

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Naturwissenschaftlich-Mathematischen Gesamtfakultät

der

Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

vorgelegt von

Diplom-Chemiker Meik Ranft

aus Giessen

Tag der mündlichen Prüfung: 02. Juli 2001

**Präparation funktionalisierter, mikrostrukturierter
Hydrogele zum Nachweis von
pH-Änderungen und enzymatischen Reaktionen
mittels beugungsoptischer Methoden**

Gutacher: Prof. Dr. MICHAEL GRUNZE
Prof. Dr. RÜDIGER N. LICHTENTHALER

für Daniela

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Literaturverzeichnis.....	3
2	Status Quo - Einführung.....	5
2.1	Die Entwicklung des beugungsoptischen Sensors	5
2.2	Themenstellung und Motivation	6
2.3	Hydrogele und ihre Anwendungen	8
2.4	Literaturverzeichnis.....	12
3	Probenpräparation und Mikrostrukturierung.....	15
3.1	Die Methoden der Softlithographie.....	15
3.2	Das Mikroformen in Kapillaren	16
3.2.1	Die Herstellung der Stempel	16
3.2.2	Die Eigenschaften von Poly(dimethylsiloxan).....	18
3.2.3	Die Herstellung von Mikrostrukturen durch MIMIC.....	19
3.2.4	Theoretische Betrachtung des MIMIC Prozesses	21
3.3	Die Probenpräparation	23
3.3.1	Immobilisierung von Hydrogel-Mikrostrukturen	23
3.3.2	Die Zusammensetzung der Monomerlösungen.....	26
3.3.3	Die Herstellung mikrostrukturierter Hydrogel-Proben	28
3.4	Literaturverzeichnis.....	29
4	Immobilisierung von Hydrogelen auf Oberflächen.....	31
4.1	Methoden der kovalenten Bindung von Polymeren an Substrate	31
4.2	Die Untersuchungsmethode	35
4.3	Die Probenpräparation	35
4.3.1	Die Vorbereitung der Substrate.....	35
4.3.2	Die Herstellung des Hydrogel-Sandwich-Systems	36
4.4	Ergebnisse	38
4.5	Zusammenfassung.....	42
4.6	Literaturverzeichnis.....	43

5	Quellungsstudien an P(MAA-g-EG)-Hydrogelen.....	45
5.1	Mechanismen des Quellens und Schrumpfens.....	46
5.2	Die besonderen Eigenschaften des P(MAA-g-EG)-Hydrogels	47
5.3	Die Präparation der Proben	49
5.3.1	Die Zusammensetzung der Monomerlösung	49
5.3.2	Die Herstellung der Hydrogelscheiben	49
5.4	Die Durchführung der Quellungsexperimente	50
5.4.1	Die Vorbereitung der Quellungsexperimente	50
5.4.2	Das Quellverhalten in Abhängigkeit von der NaCl-Konzentration	51
5.4.3	Das Quellverhalten in Abhängigkeit vom pH-Wert	53
5.5	Ergebnisse	54
5.6	Diskussion der Ergebnisse	56
5.7	Literaturverzeichnis	58
6	Beugungsoptische Messungen	59
6.1	Beschreibung der Beugungsapparatur	59
6.2	Das Funktionsprinzip des beugungsoptischen Sensors.....	60
6.3	FOURIER-Optik	62
6.3.1	Die FOURIER-Transformation.....	62
6.3.2	Die FRAUNHOFERSche Beugung.....	65
6.3.3	Beugung am Einzelspalt.....	66
6.3.4	Beugung am Doppelspalt	67
6.3.5	Beugung am Gitter	68
6.4	Messungen mit der beugungsoptischen Apparatur	69
6.4.1	Auswertung der Messdaten	70
6.4.2	Anmerkungen zum Fitten der Kurven	71
6.4.3	Allgemeine Anmerkungen zu den Messungen	71
6.5	Messungen an pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogelen.....	72
6.5.1	Untersuchungen zum Einfluss der Ionenstärke und des pH-Werts.....	72
6.6	Glucose-Messungen	85
6.6.1	Messungen an glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogelen.....	85
6.6.2	Messung an einem pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogel.....	89
6.6.3	Messung mit einem optimierten glucose-sensitiven Gel	91
6.6.4	Messung an einem pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogel.....	92
6.7	Diskussion der Ergebnisse	95
6.8	Literaturverzeichnis	98

7	Zusammenfassung und Ausblick	99
7.1	Literaturverzeichnis.....	104
8	Anhang.....	107
8.1	Abkürzungen.....	107

1 Einleitung

Die Möglichkeiten zur Erzeugung von Strukturen im Mikrometer- und Nanometermaßstab gewinnen immer mehr an Bedeutung. Besonders deutlich wird dies in der Mikroelektronik, wo mit immer kleineren Strukturen immer leistungsfähigere Systeme erzeugt werden. Dieser Trend der Miniaturisierung, der zur Leistungssteigerung integrierter Halbleitersysteme notwendig ist, gehorcht recht gut einer Vorhersage von G. MOORE, der bereits 1965 [1, 2] davon ausging, dass die Anzahl der Transistoren, die sich auf einem Chip befinden, etwa alle 18 bis 24 Monate verdoppelt wird. Diese Vorhersage, die sich über die vergangenen Jahrzehnte hinweg erfüllt hat, wird als MOORESches *Gesetz* bezeichnet. Im Bereich der Mikroprozessoren trifft die Vorhersage von MOORE fast zu. Hier hat eine Verdoppelung der Transistorenzahl seit der Einführung des 4004 von Intel im Jahre 1972 etwa alle 26 Monate stattgefunden [1].

