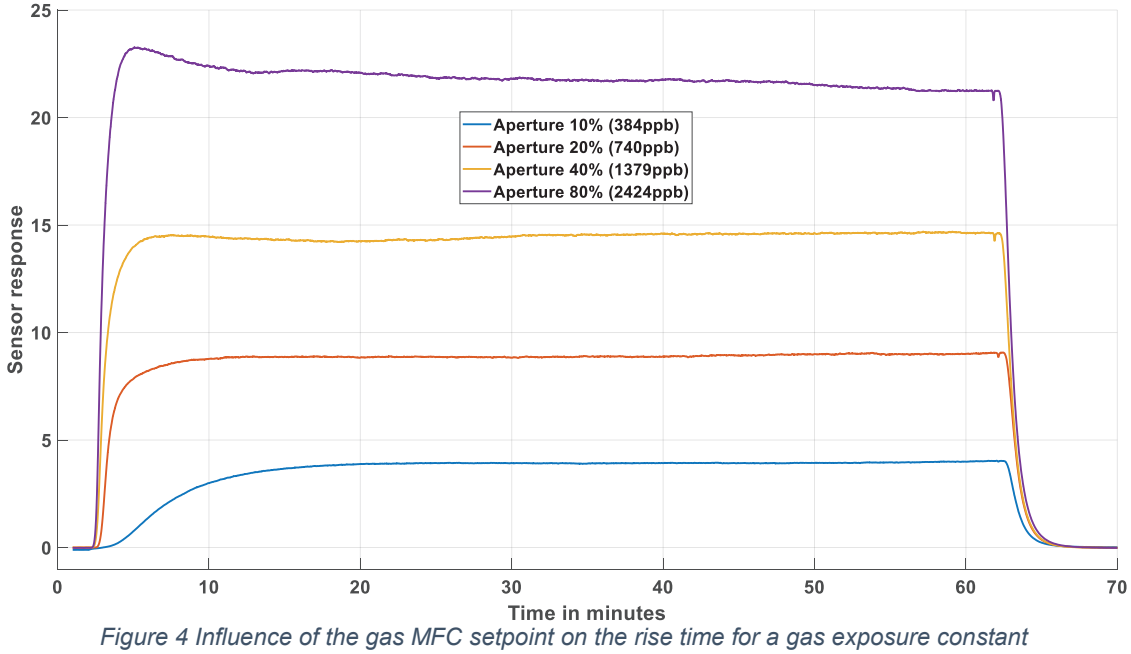


Figure 4 Influence of the gas MFC setpoint on the rise time for a gas exposure constant

One possible cause for the observed increased time constant could be the dead volume between the gas MFC and the T-piece on the dilution MFC connecting both flows before the mixing section. During the set purge time of 30 min, gas can diffuse from the gas MFC into the flow of the dilution MFC to a high degree, reducing the effective concentration in this area. Thus, when the next gas exposure starts the volume must first be flushed again with the higher cylinder gas concentration. Small flow rates in this area, determined by the gas MFC setpoint, therefore result in a longer duration until the concentration reaches its stable target value.

In summary, the GMA has the smallest time constants and allows fastest measurements when both the injection MFC and the gas MFC are opened as much as possible. However, this results in a target conflict for the gas MFC setpoint, where the low time constants and low gas consumption being mutually exclusive. The control software therefore sets concentrations mainly with the dilution MFCs, while the other two MFCs are opened to the maximum flow rates possible. These should be reduced only for small concentrations. The optimization rules can be adapted, e.g., for particularly expensive gases by opening the gas MFC as little as possible. This means, however, that longer adjustment times have to be accepted.

Conclusion and outlook

Due to the presented planning and realization, the new GMA is able to provide 18 different and independent test gases down to the sub-ppb range with humidity and total flow also being variable to allow different experimental protocols. Due to the modular design of the individual lines, the GMA can be extended as required and individual lines can easily be replaced by new gas generation methods, for example permeation or evaporation of liquids. The system operates completely autonomously based on an arbitrary measurement sequence. The MFC setpoints are calculated and adjusted automatically by the control software based on the selected gas concentrations. The apparatus has been optimized regarding speed during gas and concentration changes. These findings can also be used in existing GMAs to allow more measurements in the same time due to a faster setting time, which can reduce operating costs.

The new GMA is used in projects where up to 18 different independent test gases are required. These gases can be offered in any concentration range, from sub-ppb to higher ppm, with the predilution lines, allowing a wide dynamic range for many different gases. In addition, the system is easy to operate due to the software used, as the user can directly enter the required concentrations into the GUI of the software and thus manage large measurement series without manual calculations or intervention. Together with the optimization, a cost-efficient GMA was constructed, allowing improved gas sensor systems, e.g., based on randomized gas mixtures for indoor air quality monitoring [14, 15].

Literature

[1] Mølhave L., Nielsen G. D.: “Interpretation and Limitations of the Concept “Total Volatile Organic Compounds” (TVOC) as an Indicator of Human Responses to Exposures of Volatile Organic Compounds (VOC) in Indoor Air.”, Indoor Air, 2009

[2] Belazzi T.: „Datenbankgestütztes Chemikalienmanagement zur Minimierung der VOC-Belastung der Innenraumluft“, Tagungsband „Gesunde Raumluft - Schadstoffe in Innenräumen Prävention und Sanierung“, S. 52, Wien, 12.-13.2.2004 ISBN 3-900 403-34-1

[3] Schütze A., Sauerwald T.: „Dynamic operation of semiconductor sensors,“ in: Jaaniso R. & Ooi Kiang T. (eds.): Semiconductor Gas Sensors, Woodhead Publishing, 2nd Edition, 2020, Pages 385-412.

[4] Hofmann H., Plieninger P.: „Bereitstellung einer Datenbank zum Vorkommen von flüchtigen organischen Verbindungen in der Raumluft“, WaBoLu-Hefte, 2008, 5, 161

[5] VICI DBS S.r.l.: „Product Brochure GC PLUS Zero-air Generator“, checked November 2021

[6] Helwig N., Schüler M., Bur C., Schütze A., Sauerwald T.: „Gas mixing apparatus for automated gas sensor characterization,“ Meas. Sci. Technol. 25 (2014) 055903, doi: 10.1088/0957-0233/25/5/055903

[7] Denn M., „Process Fluid Mechanics,“ Prentice-Hall, 1980, ISBN: 978-0137231638

[8] Vogel G., “Diffusion und Brownsche Bewegung: Analogien bei der Wanderung von Atomen, Tieren, Menschen und Ideen,” in Kärger, J.: “Leipzig, Einstein, Diffusion“ von Leipziger Univ.-Verl., 2014, ISBN: 978-3-86583-176-7

[9] Hirschfelder J. O., Curtiss C. F., Bird, R. B.: “Molecular theory of gases and liquids” John Wiley & Sons Inc., 1964, ISBN: 0471400653, Page 1145 & 1246 f.

[10] Oehme F.: „Chemische Sensoren heute und morgen, Anforderungen, Fertigungstechniken, Entwicklungstrend“, Die deutsche Bibliothek, 1994, ISBN 3-8169-0959-0

[11] Stucky M.: „Entwurf, Aufbau und Erprobung eines Klimaprüfstandes für Gassensoren“, Diplomarbeit, Lehrstuhl für Messtechnik, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, 2002

[12] VDI/VDE-Gesellschaft Mess- und Automatisierungstechnik (GMA): „Multigas sensors - Standardized test instructions and test gases for VOC detectors for indoor air quality measurement“, Richtlinie 3518 Blatt 4, https://www.vdi.de/richtlinien/details/vdivde-3518-blatt-4-multigassensoren-standardisierte-pruefanweisung-und-pruefgase-fuer-voc-detektoren-zur-innenraumluftguetemessung, Aufruf am 22.10.2021

[13] Sensirion AG: „Datenblatt SGP30“, Mai 2020

[14] Baur T., Bastuck M., Schultealbert C., Sauerwald T., Schütze A.: “Random gas mixtures for efficient gas sensor calibration,” J. Sens. Sens. Syst. (2020) 9, 411-424, doi: 10.5194/jsss-9-411-2020

[15] Baur T., Amann J., Schultealbert C., Schütze A.: “Field Study of Metal Oxide Semiconductor Gas Sensors in Temperature Cycled Operation for Selective VOC Monitoring in Indoor Air” Atmosphere (2021) 12, 647, doi 10.3390/atmos12050647

DOI 10.5162/15dss2021/P13.3

Verfahren zur Bestimmung des Verschmutzungsgrades von Thermoelementen im Betrieb

Dieter Felkl[1] und Heinrich Ruser[2]

[1]Ernst-Abbe-Hochschule Jena, FB Elektrotechnik und Informationstechnik, Jena
[2]Universität der Bundeswehr München, Lehrstuhl für Angewandte Physik und Messtechnik, Neubiberg
Kontakt: dieter.felkl@eah-jena.de

Einleitung

Für die Verbesserung der Zuverlässigkeit eines Sensors und die Minimierung der Messabweichungen spielt die Kenntnis des Sensorzustandes eine wichtige Rolle. Dies gilt verstärkt im Zusammenhang mit der Sensorentwicklung für den Einsatz in komplexen industriellen Produktionsanlagen mit einer Vielzahl vernetzter sensorbasierter Teilsysteme (sog. cyber-physischer Systeme) [1]. Kontinuierliche Zustandsüberwachungen der Sensoren sind die Voraussetzung für eine prädiktive Wartung bzw. Instandsetzung.