Die Leistungssteigerung, die mit einer Miniaturisierung verbunden ist, beschränkt sich aber nicht nur auf Anwendungen aus dem Gebiet der integrierten Halbleitersysteme. In vielen Bereichen der Technik und Naturwissenschaften haben die Methoden der Miniaturisierung die Entwicklung neuer Systeme ermöglicht. Die Vorteile, die allgemein mit einer Miniaturisierung einhergehen, sind eine erhöhte Flexibilität und die Reduktion des Zeitbedarfs, der Kosten, der Reagentienmenge, der Probengröße sowie des Energieverbrauchs [3].

Die vorliegende Arbeit beschreibt die Entwicklung eines Sensorsystems unter der Ausnutzung nicht-photolithographischer Strukturierungsmethoden – sogenannter soft-lithographischer Methoden [3]. Die Mikrostrukturtechnik in Verbindung mit beugungsoptischen Verfahren wird hier zum Aufbau eines pH- und Glucose-Sensors auf der Basis wasserquellbarer Polymernetzwerke, sogenannter Hydrogele, eingesetzt. Das beugungsoptische Verfahren hat seine Funktionsfähigkeit bereits in einer ersten Anwendung als Hygrometer [4, 5], als Gasphasensensor [5-7] und zum Nachweis von Mikroorganismen [8, 9] unter Beweis gestellt.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, das beugungsoptische Sensorkonzept zu erweitern und damit die Basis dieser neuen Methode auszubauen. Die bisherigen Anwendungen waren unspezifisch und nicht in der Lage, gezielt einzelne Substanzen nachzuweisen. Daher soll hier unter Ausnutzung der Quellungseigenschaften von Hydrogelen ein System entwickelt werden, das durch die Funktionalisierung mit Enzymen selektiv auf bestimmte Substanzen reagieren kann. Zunächst soll dies am Beispiel eines pH- und Glucose-Sensors gezeigt werden. Grundsätzlich kann dieses Konzept aber auch auf andere Fragestellungen angewendet werden.

Zusätzlich zur Sensoranwendung kann das beugungsoptische Verfahren zur schnellen und einfachen Charakterisierung bezüglich des Quellungsverhaltens von Polymernetzwerken eingesetzt werden. Von besonderem Interesse ist dies in vielen Bereichen,

in denen Hydrogele eingesetzt werden, wie beispielsweise bei der Anwendung als Medikamentenapplikationssysteme, sogenannte *drug delivery systems* [10], oder auch bei der Anwendung als künstliche Muskeln [11]. Darauf wird im folgenden Kapitel näher eingegangen.

Besondere Bedeutung in diesem beugungsoptischen Sensorprinzip haben die Hydrogele, die als aktive Sensormatrix mit der Fähigkeit zur Änderung ihres Quellungszustandes wesentlich die Empfindlichkeit des Systems beeinflussen. Das hier verwendete pH-sensitive P(MAA-*g*-EG)-Hydrogel wurde bereits von HASSAN *et al.* [12] vorgestellt.

Um die Hydrogelmatrix in mesoskopischen Dimensionen zu strukturieren, wird das Verfahren des Mikroformen in Kapillaren (micromolding in capillaries, MIMIC) eingesetzt, das von XIA UND WHITESIDES [3] mit anderen nicht-photolithographischen Verfahren unter dem Begriff *Softlithographie* subsumiert wurde. Mit diesem Verfahren lassen sich auf ebenen oder gewölbten Oberflächen dreidimensionale Mikrostrukturen erzeugen [3]. Ein elastomeres Stempelmaterial, das eine Struktur im Mikrometermaßstab trägt, wird auf ein Substrat aufgebracht. Dadurch entstehen zwischen dem Substrat und dem Stempel viele Kanäle, die mit einer Monomerlösung durch Kapillarkräfte gefüllt werden. Nach dem Aushärten des Polymervorläufers und dem Entfernen des Stempels ist eine dreidimensionale Struktur eines Polymers auf dem Substrat entstanden.

Durch die Anwendung der Mikrostrukturtechnik und unter Ausnutzung der chemischen und physikalischen Eigenschaften von Oberflächen und Polymeren in Verbindung mit beugungsoptischen Verfahren wird hier ein System vorgestellt, dessen Anwendungspotenzial weit über die reine Sensoranwendung hinaus geht.

In dieser Arbeit steht die Erweiterung des beugungsoptischen Sensorsystems auf der Basis mikrostrukturierter Hydrogele im Vordergrund. Das verallgemeinerte Funktionsprinzip eines (bio)chemischen Sensorsystems ist in Abbildung 1-1 dargestellt.

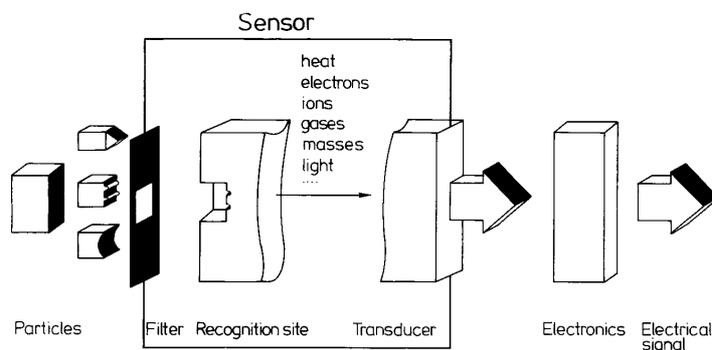


Abbildung 1-1 Schematische Darstellung eines selektiven Sensors. Der Sensor wandelt den chemischen Zustand, z.B. die Konzentration einer Spezies in ein elektrisches Signal um. Entnommen aus [13].

Es wird ein chemischer Zustand, wie z.B. eine Konzentration oder der Partialdruck einer Substanz, in ein elektrisches Signal umgewandelt und detektiert. Ein selektiv arbeitender Sensor detektiert dabei aus einem Gemisch verschiedener Substanzen nur eine Komponente. Das hier vorgestellte beugungsoptische Sensorkonzept funktioniert in vergleichbarer Art und Weise. Auch hier wird ein chemischer Zustand, nämlich die Konzentration einer Spezies, in ein Signal in Form einer Intensitätsänderung umgewandelt. Das Funktionsprinzip wird detailliert im folgenden Kapitel dargestellt.

Abschließend seien die wichtigsten Eigenschaften, die ein Sensorsystem erfüllen sollte, aufgeführt. Ein Sensor sollte unter anderem:

- eine hohe Empfindlichkeit auf die nachzuweisende Substanz,
- eine hohe Selektivität und eine geringe Empfindlichkeit auf Fremdsubstanzen,
- schnelle Ansprechzeiten,
- und möglichst ein reversibles Verhalten (Wiederverwendbarkeit) zeigen.

Inwieweit das hier vorgestellte Konzept diesen Anforderungen genügt, ist im Wesentlichen von der Zusammensetzung der verwendeten Sensormatrix abhängig. Die einzelnen Aspekte wie Empfindlichkeit, Ansprechzeit und reversibles Verhalten des Sensorsystems werden im Zusammenhang mit den Messungen diskutiert.

1.1 Literaturverzeichnis

- [1] H. BÖGEHOLZ UND W. STIELER, *Die nächste Generation - Computertechnik auf dem Weg ins neue Jahrtausend*, CD-ROM 099, Verlag Heinz Heise GmbH & Co KG, Hannover (1999).
- [2] <http://www.intel.com/intel/museum/25anniv/hof/moore.htm>
- [3] Y. XIA UND G. M. WHITESIDES, *Angew. Chem.* **110**, 568-594 (1998).
- [4] A. LENENBACH, *Diplomarbeit*, Universität Heidelberg (1996).
- [5] F. MORHARD, J. SCHUMACHER, A. LENENBACH, T. WILHELM, R. DAHINT, M. GRUNZE, AND D. S. EVERHART, *Electrochemical Society Proceedings* **97-19**, 1058-1065 (1997).
- [6] T. WILHELM, *Diplomarbeit*, Universität Heidelberg (1997).
- [7] J. SCHUMACHER, *Dissertation*, Universität Heidelberg (2001).

- [8] F. MORHARD, *Dissertation*, Universität Heidelberg (1999).
- [9] F. MORHARD, J. PIPPER, R. DAHINT, AND M. GRUNZE, *Sensors and Actuators B* **70**, 232-242 (2000).
- [10] N. A. PEPPAS, *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2**, 531-537 (1997).
- [11] Y. OSADA, H. OKUZAKI, AND J. P. GONG, *Trends in Polymer Science* **2**, 61-66 (1994).
- [12] C. M. HASSAN, F. J. DOYLE III, AND N. A. PEPPAS, *Macromolecules* **30**, 6166-6173 (1997).
- [13] W. GÖPEL, J. HESSE, AND J. N. ZEMEL, *Sensors A Comprehensive Survey*, Volume 2, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim (1991).

2 Status Quo - Einführung

Dieses Kapitel soll unter Berücksichtigung des aktuellen Forschungsstandes eine Einführung in die Themenschwerpunkte der vorliegenden Arbeit geben. Zunächst wird die Entwicklung des beugungsoptischen Sensors beschrieben und anhand von Beispielen das Funktionsprinzip näher erläutert. Anschließend werden die Hydrogele, die im pH- und Glucose-Sensor als Sensormatrix dienen, näher beschrieben. Ihre Zusammensetzung und ihre besonderen Eigenschaften werden näher erläutert. Darüber hinaus werden einige besondere Anwendungsgebiete von Hydrogelen vorgestellt.

2.1 Die Entwicklung des beugungsoptischen Sensors

In der vorliegenden Arbeit wird ein beugungsoptisches Sensorkonzept angewendet, das bereits von MORHARD *et al.* [1] vorgestellt wurde. Im Folgenden soll das Funktionsprinzip des beugungsoptischen Sensors am Beispiel des Hygrometers [1, 2] näher erläutert werden.

Das beugungsoptische Sensorkonzept beruht auf der Wechselwirkung einer im Mikrometermaßstab regelmäßig strukturierten Oberfläche mit einem Laserstrahl. Ein einfallender Laserstrahl wird an einer regelmäßig mikrostrukturierten Oberfläche reflektiert und gebeugt. Das Beugungsbild setzt sich aus mehreren Beugungsreflexen zusammen. Im Gegensatz zur Lage variiert die Intensität dieser Beugungsreflexe, wenn die Mikrostrukturen einer Formänderung unterworfen werden. Diese räumliche Änderung der Mikrostrukturen kann z.B. das Quellen oder Schrumpfen eines mikrostrukturierten Hydrogels sein. In einem einfacheren Fall können es aber auch Schwefelsäuretröpfchen sein, die in Abhängigkeit von der Luftfeuchtigkeit aufquellen oder schrumpfen.