Ein entscheidender Ansatz zur Zustandsüberwachung besteht in der Ermittlung und Auswertung spezifischer Kennwertänderungen der Sensorelemente, aus denen geeignete Steuersignale generiert werden. Mit selbstüberwachenden Sensoren erfolgt die Zustandsüberwachung adaptiv und automatisch.

Die Temperatur ist in der Prozessmesstechnik und Verfahrenstechnik die am häufigsten gemessene physikalische Größe, so dass der genannte Ansatz anhand der Temperaturmessung mit Berührungsthermometern in fluiden Medien dargestellt und untersucht werden soll.

Lösungsansätze zur Selbstüberwachung bzw. Selbstkalibrierung von Temperatursensoren decken ein weites Spektrum unterschiedlicher physikalischer Prinzipien ab. Der Stand der Technik wird repräsentiert durch die Auswertung:

- implementierter Temperatur-Fixpunktzellen [2] [3] [4],
- der Sprungantwort bei eingespeistem Schleifenstrom [5] [6],
- des thermischen Rauschens eines Widerstands (Rauschthermometrie) [7] [8] [9],
- des elektrischen Widerstandes [10],
- des thermischen Widerstandes [11] bzw. der thermischen Impedanz [12],
- der Temperatur bei sinusförmiger Anregung des Heizelements [13].

Dabei sind Kombinationen mehrerer Prinzipien möglich und üblich [14].

Diese Arbeit liefert einen Beitrag zur automatischen Überwachung des Zustands von Temperatursensoren am Beispiel von Thermoelementen (THE) durch Auswertung des thermischen Widerstandes sowie zur Modellbildung des thermischen Überganges. Ein besonderes Interesse liegt auf der Verifizierung des vorgestellten physikalischen Modellansatzes. Die gezeigte Vorgehensweise ist grundsätzlich auch auf Widerstandsthermometer (RTD) übertragbar.

Methoden und Materialien

Die Temperaturmessung mit Berührungsthermometern beruht darauf, dass durch die Übertragung thermischer Energie von der Messstelle zum Temperaturfühler mittels konduktiver, konvektiver bzw. radiativer Transportprozesse (Kopplung) die Fühlertemperatur T_F sich der Temperatur T_M des Messobjektes angleicht.

Der thermische Widerstand R_th kann messtechnisch als Quotient der Temperaturdifferenz $T_\mathrm{FM} = T_\mathrm{M} - T_\mathrm{F}$ und der eingespeisten elektrischen Leistung P ermittelt werden:

$$R_\mathrm{th} = \frac{T_\mathrm{FM}}{P} \tag{1}$$

Zusätzlich kann es zu An- bzw. Ablagerungen von im Fluid enthaltenen Partikeln auf dem Thermofühler und ggf. anschließender Sedimentation kommen.

Der thermische Widerstand $R_\mathrm{th}(\mathrm{d}r)$ eines durch Ablagerungen, charakterisiert durch den Radiuszuwachs $\mathrm{d}r > 0$, verschmutzten Thermofühlers in Luft wird als Reihenschaltung eines konduktiven und konvektiven thermischen Widerstands $R_\mathrm{thcd}(\mathrm{d}r)$ und $R_\mathrm{thcv}(\mathrm{d}r)$ modelliert [15]:

$$R_\mathrm{th}(\mathrm{d}r) = R_\mathrm{thcd}(\mathrm{d}r) + R_\mathrm{thcv}(\mathrm{d}r) \tag{2}$$

Für typische zylindrische Geometrien ergibt sich das folgende Struktur-Modell [16].

$$R_\mathrm{th}(\mathrm{d}r) = \frac{1}{2\pi\lambda(\vartheta)L}\ln\frac{r_0 + \mathrm{d}r}{r_0} + \frac{1}{2\pi h(\vartheta)L(r_0 + \mathrm{d}r)} \tag{3}$$

mit den temperaturabhängigen integralen Materialkoeffizienten spezifische thermische Leitfähigkeit $\lambda(\vartheta)$ und thermische Übergangsfunktion $h(\vartheta)$, dem Außenradius r_0 des unverschmutzten Sensorelements sowie der am thermischen Austausch beteiligten Länge L des Fühlers.

Bei Temperaturmessungen in fluiden Medien dominiert bei kleinen Radiuszuwächsen die konvektive Übertragung des der eingespeisten elektrischen Leistung P äquivalenten Wärmestromes von der Wärmequelle zum Temperaturfühler. In strömenden Medien wird deshalb unter der Bedingung $R_\mathrm{thcv} \gg R_\mathrm{thcd}$ folgender hyperbolische Modellansatz zur Beschreibung gewählt:

$$R_\mathrm{th}(\mathrm{d}r) = R_\mathrm{th0} + \frac{\Delta R_\mathrm{th}}{1 + \dfrac{\mathrm{d}r}{r_0}} \tag{4}$$

Darin steht R_th0 für den unteren Grenzwert des thermischen Widerstands $R_\mathrm{th}(\mathrm{d}r)$ für $\mathrm{d}r \to \infty$ und ΔR_th für seinen Änderungsbereich gegenüber $R_\mathrm{th}(\mathrm{d}r = 0)$, siehe Abb. 1.

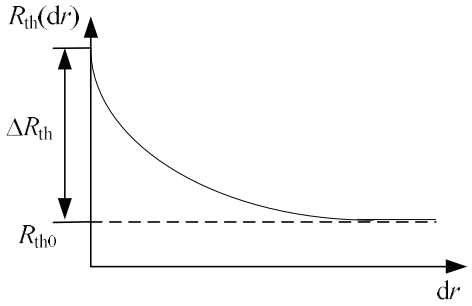


Abb. 1: Schematisierter Graph und Parameter der hyperbolischen Modellfunktion $R_{\mathrm{th}}(\mathrm{d}r)$

Aufgrund der bei Stromfluss I mittels der Leistung $P(I)$ induzierten Temperaturerhöhung $T_{\mathrm{FM}}(I)$ gehen die Gleichungen (1), (3) und (4) in (5), (6) und (7) über.

$$R_{\mathrm{th}}(I) = \frac{T_{\mathrm{FM}}(I)}{P(I)} \tag{5}$$

$$R_{\mathrm{th}}(dr, I) = \frac{1}{2\pi\lambda(\vartheta, I)L} \ln\frac{r_0 + \mathrm{d}r}{r_0} + \frac{1}{2\pi h(\vartheta, I)L \cdot (r_0 + \mathrm{d}r)} \tag{6}$$

$$R_{\mathrm{th}}(\mathrm{d}r, I) = R_{\mathrm{th0}}(I) + \frac{\Delta R_{\mathrm{th}}(I)}{1 + \frac{\mathrm{d}r}{r(I)}} \tag{7}$$

Erwartbare Abweichungen im physikalischen Modell (3), wie z.B. durch Änderungen der Strömungsverhältnisse am Sensor oder Wechselwirkungen zwischen Geschwindigkeits- und Temperaturfeld innerhalb der Grenzschicht, werden mittels des Parameters $r(I)$ berücksichtigt.

Modellbildung

Sensorelemente stellen bekanntermaßen die Schnittstellen zwischen unterschiedlichen Energiedomänen dar. Aus diesem Grund erfolgt die Modellierung der Messkette von der Quelle des Messsignals zum Ausgang des Sensorelementes unter Verwendung eines phänomenologischen Ansatzes mit der Differenz der entsprechenden Potentialgröße als Antriebsgröße (allgemeine Kraft) und der zeitlichen Ableitung (Änderungsgeschwindigkeit) der entsprechenden quantitativen Größe als Strömungsgröße.

Das THE wird als inverser Vierpol mit symmetrischer Zählpfeilorientierung modelliert, siehe Abb. 2. Der Eingangskreis steht für die thermische, der Ausgangskreis für die elektrische Energiedomäne des Sensorelementes [17]. Die Temperaturdifferenz T_{FV} aus Fühler- und Vergleichsstellentemperatur T_{F} bzw. T_{V} stellt die Antriebsgröße und der Wärme(energie)strom Q, repräsentiert durch die elektrische Leistung P_{el}, die Strömungsgröße im Eingangskreis dar. Die elektrische Spannung U zwischen den Klemmen des THE bzw. der elektrische Strom I durch diese Klemmen sind die Antriebs- bzw. die Strömungsgröße im Ausgangskreis des Vierpols. Der Sonderfall $U = U_0$ gilt für den Leerlauf $(I = 0)$ des THE. Der Eingangskreis stellt eine reale Stromquelle, bestehend aus einer idealen Quelle eines der elektrischen Leistung P äquivalenten Wärmestromes Q und dem thermischen Innenwiderstand $R_{\mathrm{th\,i}}$ – angeordnet zwischen beiden Verbindungsstellen der Thermoschenkel – der Wärmestrom- bzw. Leistungsquelle P_{el} dar.

Die elektrische Leistung $P(I)$ (8) beinhaltet die Summe der Leistungsanteile der dominierenden thermoelektrischen Effekte, der Peltier-Leistung P_{P} und der Joule-Leistung P_{J} [18]. Die Peltier-Leistung P_{P} ist das Produkt aus dem Peltier-Koeffizienten Π und elektrischen Strom I, die Joule-Leistung P_{J} das Produkt aus dem effektiven elektrischen Widerstand R_{eff} und dem Quadrat des elektrischen Stromes I, wobei R_{eff} der Teil des elektrischen Widerstandes des THE ist, an dem sich die Joulesche Leistung P_J hinsichtlich der Temperaturauswirkung manifestiert:

$$P(I) = \Pi\, I + R_{\mathrm{eff}}\, I^2 \tag{8}$$

Der Ausgangskreis des Vierpoles wird durch eine reale Spannungsquelle - bestehend aus der idealen Spannungsquelle U_0 und dem elektrischen Widerstand R als Innenwiderstand R_{i} des THE – modelliert.

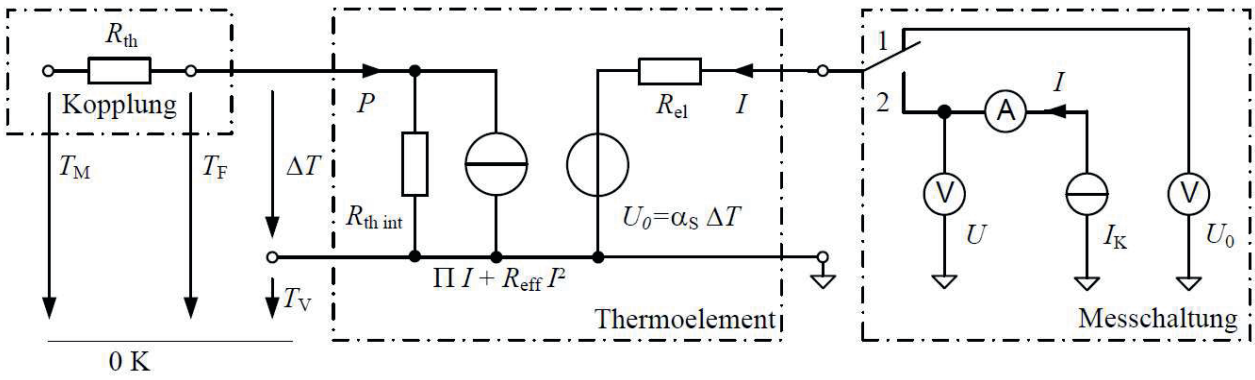


Abb. 2.: Gesamtmodell mit Kopplung an die Messstelle, Thermoelement und Messschaltung

Die Temperaturabhängigkeit $R(\vartheta)$ des elektrischen Widerstands R wird als lineare Näherung beschrieben:

$$R(\vartheta) = R_{20}(1 + \alpha\,\Delta\vartheta) \tag{9}$$

mit $R_{20} = R(\vartheta = 20°\mathrm{C})$, dem linearen Temperaturkoeffizienten α des elektrischen Widerstandes und der gegenüber der Bezugstemperatur $20°\mathrm{C}$ auftretenden Temperaturdifferenz $\Delta\vartheta = \vartheta - 20°\mathrm{C}$.

Die Temperaturdifferenz gegenüber der Umgebung wird extern oder intern aus dem thermischen Widerstand R_{th} des Sensorelements und der eingetragenen Leistung $P(I)$ (8) generiert.

$$\Delta\vartheta(I) = R_{\mathrm{th}}\,P(I) \tag{10}$$

Aus der quadratischen Abhängigkeit der Leistung $P(I)$ vom Strom I folgt mit der ebenfalls quadratischen Abhängigkeit des elektrischen Widerstandes $R(\vartheta, I)$ von I,

$$R(\vartheta, I) = R_{20}(1 + \alpha\,R_{\mathrm{th}}\,P(I)) \tag{11}$$

sowohl für die elektrischen Leistung $P(I)$ als auch die Temperaturdifferenz $T_{\mathrm{FM}}(I)$ eine Funktion 4. Ordnung von I [11].

Messverfahren und Messbedingungen

Die Bestimmung des thermischen Widerstandes $R_{\mathrm{th}}(I)$ des Thermofühlers unter Einbeziehung des thermischen Widerstandes der Ankopplung des Sensorelementes an die Messstelle erfolgt durch Anregung des Thermofühlers mit einem konstanten elektrischen Strom I, der eine bekannte elektrische Leistung $P(I)$ (8) und damit einen ihr äquivalenten Wärmestrom durch die Fühlerspitze generiert.

Die Fühlertemperatur $T_{\mathrm{F}}(I)$ des THE folgt aus der Temperaturdifferenz $T_{\mathrm{FV}}(I)$ zwischen der Fühlertemperatur $T_{\mathrm{F}}(I)$ und der Vergleichsstellentemperatur $T_{\mathrm{V}}(I)$. $T_{\mathrm{FV}}(I)$ wird als Quotient aus der im Leerlauf gemessenen Ausgangsspannung U_0 und dem relativen Seebeck-Koeffizienten α_{S} ermittelt und die Vergleichsstellentemperatur $T_{\mathrm{V}}(I)$ gemessen [18].

$$\begin{aligned} T_{\mathrm{F}}(I) &= T_{\mathrm{FV}}(I) + T_{\mathrm{V}}(I) \\ T_{\mathrm{FV}}(I) &= U_0/\alpha_{\mathrm{S}} \end{aligned} \tag{12}$$

Die Auswertung der Temperaturdifferenz $T_{\mathrm{FM}}(I)$ (13) über dem thermischen Widerstand $R_{\mathrm{th}}(I)$, beruht auf der Bestimmung der Medientemperatur T_{M} bei unverschmutztem Fühler durch die Auswertung der Fühlertemperatur T_{F} im nicht angeregten Zustand (Abb. 2, Messschaltung, Schalterstellung 1) sowie der Auswertung der Fühlertemperatur $T_{\mathrm{F}}(I)$ im angeregten Zustand (Abb. 2, Messschaltung, Schalterstellung 2):

$$T_{\mathrm{FM}}(I) = T_{\mathrm{F}}(I) + T_{\mathrm{F}}(I = 0) \tag{13}$$

Die Bestimmung des thermischen Widerstandes R_{th} erfolgt mittels Parameterschätzung gemäß (5) unter Verwendung der Messwerte für $T_{\mathrm{FM}}(I)$ (13) und $P(I)$ (8) sowie dem Modell für $R_{\mathrm{th}}(\mathrm{d}r, I)$ (6).

Auf Grundlage des beschriebenen Verfahrens erfolgt die Charakterisierung eines Typ J Thermoelementes JQIN M15U-150 mit Nickel-Chrom-Mantel in isolierter Ausführung, einem Durchmesser von $2r_0 = 1{,}50$ mm, einer Länge von 150 mm sowie mit Standard Anschlussstecker, das im Betrieb von externen Strömungseinflüssen abgeschirmt wird.

Zur Analyse der Modelle (7) bzw. (15) werden Auswertungen mit Anregungsströmen im Bereich $0{,}2\ \mathrm{A} \leq I \leq 1\ \mathrm{A}$ herangezogen. Die Realisierung reproduzierbarer Verschmutzungen erfolgt durch Aufsteckhülsen aus PTFE-Hülsen mit Außendurchmessern im Bereich $3\ \mathrm{mm} \leq d_a \leq 7\mathrm{mm}$ von jeweils $50\ \mathrm{mm}$ Länge.

Auswertung und Ergebnisse

Die Suche nach einem geeigneten Modell für $R_{\mathrm{th}}(\mathrm{d}r, I)$ führt auf das Modell gemäß (7) mit anschließender Schätzung der Parameter R_{th0}, ΔR_{th} und r für verschiedene Anregungsströme I. Dies führt auf das in Abb. 3 dargestellte Kennlinienfeld $R_{\mathrm{th}}(\mathrm{d}r, I)$ mit dem elektrischen Anregungsstrom I als Parameter.

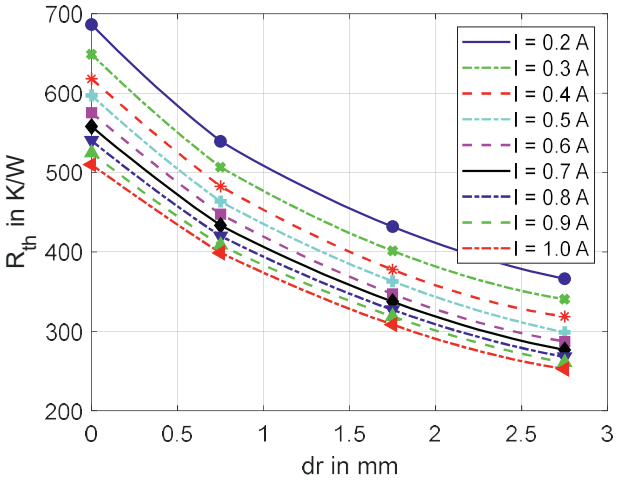


Abb. 3: Modell-Kennlinienfeld $R_{\mathrm{th}}(\mathrm{d}r, I)$ mit den Messwerten für $R_{\mathrm{th}}(\mathrm{d}r, I)$

Die Kennlinien $R_{\mathrm{th}}(\mathrm{d}r, I)$ in Abb. 3 zeigen jeweils für $I = \mathrm{const.}$ im unverschmutzten Zustand einen maximalen Startwert $R_{\mathrm{th0}} + \Delta R_{\mathrm{th}}$ sowie mit zunehmender Verschmutzung $\mathrm{d}r$ die erwartungsgemäß starke hyperbolische Degression des dominanten konvektiven Anteils R_{thcv} des thermischen Widerstandes.

Mit zunehmendem Strom I und zwangsläufig steigender Temperatur ϑ sowie größer werdender Materialfunktion $h(\vartheta, I)$ verringert sich gemäß (3) und (6) der dominierende konvektive thermische Widerstand R_{thcv} weiter und manifestiert sich in einer Verringerung sowohl von R_{th0} als auch von ΔR_{th}.