Mikrostrukturierte Schwefelsäuretröpfchen lassen sich auf einem Silizium-Wafer, der mit einer dünnen Lage Gold bedampft ist, mit dem Mikrokontakt-Drucken (micro-contact printing, μ CP) [3] herstellen. Mittels μ CP werden Kreise eines mit einer Hydroxyl-Gruppe terminierten Thiols aufgebracht. Die Umgebung wird mit einem Methylterminierten Thiol aufgefüllt. So wird eine Fläche geschaffen, die aus hydrophilen „Inseln“ in einer hydrophoben Umgebung besteht. Gibt man konzentrierte Schwefelsäure auf diese Oberfläche, so bilden sich an den hydrophilen Stellen, dort, wo sich das Thiol mit der terminalen Hydroxyl-Gruppe befindet, kleine Schwefelsäuretröpfchen. Die Größe der Schwefelsäuretröpfchen variiert nun mit der Luftfeuchtigkeit (Abbildung 2-1). Ein Laserstrahl, der auf diese mikrostrukturierte Oberfläche gerichtet wird, erzeugt ein Beugungsbild. Die Intensität der einzelnen Beugungsreflexe verändert sich mit der Größe der Schwefelsäuretröpfchen, die wiederum von der Luftfeuchtigkeit abhängt.

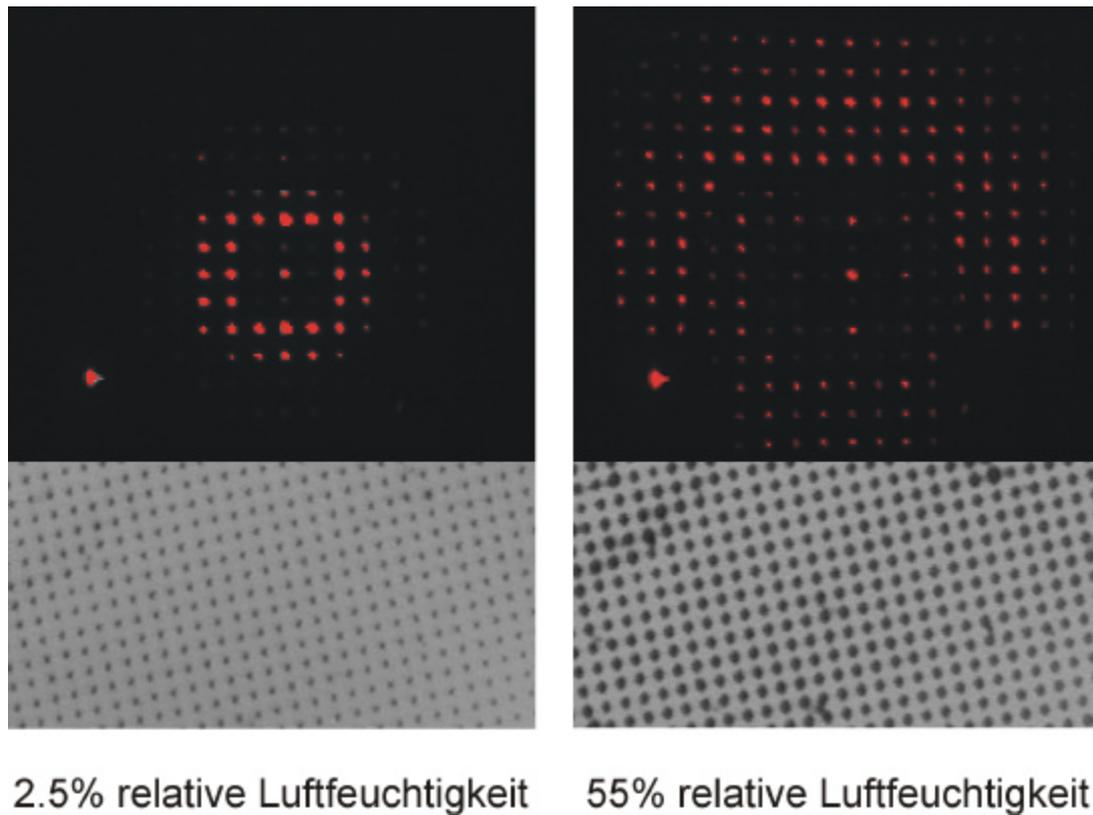


Abbildung 2-1 Zu sehen sind Schwefelsäuretröpfchen, die in Abhängigkeit von der Luftfeuchtigkeit aufquellen bzw. schrumpfen (unten). Das Beugungsbild entsteht durch einen Laserstrahl, der auf diese mikrostrukturierte Oberfläche gerichtet wird (oben). Bei 2.5% rel. Luftfeuchtigkeit sind die Beugungsreflexe im äußeren Bereich dunkler als die Beugungsreflexe im inneren Bereich des Beugungsbildes. Mit steigender Luftfeuchtigkeit ändert sich diese Intensitätsverteilung. Die Beugungsreflexe im äußeren Bereich werden heller. Zur besseren Darstellung wurden die sehr hellen Reflexe im inneren Bereich mit einem Filter abgedeckt. Entnommen aus [1].

2.2 Themenstellung und Motivation

Das Ziel dieser Arbeit ist die konzeptionelle Erweiterung des beugungsoptischen Sensorprinzips. Zunächst wird auf der Basis eines pH-sensitiven Hydrogels mit dem beugungsoptischen Sensorkonzept ein pH-Sensor aufgebaut. Darauf aufbauend wird dann ein Modellsystem zum Glucose-Nachweis entwickelt, das zeigen soll, wie vielfältig sich das beugungsoptische Sensorkonzept einsetzen lässt.