Die relativen Abweichungen zwischen den Modellwerten gemäß (7) und den (Soll-)Messwerten gemäß (6) sind in Abb. 4 dargestellt. Die maximalen relativen Abweichungen sind kleiner als 0,5 %.

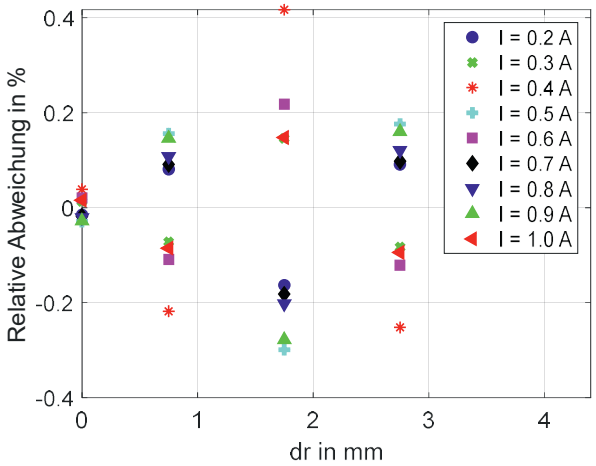


Abb. 4: Relativabweichungen zwischen den Modellwerten gemäß (7) und den Messwerten gemäß (6)

Ziel der weiteren Untersuchungen ist die Darstellung geeigneter Funktionen der Parameter $R_{\mathrm{th0}}(I)$, $\Delta R_{\mathrm{th}}(I)$, $r(I)$ des hyperbolischen Modells (7). Aus den für verschiedene Anregungsströme I_k bestimmten Stützpunkten $R_{\mathrm{th0}}(I_k)$, $\Delta R_{\mathrm{th0}}(I_k)$ und $r(I_k)$ werden die Modellparameter $R_{\mathrm{th0}}(a_0, \ldots, a_m, I)$, $\Delta R_{\mathrm{th}}(b_0, \ldots, b_n, \mathrm{I})$ und $r(c_0, \ldots, c_p, I)$ geschätzt. Mit folgendem empirischen Ansatz (14) für die Modellparameter werden maximale relative Abweichungen von den Messwerten (6) von 5 % erzielt, siehe Abb. 5:

$$R_{\mathrm{th0}}(I) = \mathrm{a}_0 + \frac{\mathrm{a}_1}{1 + \frac{I}{\mathrm{a}_2}}$$
$$\Delta R_{\mathrm{th}}(I) = \mathrm{b}_0 + \mathrm{b}_1 I + \mathrm{b}_2 I^2 + \mathrm{b}_3 I^3 + \mathrm{b}_4 I^4 \qquad (14)$$
$$r(I) = \mathrm{c}_0 + \mathrm{c}_1 \mathrm{I}$$

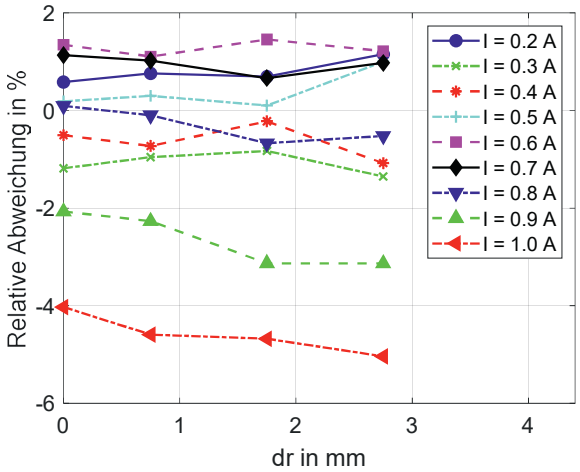


Abb. 5: Relative Abweichungen zwischen den Modellwerten gemäß (14) und den Messwerten gemäß (6).

Entsprechend den dargelegten physikalischen Zusammenhängen hinsichtlich der Abhängigkeiten sowohl der Leistung $P(I)$ als auch der Temperaturdifferenz $T_{\mathrm{FM}}(I)$ vom Strom als Funktionen 4. Ordnung wird in einem zweiten Ansatz auch für den Parameter $R_{\mathrm{th0}}(I)$ ein Polynom 4. Ordnung gewählt. Damit ergeben sich folgende Modellfunktionen:

$$R_{\mathrm{th}}(\mathrm{dr}, I) = R_{\mathrm{th0}}(a_0, a_1, a_2, a_3, a_4, I) + \frac{\Delta R_{\mathrm{th}}(b_0, b_1, b_2, b_3, b_4, I)}{1 + \frac{\mathrm{dr}}{r(c_0, c_1, I)}} \qquad (15)$$

mit

$$R_{\mathrm{th0}}(I) = a_0 + a_1 I + a_2 I^2 + a_3 I^3 + a_4 I^4$$
$$\Delta R_{\mathrm{th}}(I) = b_0 + b_1 I + b_2 I^2 + b_3 I^3 + b_4 I^4 \qquad (16)$$
$$r(I) = c_0 + c_1 I$$

Abb. 6 zeigt die aus den für verschiedene Anregungsströme I bestimmten Modellwerten $R_{\mathrm{th0}}(I)$, $\Delta R_{\mathrm{th0}}(I)$ und $r(I)$ (7) gewonnenen Funktionen $R_{\mathrm{th0}}(\mathrm{a}_0, \mathrm{a}_1, \mathrm{a}_2, \mathrm{a}_3, \mathrm{a}_4, I)$, $\Delta R_{\mathrm{th}}(\mathrm{b}_0, \mathrm{b}_1, \mathrm{b}_2, \mathrm{b}_3, \mathrm{b}_4, I)$ sowie $r(\mathrm{c}_0, \mathrm{c}_1, I)$.

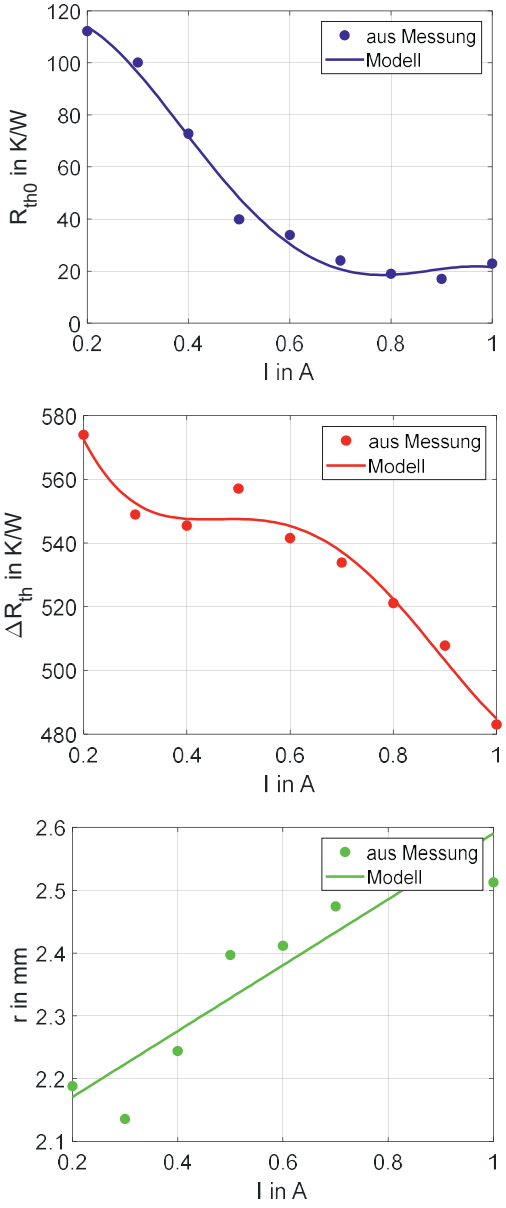


Abb. 6: Mittels hyperbolischem Modellansatz aus Messungen von $R_{\mathrm{th}}(\mathrm{dr}, I)$ bestimmte Parameter $R_{\mathrm{th0}}(I)$, $\Delta R_{\mathrm{t0}}(I)$ und $r(I)$ gemäß (16).

Die relativen Abweichungen $\Delta R_{\mathrm{th}}/R_{\mathrm{th}}$ der Modellwerte gemäß (15) von den Messwerten gemäß (6) sind in Abb. 7 dargestellt.

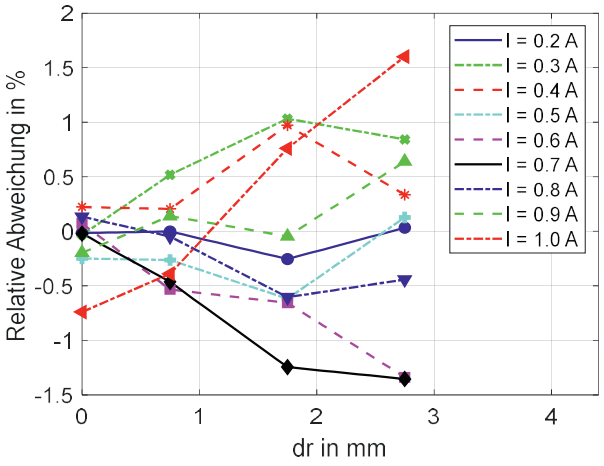


Abb. 7: Relative Abweichungen zwischen den Modellwerten gemäß (15) und den Messwerten gemäß (6)

Die relativen Abweichungen der Modellwerte (15) in Abb. 7 von den Messwerten (6) sind nun kleiner als 1.5 % und plausibilisieren im Vergleich mit den relativen Abweichungen aus Abb. 5 die dargelegten physikalischen Zusammenhänge hinsichtlich der Abhängigkeit der Parameter $R_{\mathrm{th0}}(\mathrm{a}_0, \mathrm{a}_1, \mathrm{a}_2, \mathrm{a}_3, \mathrm{a}_4, I)$ und $\Delta R_{\mathrm{th}}(\mathrm{b}_0, \mathrm{b}_1, \mathrm{b}_2, \mathrm{b}_3, \mathrm{b}_4, I)$ in 4. Ordnung sowie $r(I)$ in 1. Ordnung von I.