Hydrogele eignen sich aufgrund ihrer besonderen Eigenschaft, den Quellungsstatus den jeweiligen Umgebungsbedingungen anzupassen, zur Anwendung als aktive Matrix in dem beugungsoptischen Sensor. Sie reagieren mit einer Änderung ihres Quellungsstatus auf die Änderung von Umgebungsbedingungen. Diese Änderung des Quellungsstatus verursacht eine Änderung in der Intensitätsverteilung des gebeugten Laserlichts. Die wichtigsten Umgebungsbedingungen, auf die Hydrogele rea-

gieren, sind: die Temperatur, die Lösungsmittelzusammensetzung, der pH-Wert und die Ionenstärke. Je nach ihrer Zusammensetzung reagieren Hydrogele unterschiedlich stark auf die jeweiligen Änderungen der Umgebungsbedingungen.

Das Hydrogel, das in dieser Arbeit als Sensormatrix eingesetzt wird, ist ein Pfropfcopolymer aus Poly(methacrylsäure) und Poly(ethylenglykol), dessen Quellungszustand eine starke Abhängigkeit vom pH-Wert und der Salzkonzentration des umgebenden wässrigen Mediums zeigt. Durch die Funktionalisierung dieses pH-sensitiven Hydrogels mit Enzymen soll eine Sensitivität gegenüber Glucose erreicht werden. Diese Sensitivität lässt sich wiederum auf eine Änderung des pH-Werts zurückführen, die durch das Enzym Glucoseoxidase, das im Verlauf der Polymerisation kovalent in das Polymernetzwerk eingebaut wird, hervorgerufen wird. Die Glucose wird durch das Enzym zur Gluconsäure oxidiert, wodurch sich der pH-Wert und somit der Quellungszustand des Hydrogels ändert. Die Art und Weise, wie das mit Enzymen funktionalisierte Hydrogel auf die Glucose reagiert, ist in Kapitel 3 beschrieben.

Zur Erweiterung des beugungsoptischen Sensorkonzepts soll zunächst ein pH- und Glucose-Sensor entwickelt werden. Die Fähigkeit dieses Systems ist stark von der Sensormatrix, dem Hydrogel, und seiner Empfindlichkeit gegenüber Änderungen des pH-Werts und Änderungen der Glucosekonzentration abhängig. Sensoren zum Nachweis von Glucose sind weit verbreitet. Daher bietet sich für die Erweiterung des neuen beugungsoptischen Sensorkonzepts die Ausnutzung etablierter Verfahren an. Beispielsweise wird im Glucose-Sensor *Glucometer Elite* der Firma BAYER sowie im nicht-invasiven *GlucoWatch Biographer* [4, 5] das Enzym Glucoseoxidase verwendet.

Der Nachweis von Glucose ist für Menschen, die an *Diabetes mellitus* – der sogenannten Zuckerkrankheit – leiden, von besonderer Bedeutung. Bei dieser Stoffwechselerkrankung produziert die Bauchspeicheldrüse nur unzureichende Mengen an Insulin. Man unterscheidet beim *Diabetes mellitus* zwei Formen. Beim Typ I werden die insulinbildenden Zellen in der Bauchspeicheldrüse schon in frühem Alter durch eine Autoimmunreaktion zerstört. Typ II (Alterszucker) tritt vermehrt im Alter auf und beruht auf einer Verminderung der Insulinproduktion. Die Aufnahme der Glucose in die verschiedenen Gewebe, besonders Muskel- und Fettgewebe, ist insulinabhängig. Bei gesunden Menschen liegt die Glucose-Konzentration im Blut bei 60-110 mg/100 ml. Bei Menschen mit einer verminderten Insulinproduktion kommt es im Blut zu einer Erhöhung der Glucose-Konzentration auf Werte von über 120 mg/100 ml. Man spricht dann von einer Hyperglycämie. Übersteigt die Glucose-Konzentration Werte von 170 mg/100 ml, so wird die Fähigkeit der Nieren zur Rückresorption überschritten, und es kommt zu einer Ausscheidung von Glucose mit dem Urin. Unbehandelt führt *Diabetes mellitus* langfristig zu Folgeschäden wie z. B. zu einer Schädigung der Nieren sowie des Nervensystems und der Augen [6].

Hydrogele und Verfahren zur Funktionalisierung wurden im Zusammenhang mit ihrer Verwendung als Medikamentenapplikationssystem schon beschrieben [7]. Die Hydrogele und ihre Anwendungen werden im folgenden Abschnitt näher beschrieben. Dabei wird auch das Potenzial der Beugungsapparatur zur Charakterisierung von Hydrogelen und Polymernetzwerken im Zusammenhang mit ihren Anwendungsgebieten diskutiert.

2.3 Hydrogele und ihre Anwendungen

In der am weitesten verbreiteten Anwendung, in der Hydrogele eingesetzt werden, verrichten diese ihren Dienst im Verborgenen. In Hygieneprodukten, wie z.B. Babywindeln oder Damenbinden werden Hydrogele als Absorbermaterial, sogenannte Superabsorber, eingesetzt. Ihre Fähigkeit, Flüssigkeiten aufzunehmen und auch unter Druck nicht wieder abzugeben, macht sie dort zu einem unentbehrlichen Hilfsstoff. Dabei können Hydrogele bis zum 100fachen ihres Gewichts an Flüssigkeit aufnehmen.

Hydrogele sind Polymernetzwerke, die ganz oder teilweise aus hydrophilen Gruppen aufgebaut sind. In der Regel sind die Polymerstränge eines Hydrogels kovalent miteinander verbunden, so dass eine Polymerprobe im Prinzip aus nur einem einzigen Molekül besteht. Die polymerisierbaren Komponenten einer wässrigen Monomerlösung machen nur 5-15% der Gesamtmasse aus, wovon 1-10% auf den Vernetzer entfallen [8]. Der Hauptbestandteil eines Gels ist somit eine Flüssigkeit, die von dem Polymernetzwerk eingeschlossen wird [9]. Aufgrund dieser Zusammensetzung sind Gele weich und flexibel. Ihre chemischen und physikalischen Eigenschaften werden durch die Polymer-Polymer-Wechselwirkungen des Netzwerkes und durch die Wechselwirkung des Netzwerkes mit der eingeschlossenen und der umgebenden Flüssigkeit bestimmt.

Wie bereits erwähnt, ändert sich der Quellungszustand eines Hydrogels, wenn Umgebungsbedingungen verändert werden. Hydrogele reagieren – je nach ihrer Zusammensetzung – auf die Änderungen der Temperatur, der Lösungsmittelszusammensetzung, der Ionenstärke oder des pH-Werts mit der Änderung ihres Quellungszustandes. Diese Eigenschaften machen sie besonders für Sensoranwendungen interessant.

Auf welche Umwelteinflüsse Hydrogele reagieren, lässt sich grob anhand ihrer Zusammensetzung einteilen.

- Ein temperatursensitives Verhalten zeigen Gele, die aus Monomeren mit hydrophoben Seitengruppen aufgebaut sind, wie z. B. Poly(isopropylacrylamid). Durch temperaturinduzierte Assoziation der hydrophoben Seitenketten, die auf VAN DER WAALS Wechselwirkungen beruhen, zeigen diese Gele ein von der

Umgebungstemperatur abhängiges Quellungsverhalten. Durch Kombination mit Monomeren, die ionische oder ionisierbare Seitengruppen tragen, lässt sich das Quellungsverhalten dieser Gele steuern [10, 11].

Es ist bekannt, dass Hydrogele auf der Basis von Poly(isopropylacrylamid) reversibel thermisch induzierte Phasenübergänge durchlaufen [12]. Je nach Zusammensetzung beginnen diese Gele ab einer bestimmten Temperatur damit, das in ihnen enthaltene Wasser nach außen zu drücken. Dieses Verhalten ist auf die Wechselwirkung der Isopropyl-Einheiten zurückzuführen. Aufgrund ihres temperaturabhängigen Quellungsverhaltens können diese Systeme zur kontrollierten Freisetzung von Wirkstoffen und Farbstoffen eingesetzt werden [13].

- Netzwerke, die aus Monomeren mit ionisierbaren Seitengruppen aufgebaut sind, zeigen ein von der Ionenstärke und dem pH-Wert abhängiges Quellungsverhalten. Aminogruppen in den Seitenketten führen in sauren Lösungen zur Aufquellung aufgrund der Bildung von Poly(ammoniumionen). Ein Carboxylgruppen enthaltendes Netzwerk quillt dagegen in basischen Lösungen auf.
- Die Fähigkeit zur Bildung interpolymerer Komplexe besitzen Copolymernetzwerke, die aus komplementären Polymeren aufgebaut sind. Die Wechselwirkungen können VAN DER WAALS, ionisch, Wasserstoffbrücken oder koordinativer Art sein. Die Stabilität der Komplexe steigt mit der Länge der Polymerketten, die in Wechselwirkung treten, an. Dies beruht auf dem kleineren Entropieverlust bei der Wechselwirkung langer Ketten im Vergleich zur Wechselwirkung kurzer Ketten. Unterhalb eines kritischen Molekulargewichts findet keine Komplexierung statt [13].

Während des Quellungsprozesses wird das Polymernetzwerk durch die Aufnahme von Lösungsmittelmolekülen vergrößert. Ein Gleichgewichtszustand ist dann erreicht, wenn die Kraft, welche die Quellung hervorruft, gleich der Rückstellkraft des Netzwerkes ist. Ob ein Hydrogel schrumpft oder quillt, hängt u.a. vom osmotischen Druck ab, der darin herrscht [9]. Dieser Druck hat verschiedene Ursachen. Deren Anteil am Quellungsverhalten des Hydrogels wird im Wesentlichen von der Zusammensetzung des Gels bestimmt. Die Faktoren, die das Quellungsverhalten bestimmen, sind im Einzelnen:

- Die Gummielastizität, die durch die Elastizität der einzelnen Polymerstränge hervorgerufen wird.

- Die Polymer-Lösungsmittel-Wechselwirkung. Je nach Zusammensetzung des Polymers und des Lösungsmittels kann sie attraktiv oder repulsiv sein (Abbildung 2-2).

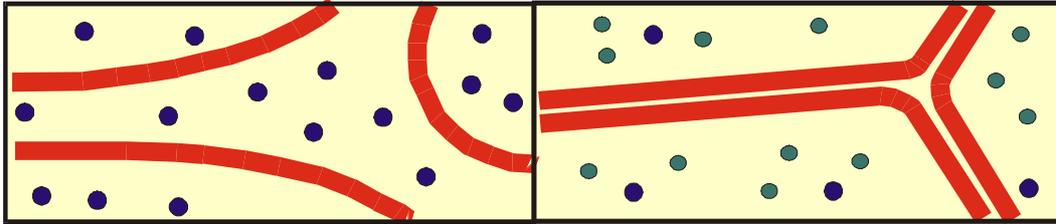


Abbildung 2-2 Dargestellt ist die Polymer-Lösungsmittel-Wechselwirkung. Ist die Wechselwirkung attraktiv (links), so ist das Polymer bestrebt, sich mit möglichst viel Lösungsmittel zu umgeben. Wird die Lösungsmittelzusammensetzung verändert und resultiert daraus eine repulsive Wechselwirkung zwischen Polymer und dem Lösungsmittel, so zieht sich das Polymer zusammen und drückt das Lösungsmittel nach außen (rechts). Nach [9].