Auswertungen zur Selbstüberwachung

Für die bei der Ankopplung des Messfühlers an die Medientemperatur auftretenden Temperaturen lässt sich formulieren: $T_{\mathrm{M}} = T_{\mathrm{F}} - R_{\mathrm{th}} P$, siehe Abb. 2.

Mit dem am unverschmutzten Fühler ermittelten thermischen Widerstand $R_{\mathrm{th}}(\mathrm{d}r = 0)$ sowie der bei Verschmutzung eintretenden Änderung (Verringerung) des thermischen Widerstandes um $\mathrm{d}R_{\mathrm{th}}(\mathrm{d}r)$

$$R_{\mathrm{th}}(\mathrm{d}r) = R_{\mathrm{th}}(\mathrm{d}r = 0) - \mathrm{d}R_{\mathrm{th}}(\mathrm{d}r)$$

folgt für die Korrektion ΔT_{M} der Medientemperatur T_{M}:

$$\begin{aligned} T_{\mathrm{M}} + \Delta T_{\mathrm{M}} &= T_{\mathrm{F}} - R_{\mathrm{th}}(\mathrm{d}r = 0)\, P + \mathrm{d}R_{\mathrm{th}}(\mathrm{d}r)\, P \\ \Delta T_{\mathrm{M}} &= \mathrm{d}R_{\mathrm{th}}(\mathrm{d}r)\, P \end{aligned} \qquad (17)$$

Die für unterschiedliche Verschmutzungsdicken $\mathrm{d}r$ in Abhängigkeit vom Anregungsstrom I ermittelten Temperaturänderungen ΔT_{M} sind in Tab. 1 und Abb. 8 bzw. Abb. 9 angegeben.

Tab. 1: Temperaturänderungen $\Delta T_{\mathrm{M}}(\mathrm{d}r, I)$ in K bei unterschiedlichen Verschmutzungen dr.

	$\mathrm{d}r$ in mm			
$\Delta T_{\mathrm{M}}(I)$ in K	0	0,75	1,75	2,75
$\Delta T_{\mathrm{M}}(0{,}2\ \mathrm{A})$	0	1,4	2,5	3,3
$\Delta T_{\mathrm{M}}(0{,}3\ \mathrm{A})$	0	2,7	4,8	6,5
$\Delta T_{\mathrm{M}}(0{,}4\ \mathrm{A})$	0	4,3	7,9	10,6
$\Delta T_{\mathrm{M}}(0{,}5\ \mathrm{A})$	0	6,4	11,6	16,1

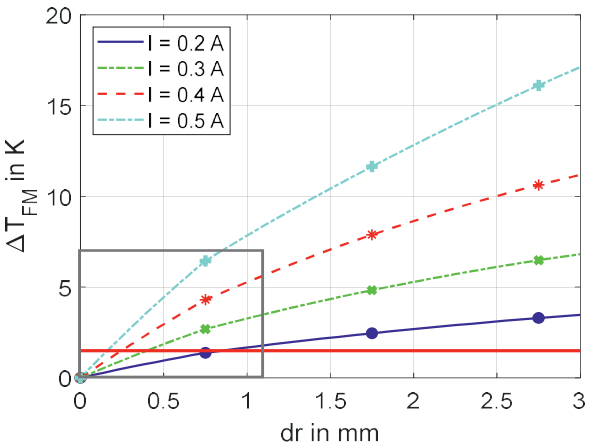


Abb. 8: Berechnete Temperaturänderungen ΔT_{M} bei unterschiedlichen Verschmutzungen $\mathrm{d}r$ als Funktion des Anregungsstroms I. Der hervorgehobene Ausschnitt ist in Abb. 9 dargestellt.

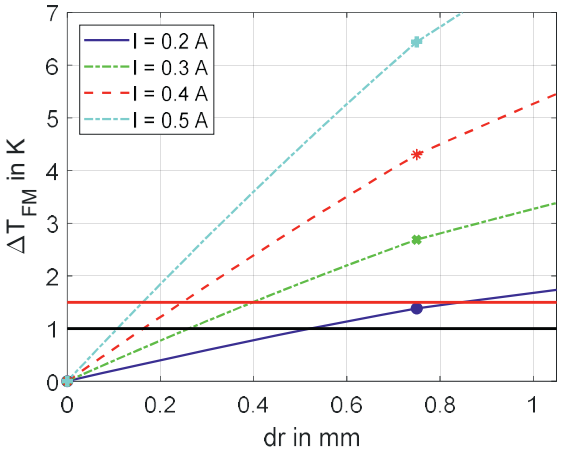


Abb. 9: Ausschnitt aus Abb. 8 zur Verdeutlichung der Temperaturänderung ΔT_{M} als Funktion der Verschmutzung $\mathrm{d}r$ bei unterschiedlichen Anregungsströmen I sowie jeweils einer exemplarisch festgelegten Temperaturabweichung $\Delta T_{\mathrm{M\,S}} = 1{,}0$ K als Schwellwert bzw. $\Delta T_{\mathrm{M\,max}} = 1{,}5$ K als Grenzwert.

Für Temperaturmessfühler werden jeweils Grenzabweichungen – häufig $\Delta T = \pm 1{,}5$ K [19] – definiert, deren Überschreitung zur Auslösung einer Fehlermeldung führt.

In Tab. 2 werden beispielhaft für vier Anregungsströme I die für eine Grenzwertüberschreitung von $\Delta T_{\mathrm{M\,max}} = 1{,}5$ K ermittelten Änderungen des thermischen Widerstandes $\Delta R_{\mathrm{th}}(1{,}5\ \mathrm{K})$ der durch die Verschmutzung verursachte Radiusänderung $\mathrm{d}r$ zugeordnet.

Tab. 2: Verschmutzungsdicken $\mathrm{d}r$ in mm, die den Änderungen $\mathrm{d}R_{\mathrm{th}}(\Delta T_{\mathrm{M}}, \mathrm{d}r)$ bei Grenzwert $\Delta T_{\mathrm{M}} = 1{,}5$ K und unterschiedlichen Anregungsströmen I entsprechen.

I in A	0,2	0,3	0,4	0,5
$dR_{th}(1{,}5\ \mathrm{K})$ in K/W	130	77	47	28
dr in mm	0,8	0,4	0,25	0,15

Zusammenfassung und Ausblick

Im Beitrag wurde ein neuartiges Verfahren zur automatischen Selbstüberwachung von Berührungstemperatursensoren im Betrieb am Beispiel eines weit verbreitet eingesetzten Thermoelementes vorgestellt. Durch die in aller Regel nicht zu vermeidende mit der Einsatzdauer zunehmende Verschmutzung der Oberfläche des Thermoelements verändert sich die thermische Ankopplung an das Medium und die angezeigte Medientemperatur wird fehlerhaft. Diese graduelle Veränderung lässt sich durch die einhergehende Verminderung des thermischen Widerstands des Sensorelements messtechnisch bestimmen.

Mit Hilfe einer auf physikalischen Gesetzmäßigkeiten beruhenden Modellierung des Verhaltens des thermischen Widerstands in Abhängigkeit vom Verschmutzungsgrad lassen sich aufbauend auf aus Messungen gewonnenen Stützstellen Polynomfunktionen der Modellparameter aufstellen, aus denen der Korrekturterm des Messwertes der Medientemperatur um die verschmutzungsbedingte Temperaturerhöhung automatisch berechnet und zur Selbstkalibration verwendet wird. Der vorgeschlagene physikalische Modellansatz zeigt sehr gute Übereinstimmung mit den Messergebnissen.

Zur Selbstüberwachung des Sensorelements dienen Schwellwerte des gemessenen Temperaturanstiegs, aus denen auf die Verschmutzungsdicke geschlossen werden kann. Bei typischen Grenzwerten von 1,5 K für die quasistationäre Temperaturabweichung lassen sich so bei vergleichsweise kleinem Anregungsstrom von 0,2 A schon Verschmutzungsschichten von 0,8 mm detektieren. Mit größeren Anregungsströmen steigt die Empfindlichkeit bezüglich der Verschmutzungszunahme überproportional an.

Mit dem dargestellten Verfahren lassen sich über die Bestimmung des Verschmutzungsgrades hinaus weitere praxisrelevante Ursachen von graduellen Messabweichungen im Betrieb detektieren, z.B. zu geringe oder zu starke thermische Kopplung zum Medium durch eine unzureichende Umströmung des Thermoelementes vom Medium oder eine ungenügende Eintauchtiefe in das Medium, mangelnder thermischer Kontakt (Fläche, Kontaktspalt) bei Oberflächenmessungen oder Abrasion bzw. Korrosion von Fühler oder Schutzrohr (siehe VDE 2650-5).

Darüber hinaus ist das für Thermoelemente vorgestellte Verfahren grundsätzlich auch auf andere thermoresistive Sensorelemente wie z.B. Thermistoren, Pt-100 oder spreading resistance Messfühler anwendbar.