- Der Gegenionendruck ist ein innerer Druck, der durch die Abstoßung der Gegenionen hervorgerufen wird, die aufgrund der Elektroneutralitätsbedingung das Gel nicht verlassen können.
- Die Komplexierung durch Wasserstoffbrücken tritt dann auf, wenn geeignete Gruppen im Polymer vorhanden sind.

Das Komplexierungs- und Dekomplexierungsverhalten des in dieser Arbeit eingesetzten P(MAA-*g*-EG)-Hydrogels ist hauptsächlich auf die Ausbildung von Wasserstoffbrücken zurückzuführen. Das Hydrogel besteht aus einem Rückgrat aus Poly(methacrylsäure) in das die Poly(ethylenglykol)-Ketten gepfropft (*grafted*) sind. Die Verknüpfung der einzelnen Polymerstränge durch den Vernetzer verhindert die vollständige Auflösung des Netzwerks, und die Anzahl der kovalenten Verknüpfungspunkte hat entscheidenden Einfluss auf die maximale Quellbarkeit des Netzwerks. Die Ausbildung der Wasserstoffbrücken zwischen der Poly(methacrylsäure) und den Poly(ethylenglykol)-Einheiten ist vom pH-Wert des umgebenden Mediums abhängig. Die Poly(methacrylsäure) ist im pH-Bereich unterhalb pH 5.5 überwiegend protoniert, daher liegt das Gel im sauren pH-Bereich in einem kollabierten Zustand vor. Wird die Poly(methacrylsäure) deprotoniert, so brechen die Wasserstoffbrücken auf und es kommt zu einem Aufquellen, das durch die gegenseitige Abstoßung der Carboxylat-Gruppen verstärkt wird. Das Quellungsverhalten des P(MAA-*g*-EG)-Hydrogels wird in Kapitel 5 näher beschrieben.

Das reversible pH-abhängige Quellungsverhalten dieses P(MAA-g-EG)-Hydrogels macht es auch für medizintechnische Anwendungen als sogenanntes *drug delivery system*, also als Applikationssystem für Medikamente, interessant [14, 15]. Das Hauptziel eines solchen Systems ist die Aufrechterhaltung einer therapeutisch optimalen Arzneimittelkonzentration im Organismus, die nur geringen zeitlichen Fluktuationen unterworfen ist. Besonders wichtig ist dies bei Stoffen, die nur eine geringe Halbwertszeit aufweisen. Damit reduzieren sich dann häufig zu wiederholende Medikamentenapplikationen und das damit verbundene „Hill and Valley“ Phänomen. Dieses Phänomen tritt beispielsweise bei der oralen Verabreichung von Wirkstoffen auf. Kurz nach der Einnahme steigt die Konzentration des Wirkstoffes im Organismus an und kann sogar ein toxisches Niveau erreichen. Mit der Zeit nimmt die Wirkstoffkonzentration wieder ab, so dass sie unter die Grenze der Wirksamkeit fällt. Die ideale Wirkstoffkonzentration wird dabei nur über einen kurzen Zeitraum aufrecht erhalten.

Das kontrollierte Freisetzen von Medikamenten wird auf unterschiedlichste Weise realisiert. Die häufigsten Methoden der kontrollierten Freisetzung von Medikamenten erfolgt: 1. aus Mikropartikeln, in denen der Wirkstoff eingekapselt ist (Microencapsulation), 2. über die transdermale Applikation und 3. über die implantierten Applikationssysteme. Im Internet findet man eine Reihe von Seiten, die sich mit dem Thema der kontrollierten Medikamentenfreisetzung beschäftigen [16-19].

Das Anwendungspotenzial von Polymeren und insbesondere von Hydrogelen zur kontrollierten Freisetzung von Wirkstoffen wird ausführlich diskutiert [14, 15, 20-23]. Das Hauptaugenmerk richtet sich auf die Anwendung als Insulindepot bzw. auf den Aufbau einer künstlichen Pankreas [24].

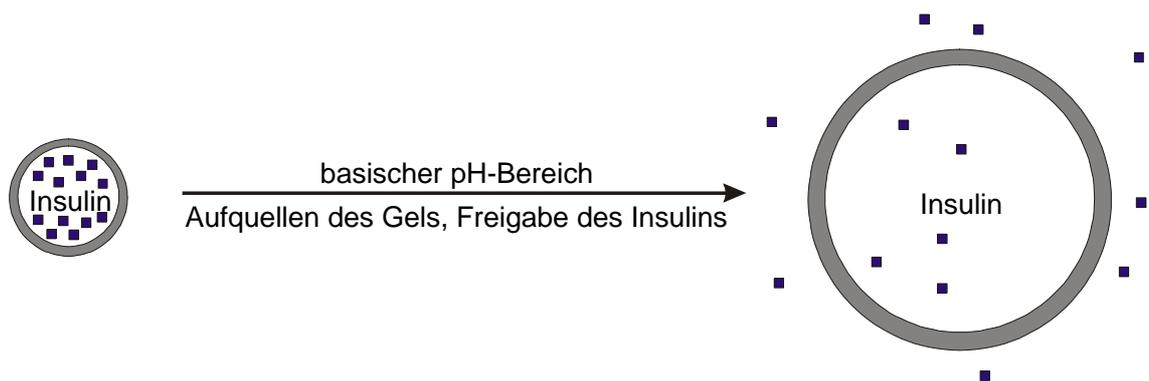


Abbildung 2-3 Schematische Darstellung der Insulinfreigabe aus einer Hydrogelkapsel bei der oralen Applikation. Die Hydrogelkapsel schützt das Insulin vor einer Zersetzung im Magen und im Bereich des Dünndarms. Durch das basische Milieu im Dickdarm quillt das Gel auf und das eingeschlossene Insulin wird freigesetzt.