Referenzen

[1] PISTORIUS, J.: Industrie 4.0 – Schlüsseltechnologien für die Produktion, Berlin: Springer Vieweg, 2020.

[2] LEHMANN, H., BERNHHARD F.: Selbstkalibrierende Thermoelemente - Modellierung und Design, Technisches Messen, S. 91–99, 3 1997.

[3] BOGUHN D.: Miniatur-Fixpunktzellen als Basis selbstkalibrierender elektrischer Berührungsthermometer, Dissertation TU Ilmenau, 2002.

[4] BOGUHN, D., BUCHNER, R., SCHALLES M., SEEFELD, P.: Verfahren und Vorrichtung zur in situ Kalibrierung eines Thermometers. Patent DE 102010040039, 01 03 2012.

[5] HASHEMIAN, H. M.: New Technology for Remote Testing of Response Time of Installed Thermocouples: Volume I - Background and General Details, Arnold Engineering Development Center, US Air Force (Hrsg.), Arnold Air Force Base, Tennessee, 1992.

[6] YANG, J. C., CLARKE, D. W.: A Self-Validating Thermocouple, IEEE Transactions on Control Systems Technology, Bd. 5, Nr. 2, S. 239–253, 1997.

[7] BRIXY, H.: Rauschthermometer. Patent DT 23 47 765 C3, 29 7 1976.

[8] BRIXY, H.: Kombinierte Thermoelement-Rauschthermometrie, KFA-Jülich GmbH, Jülich, 1986.

[9] WHITE, D. R., GALLEANO, R., ACTIS A.: The status of Johnson noise thermometry, Metrologica, Nr. 33, S. 325–335, 1996.

[10] FEDOSOV I.I.: Thermocouple Condition Monitoring Using Thermocouple Resistance. Experimental Study, in: Ural Symposium on Biomedical Engineering, Radioelectronics and Information Technology, 2020.

[11] FELKL, D., HORN, M., KARGEL, C.: Selbstüberwachung von Thermoelementen durch Messung des Wärmewiderstandes, Technisches Messen, Bd. 82 (9), S. 463–475, 2015.

[12] HORN, M.: Bestimmung der thermischen Impedanz ohmscher Bauelemente aus periodischen Strom-Spannungs-Messungen, in: 13. ITG/GMA-Fachtagung Sensoren und Messsysteme, Berlin: VDE, 2006.

[13] KUNTNER, J., KOHL, F., JAKOBY, B.: Simultaneous thermal conductivity and diffusivity sensing in liquids using a micromachined device, Sensors and Actuators A 130–131, S. 62-67, 2006.

[14] ZHOU, K., LI J., WANG W.: A Self-Test, Self-Calibration and Self-Repair Methodology of Thermopile Infrared Detector. Electronics 10, 1167, 2021.

[15] HORN, M., LAZUARDI U., RUSER, H.: Self-controlled PTC sensor for reliable overfill protection of liquids, IEEE Instrumentation and Measurement Technology Conference, Anchorage, AK, USA, 2002.

[16] GRIGULL, U., SANDNER, H.: Wärmeleitung, Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag, 1990.

[17] CHAVEZ, J.A., ORTEGA, J. A., SALAZAR, J., TURO A., GARCIA M. J.: SPICE model of thermoelectric elements including thermal effects, IEEE Instrumentation and Measurement Conf., S. 1019-1023, 2000.

[18] SCHMIDT, E.F.: Unkonventionelle Energiewandler, Berlin: Elitera-Verlag, 1975.

[19] DIN EN 60584-1:2014-07 Thermoelemente - Teil 1: Thermospannungen und Grenzabweichungen.

DOI 10.5162/15dss2021/P13.4

Entwicklung eines kostengünstigen Gaschromatographie-Systems für die Messung von Reifegas mit Kompensation der Temperatureinflüsse auf die Säule.

Maximilian Köhne[1], Gina Zeh[1], Christopher Schmidt[1] und Tilman Sauerwald[1,2]

[1]Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung, Freising, Deutschland
[2]Universität des Saarlandes, Saarbrücken, Deutschland
Kontakt: maximilian.koehne@ivv.fraunhofer.de

Einleitung

Ethen (auch Ethylen genannt) besitzt als Phytohormon eine hohe Bedeutung für den Reifungsprozess klimakterischer Früchte. Es fördert die Fruchtreife, kann aber auch die Seneszenz einleiten und somit zum Verderb der Früchte beitragen [1, 2]. Dabei wirkt das Ethen selbstverstärkend, da es zum einen die Reife induziert und zum anderen als Stoffwechselprodukt mit der fortschreitenden Reife gebildet wird [3]. Neben seiner Eigenschaft als Hormon kann es daher auch als Marker für den Reifungsgrad der Früchte und somit für deren Qualität herangezogen werden. Eine Überwachung der Ethenbildung nach der Ernte kann somit die Fruchtqualität sicherstellen und die Entwicklung der Fruchtqualität prognostizieren [4, 5].

Deswegen spielt die Messung von Ethen als Reifungsgas klimakterischer Früchte, wie Äpfel, Avocados, Tomaten, Bananen, etc. im *fefo*-Prozess (*first expired first out*, engl. für „*zuerst abgelaufen zuerst raus*“) in der Lebensmittellogistik eine zentrale Rolle zur Vermeidung unnötiger Abfälle [6, 7]. Durch z.B. weite Transportwege tropischer Früchte von Südamerika nach Europa und dem aktuell gängigen *first in first out* (engl. für „*zuerst rein, zuerst raus*“) Prinzip, entstehen jährlich größere Mengen an Abfall durch den frühzeitigen Verderb einiger Chargen. Dabei können durch den *fefo*-Prozess im Reifungsstadium weiter fortgeschrittene Obstchargen mithilfe der Ethendetektion früher in den Handel gelangen als unreifere Chargen. Die Wahrscheinlichkeit des Verderbs ganzer Chargen wird so durch eine produktspezifischere Zustandserkennung verringert, was die entstehende Abfallmenge reduzieren kann [5, 8, 9].

Kleine, analytische Geräte, wie kostengünstige Gaschromatographen (GCs) können daher zur Zustandserkennung der Reife klimakterischer Früchte durch die Ethendetektion beitragen [9–12]. Gaschromatographen sind dabei nötig, um eine ausreichend gute Unterscheidung des Ethens von anderen Gasen und Störfaktoren wie Feuchtigkeit zu erzielen [9]. Um aber solche kleinen GCs in einem größeren Umfang einsetzen zu können, müssen diese zum einen miniaturisiert und robust gestaltet werden. Zum anderen ist ein geringer Bauteilaufwand für die Kostenersparnis der GCs erforderlich. Eine Möglichkeit zur Kostenreduktion besteht dabei in einer Kompensation der Temperatureinflüsse auf die Säule der GC-Einheit. Eine normalerweise nötige präzise Temperaturregelung der Säule wird überflüssig, wodurch Bauteile und Materialkosten eingespart werden können. Im Rahmen der Entwicklung eines miniaturisieren GCs für die Ethenmessung mit einer PLOT-Säule (engl. *porous layer open tubular; poröse Schicht, offenes Rohr*) und zwei IR-Detektoren, wurde daher die Kompensation der Temperatureinflüsse durch die Retentionsindizes von Test- und Referenzgasen auf einer GC-Säule modelliert und anschließend an einem klassischen GC mit einem *Pulsed Discharge Detektor* (PDD) getestet. Als Referenzgas wurde dabei natürlich vorkommendes CO_2 gewählt, da es ubiquitär und leicht detektierbar ist.

Temperaturkompensationsmodell

Die aus den Messdaten berechnete Abhängigkeit der Gase voneinander ermöglicht die Bestimmung der Ethen-Retentionszeit (RT_{Ethen}) anhand der CO_2-Retentionszeit (RT_{CO_2}) und damit die Berechnung eines von der Säulentemperatur unabhängigen Parameters. Die Berechnung erfolgt über eine van't Hoff Gleichung. Dabei werden die Entropie *S* und die Enthalpie *H*, die den Sorptionsprozess beschreiben, mit Hilfe des temperaturabhängigen Gleichgewichtskoeffizienten K berechnet (1).

$$\Delta H^0 - T\Delta S^0 = -RT * ln(K(T)) \qquad (1)$$

Praktisch lassen sich diese Parameter als Koeffizienten der Geradengleichung von $\ln\left(K\left(\frac{1}{T}\right)\right)$ bestimmen (2):

$$\ln\left(K\left(\frac{1}{T}\right)\right) = -\frac{\Delta H^0}{R} * \frac{1}{T} + \frac{\Delta S^0}{R} \qquad (2)$$

Der Gleichgewichtskoeffizient K kann über einfache Testmessungen am GC bestimmt werden und ist proportional zum Nettoretentionsvolumen V_r' und bei konstantem Fluss ϑ zur Nettoretentionszeit t_r' (3).

$$K = \frac{V_r'}{V_S} = \frac{\vartheta * t\prime_r}{V_S} = \frac{\vartheta * (t_r - t_0)}{V_S} \qquad (3)$$

Die Nettoretentionszeit t_r' ist die Differenz aus der (gemessenen) Bruttoretentionszeit t_r, und der Totzeit t_0. Die Totzeit lässt sich guter Näherung aus der Retentionszeit von Stickstoff bestimmen, da dieser mit der hier verwendeten PLOT-Säule kaum interagiert. Durch die Testmessungen mit dem entsprechenden Referenzgas und dem Testgas lassen sich

also die entsprechenden Adsorbtionsenthalpien und die Entropien der jeweiligen Gase auf der gewählten Säule bestimmen. Durch Auflösung der Gleichung (2) nach $\frac{1}{T}$ können die entsprechenden Terme für CO_2 und Ethen gleichgesetzt werden. Man erhält so Gleichung (4):

$$-\frac{\ln(K_E)R}{\Delta H_E^0} + \frac{\Delta S_E^0}{\Delta H_E^0} = -\frac{\ln(K_C)R}{\Delta H_C^0} + \frac{\Delta S_C^0}{\Delta H_C^0} \qquad (4)$$

Wobei der Index E für Ethen und der Index C für CO_2 steht. Durch das Auflösen von (4) nach K_E erhält man:

$$K_E = exp\left(\left[\frac{\ln(K_C)\,R - \Delta S_C^0}{\Delta H_C^0}\right] * \frac{\Delta H_E^0}{R} + \frac{\Delta S_E^0}{R}\right) \qquad (5)$$

Mithilfe der Gleichungen (3) und (5) lässt sich nun die Retentionszeit des Ethens in Abhängigkeit der Retentionszeit des CO_2 prognostizieren:

$$t'_{rE} = \frac{V_s}{\vartheta} * exp\left(\left[\frac{\ln\left(\frac{t'_{rC}*\vartheta}{V_S}\right)*R - \Delta S_C^0}{\Delta H_C^0}\right] * \frac{\Delta H_E^0}{R} + \frac{\Delta S_E^0}{R}\right) \qquad (6)$$

So ist es nun möglich mithilfe der Retentionszeit des CO_2 die Retentionszeit des Ethens vorherzusagen.

Methoden und Materialien

Zum Test des beschriebenen Kompensationsalgorithmus und zur Ermittlung der notwendigen Parameter wurden Messungen mit CO_2 und Ethen als Referenz- und Testgas durchgeführt. Dazu wurden 100 µL/L Ethen (Testgas) mittels einer gasdichten Spritze (Hamilton, Gastight, 100 µL) in eine Gasmesszelle (4 L Volumen) injiziert (siehe Abb. 1). Als Referenzgas wurde in der Umgebungsluft vorkommendes CO_2 (ca. 400 ppm) gewählt, da es zusammen mit der gesamten Gasprobe aus der Gasmesszelle über die Gasdosierschleife der GC-Einheit entnommen werden konnte. Außerdem kann CO_2 so auch für miniaturisierte GC-Systeme zugänglich gemacht werden. Die Entnahmemenge pro Messung betrug 5 mL. Zur gleichmäßigen Gasdurchmischung wurde ein Magnetrührer mit einem Segel aus Aluminiumfolie (5 x 5 cm) ausgestattet und die Probe vor jeder Messung bei 1200 U/min für 7 min gerührt. Die temperaturabhängigen Retentionszeiten des Testgases Ethen und des Referenzgases CO_2 wurden anschließend in einem GC (Fisons Instruments, GC 8000 series) mit einer GS-Q Säule (GS-Q Megabore, 0,53 mm ID, J&W Scientific) und einem PDD (VICI Valco Instruments Co. Inc.) auf einem Helium-Trägergasstrom gemessen. Der Detektor gibt dabei ein Wandlersignal im mV Bereich aus. Zur Erstellung des van't Hoff Diagramms wurden je drei Messungen bei 32 °C (betrieblich bedingtes Minimum des GC-Ofens), 35 °C und in 5 °C Schritten bis 50 °C gemessen. Zur Überprüfung des van't Hoff Diagramms wurden außerdem die Temperaturen 37 °C, 42 °C (Interpolation) und 60 °C, sowie 70 °C (Extrapolation) gemessen.

Tab. 1: Zusammensetzung Störgasmischung

Gas-Komponente		Menge
O_2	(Sauerstoff)	5000 Vol. ppm
C_2H_2	Ethin (Acetylen)	5000 Vol. ppm
CO	Kohlenstoffmonoxid	5 Vol. %
CH_4	Methan	5 Vol. %
CO_2	Kohlenstoffdioxid	5 Vol. %
C_2H_4	Ethen	5 Vol. %
C_2H_6	Ethan	5 Vol. %
N_2	Stickstoff	5 Vol. %
He	Helium	Rest

Für die Messungen mit Störgasen wurden zusätzlich zu den 100 µL/L Ethen 16 ml aus einer Gasmischung (Westfalen AG, Zusammensetzung siehe Tab. 1) injiziert. Die Messungen erfolgten bei 32 °C, 35 °C und anschließend in 5 °C Schritten bis 70 °C. Die Identifikation des Ethens erfolgte mittels der in der ersten Messung bestimmten van't Hoff Diagramme.



Abb. 1: Gasmesszelle. Links mit Segel am Magnetrührer, Rechts mit Äpfeln und Avocados gefüllt.

Um die reale Anwendung zu überprüfen, wurden drei Äpfel (unbehandelt, Einwaage 322 g) in die Gasmesszelle gelegt und deren Gasemission gemessen (Abb. 1). Dazu wurde dreimal bei 32 °C eine Probe entnommen. Eine weitere Probennahme erfolgte 7 h nach Beginn der Messung bei ebenfalls 32 °C. Der Ethenpeak wurde wie bei der Störgasmessung mittels der Basisdaten aus dem van't Hoff Diagramm bestimmt. Das dargestellte Beispiel ist aus der Messungen nach 7 h. Außerdem wurden Avocados (3 Stück, Einwaage 837 g) in die Gasmesszelle eingelagert und deren Gasemission ebenfalls gemessen (Abb. 1). Dazu wurde an Tag 6, 8 und 11 je dreimal bei 32 °C eine Probe entnommen. Der Ethenpeak wurde wie bei den vorangegangenen Messungen mittels der Basisdaten aus dem van't Hoff Diagramm bestimmt. Die dargestellten Beispiele sind für die Messungen aus Tag 8.

DOI 10.5162/15dss2021/P13.4

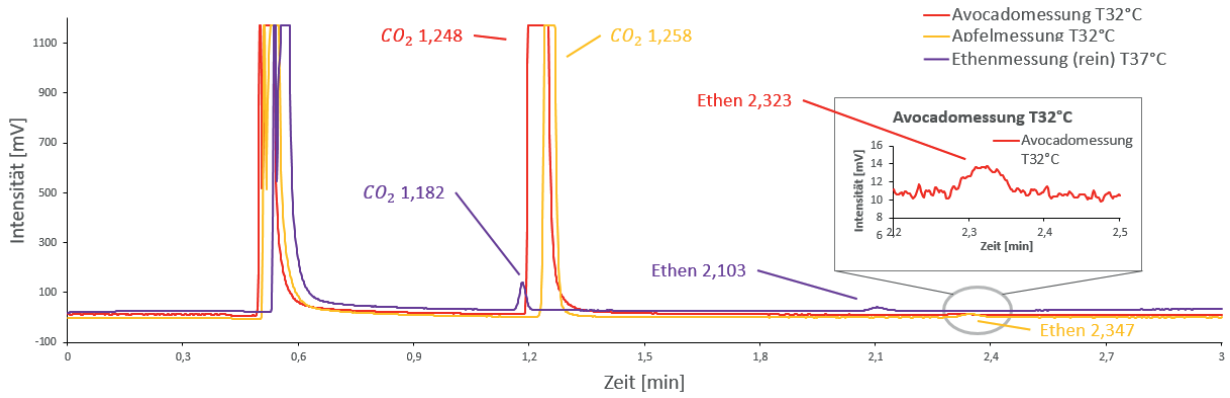


Abb. 2: Chromatogramme aus Apfelmessung (gelb), Avocadomessung (rot) und Ethenmessung (rein, lila)

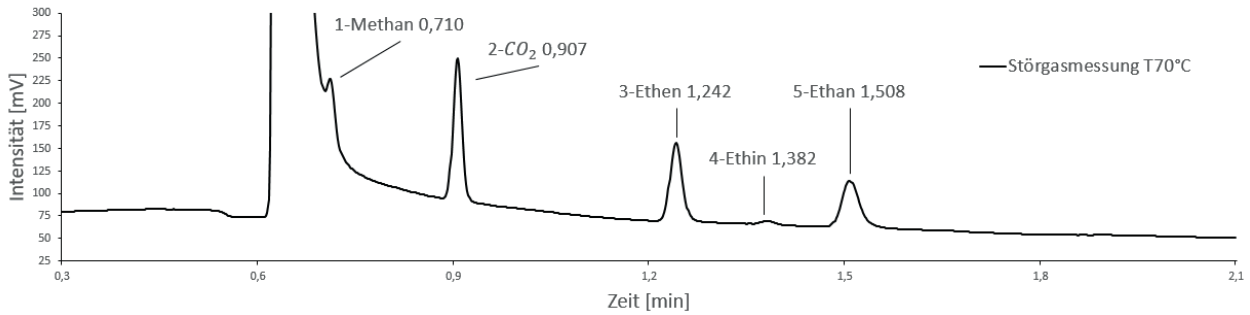


Abb. 3: Chromatogramm der Störgasmessung

Ergebnisse

Die ersten Messungen des reinen Ethens und des CO_2 unter verschiedenen Temperaturen liefern die Basisdaten, aus denen sich das spezifische van't Hoff Diagramm ergibt (siehe Abb. 4). Die daraus ermittelten Enthalpien und Entropien für CO_2 und Ethen auf der entsprechenden GS-Q Säule wurden anschließend zur Ermittlung der Prognoseretentionszeiten via (6) verwendet.

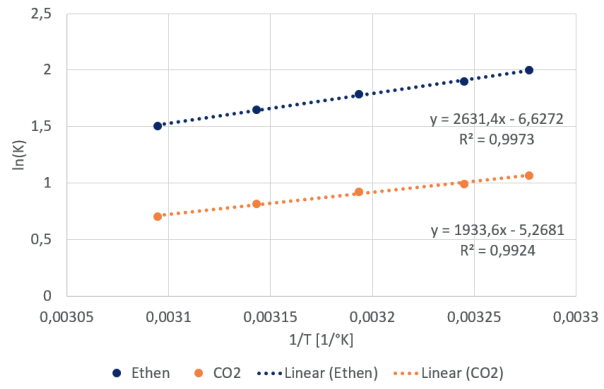


Abb. 4: van't Hoff Diagramm für Ethen (blau) und CO_2 (gelb) auf der GS-Q Säule

Dabei wurden für die Enthalpie Werte von 16.075,95 $\left[\frac{J}{mol}\right]$ (ΔH^0_{CO2}) und von 21.877,46 $\left[\frac{J}{mol}\right]$ ($\Delta H^0_{Ethylen}$) ermittelt. Für die Entropie ergaben sich die Werte von -43,80 $\left[\frac{J}{mol}\right]$ (ΔS^0_{CO2}) und -55,10 $\left[\frac{J}{mol}\right]$ ($\Delta S^0_{Ethylen}$). Die Messung mit Störgasen bei verschiedenen Säulentemperaturen zeigen, dass eine Identifikation des Testgaspeaks bei Anwesenheit weiterer unbekannter Peaks ebenfalls möglich ist.

Tab. 2: Gemessene und prognostizierte Retentionszeiten Ethen

	RT CO_2 gemessen [min]	RT Ethen gemessen [min]	RT Ethen prognostiziert [min]
Blank T 37 °C	1,182	2,103	2,151
Störgase T 70 °C	0,907	1,242	1,264
Apfel T 32 °C	1,258	2,347	2,390
Avocado T 32 °C	1,248	2,323	2,427

Ein Beispiel ist bei einer Messung der Störgase mit einer Säulentemperatur von 70 °C in Abbildung 3 zu finden. Anschließend wurde eine Messung der Avocados und eine

Messung der Äpfel bei mehreren Temperaturen durchgeführt. In beiden Fällen ließ sich ein Ethenpeak detektieren. Die Messergebnisse für 32 °C sind in Abbildung 2 zu finden. Die auf Basis der finalen Gleichung prognostizierten Retentionszeiten und die tatsächlich gemessenen Retentionszeiten sind in Tabelle 2 nebeneinander dargestellt.

Diskussion

Bei Betrachtung der Ethen-Blankmessung ist zu erkennen, dass der prognostizierte Peak mit RT_{Ethen} 2,151 min. dem tatsächlich gemessenen Peak mit 2,103 min. sehr nahe liegt (RT_{CO2} lag bei 1,182 min.). Ebenso fällt bei der Störgasmessung auf, dass die berechnete RT_{Ethen} von 1,264 min. eindeutig auf dem Ethenpeak (bei 1,242 min.) liegt (RT_{CO2} lag bei 0,907 min.). Durch die Abhängigkeit der beiden Retentionszeiten (Testgas und Referenzgas) voneinander kann so eine Prognose über die RT_{Ethen} ausgehend von der RT_{CO2} auf dieser Säule durchgeführt werden.

Die Messung der pflanzlichen Proben (Äpfel in Raumluft) zeigt ebenfalls eine klare Übereinstimmung der gemessenen und der berechneten RT_{Ethen}. So konnte bspw. für 7h bei Raumtemperatur gelagerte Äpfel ein RT_{Ethen} von 2,390 min. bei einer Säulentemperatur von 32 °C berechnet werden, während der gemessene Wert bei 2,347 min lag (RT_{CO2} lag bei 1,258 min.). Für die Avocados wurde ein Wert von 2,427 min. prognostiziert, der tatsächlich gemessene Wert war mit 2,323 min. dem beinahe übereinstimmend (RT_{CO2} lag hier bei 1,248 min.).

Die auftretenden, kleinen Abweichungen, die sich meist in der zweiten und dritten Nachkommastelle ergeben, könnten durch Messungenauigkeiten des GCs, wie eine schwankende Raumtemperatur in der Probe, oder auf eine sich verändernde Luftfeuchtigkeit zurückzuführen sein. Die in den Rechnungen verwendete Totzeit zur Unterscheidung zwischen Brutto- und Nettoretentionszeit ist vermutlich eine weitere mögliche Ursache der Abweichungen in den prognostizierten Retentionszeiten. Da die experimentelle Totzeit etwas variiert, wurde eine mittlere Totzeit zur Bestimmung der Nettoretentionszeiten verwendet. Die dadurch entstehenden Abweichungen beeinflussen den Fehler in der Prognose zusätzlich. Daher sollte in einem zukünftigen Anwendungsfall eine vorher genaue Bestimmung der Totzeit durch eine kontinuierlich exakte Probennahme sichergestellt werden.

Da insgesamt jedoch zu jeder Prognose eindeutig ein Peak zugeordnet werden konnte, ist die hier aufgezeigt Methode zur Berechnung der Retentionsindices in Abhängigkeit der Retentionsindizes weiterer Gase gut umsetzbar. Die Vorhersage der RT_{Ethen} erfolgte mit guter Genauigkeit, unabhängig der tatsächlichen Säulentemperatur (hier exemplarisch bei zweimal 32 °C, 37 °C und 70 °C aufgezeigt), unabhängig der Anwesenheit von Störgasen, oder unabhängig des Ethenursprungs (pflanzlich oder chemisch). Diese einfache und präzise Temperaturkompensation ermöglicht damit die Realisierung kostengünstiger und effektiver GC Systeme.

Danksagung

Die Arbeiten wurden vom Bayerischen Staatsministerium für Wirtschaft, Landesentwicklung und Energie gefördert im Rahmen des Projekts „*Campus der Sinne*“.

Interessenskonflikte

Die Autoren bestätigen hiermit, das keinerlei mögliche Interessenskonflikte bei der Erstellung dieser Arbeit vorlagen.

Literatur

[1] V. Paul, R. Pandey, Role of internal atmosphere on fruit ripening and storability-a review, *Journal of food science and technology* (2014), *51*, *7*, 1223 – 1250.

[2] De Biasio, M., Leitner, R., Krall, C., Krivec, M., Wilk, A., Mizaikoff, B., Waldner, R., Starmans, F. & Maier, D., Ethylene gas sensing using non-dispersive infrared spectroscopy, *IEEE Sensors J.* (2016), 1 – 3.

[3] A. Sklorz, Dow, AB Alamin, D. Mrugala, R. Jedermann, W. Benecke, W. Lang, In-situ Ethylen-Konzentrationsmesssysteme für die Qualitätsüberwachung in der Fruchtlogistik, *DFMRS Fachtagung* (2008), *50*.

[4] F. Lucklum, S. Janssen, W. Lang, M. J. Vellekoop, Miniature 3D Gas Chromatography Columns with Integrated Fluidic Connectors Using High-resolution Stereolithography Fabrication, *Procedia Engineering* (2015), *120*, 703 – 706.

[5] W. Lang, R. Jedermann, D. Mrugala, A. Jabbari, B. Krieg-Brückner, K. Schill, The “Intelligent Container”—A Cognitive Sensor Network for Transport Management, *IEEE Sensors J.* (2011), *11*, *3*, 688 – 698.

[6] S. Janssen, K. Schmitt, M. Blanke, M. L. Bauersfeld, J. Wöllenstein, W. Lang, Ethylene detection in fruit supply chains, *Philosophical transactions. Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences* (2014), *372*, *2017*.

[7] A. Sklorz, S. Janssen, W. Lang, Application of a miniaturised packed gas chromatography column and a SnO2 gas detector for analysis of low molecular weight hydrocarbons with focus on ethylene detection, *Sensors and Actuators B: Chemical* (2013), *180*, 43 – 49.

[8] S. Janssen, T. Tessmann, W. Lang, High sensitive and selective ethylene measurement by using a large-capacity-on-chip preconcentrator device, *Sensors and Actuators B: Chemical* (2014), *197*, 405 – 413.

[9] S. Janben, T. Tebmann, M. Nieben, A. Sklorz, W. Lang, Large-capacity-on-chip preconcentrator device for selective ethylene measurement below 400 PPBV, *In 2013 Transducers & Eurosensors XXVII: The 17th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (TRANSDUCERS & EUROSENSORS XXVII)*, 2771 – 2774.

[10] N. A. Zaidi, M. W. Tahir, M. J. Vellekoop, W. Lang, A Gas Chromatographic System for the Detection of Ethylene Gas Using Ambient Air as a Carrier Gas, *Sensors (Basel, Switzerland)* (2017), *17*, *10*.

[11] R. Jedermann, T. Poetsch, W. Lang, Smart Sensors for the Intelligent Container, *In Smart SysTech 2014; European Conference on Smart Objects, Systems and Technologies (pp. 1-2). IEEE*, 1 – 2.

[12] A. Eberhardt, M.-L. Bauersfeld, K. Schmitt, J. Wöllenstein, Filterrotationsspektrometer für den Nachweis von Ethen im ppb-Bereich, *tm - Technisches Messen* (2020), *87*, *3*, 164 – 176.