Das P(MAA-g-EG)-Hydrogel eignet sich als Applikationssystem für Insulin bei Patienten, die an *Diabetes mellitus* erkrankt sind [14, 15]. In der Anwendung als orales Applikationssystem werden die Quellungseigenschaften des P(MAA-g-EG)-Hydrogels ausgenutzt. Die wichtigste Aufgabe des Hydrogels ist der Schutz des Insulins vor einer Zersetzung im Magen und im Bereich des Dünndarms. Die Freisetzung des in Gelkapseln eingeschlossenen Insulins erfolgt im basischen Milieu im Verlauf des Dickdarms, ausgelöst durch das Aufquellen der Gelkapsel (Abbildung 2-3). Diese Applikationsstrategie wurde mit dem P(MAA-g-EG)-Hydrogel bereits im Tierversuch erfolgreich getestet [14].

Das Potenzial der Hydrogele geht aber weit über die Anwendungen im medizinischen Bereich und der Hygieneprodukte hinaus. Hydrogele werden in gleichem Maße angewendet als Wasser- und Nährstoffspeicher in der Land- und Forstwirtschaft. Sie kommen zum Einsatz bei der Verpackung auslaufgefährdeter Güter. Außerdem werden Hydrogele bei der Herstellung von Energie- und Nachrichtenkabeln eingesetzt. Durch ihr Quellvermögen dichten sie ein Leck im Fall eines Wassereintritts ab und verhindern somit ein weiteres Vordringen des Wassers [25].

Ein weiteres Gebiet auf dem der Einsatz von Gelen bzw. Hydrogelen diskutiert wird, ist ihre Anwendung zur Umwandlung chemischer oder elektrischer Energie in mechanische Arbeit [26]. Die Art und Weise, in der Gele beispielsweise auf elektrische Reize reagieren, erinnert mehr an die Bewegung von Muskeln. Daher wird ihr Einsatz als künstliche Muskeln in Robotern oder anderen mechanischen Systemen diskutiert [27-31]. Gerade im Bezug auf die Anwendung in mikromechanischen Systemen können Gele durch ihre besondere Biegsamkeit und Geschmeidigkeit eingesetzt werden.

2.4 Literaturverzeichnis

- [1] F. MORHARD, J. SCHUMACHER, A. LENENBACH, T. WILHELM, R. DAHINT, M. GRUNZE, AND D. S. EVERHART, *Electrochemical Society Proceedings* **97-19**, 1058-1065 (1997).
- [2] A. LENENBACH, *Diplomarbeit*, Universität Heidelberg (1996).
- [3] Y. XIA UND G. M. WHITESIDES, *Angew. Chem.* **110**, 568-594 (1998).
- [4] GlucoWatch Biographer, <http://www.cygn.com/glucowatch.html> und <http://www.glucowatch.com>

-
- [5] BIOSENSORS 2000, The 6th World Congress on Biosensors, San Diego, USA, 24-26 May 2000.
- [6] J. KOOLMAN UND K.-H. RÖHM, *Taschenatlas der Biochemie*, Thieme Verlag, Stuttgart (1994).
- [7] C. M. HASSAN, F. J. DOYLE III, AND N. A. PEPPAS, *Macromolecules* **30**, 6166-6173 (1997).
- [8] J. THIEL, G. MAURER UND J. M. PRAUSNITZ, *Chemie Ingenieur Technik* **67**, 1567-1583 (1995).
- [9] T. TANAKA, *Sci. Am.* **244**, 110-123 (1981).
- [10] S. HIROTSU, Y. HIROKAWA, AND T. TANAKA, *J. Chem. Phys.* **87**, 1392-1395 (1987).
- [11] S. BELTRAN, H. H. HOOPER, H. W. BLANCH, AND J. M. PRAUSNITZ, *J. Chem. Phys.* **92**, 2061-2066 (1990).
- [12] Y. HIROKAWA AND T. TANAKA, *J. Chem. Phys.* **81**, 6379-6380 (1984).
- [13] J. KLIER, A. B. SCRANTON, AND N. A. PEPPAS, *Macromolecules* **23**, 4944-4949 (1990).
- [14] A. M. LOWMAN, M. MORISHITA, M. KAJITA, T. NAGAI, AND N. A. PEPPAS, *J. Pharm. Sci.* **88** (9), 933-937 (1999).
- [15] N. A. PEPPAS, K. B. KEYS, M. TORRES LUGO AND A. M. LOWMAN, *J. Control. Release* **62**, 81-87 (1999).
- [16] Drug Delivery Page; <http://chaubal.tripod.com>
- [17] Overview On Drug Delivery with Emphasis On Polymeric Implants;
<http://chaubal.tripod.com/review.html>
- [18] Intelligent Gels, Chemical & Engineering News June 9, 1997;
<http://pubs.acs.org/hotartcl/cenear/970609/gels.html>
- [19] Polymers in Controlled Drug Delivery by Lisa Brannon-Peppas;
<http://www.device-link.com/mpb/archive/97/11/003.html>
- [20] N. A. PEPPAS, *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2**, 531-537 (1997).
- [21] X. ZHAO AND J. M. HARRIS, *J. Pharm. Sci.* **87** (11), 1450-1458 (1998).

- [22] B. NARASIMHAN AND N. A. PEPPAS, *J. Pharm. Sci.* **86** (3), 297-304 (1997).
- [23] M. TORRES-LUGO, AND N. A. PEPPAS, *Macromolecules* **32**, 6646-6651 (1999).
- [24] B.VERNON, A. GUTOWSKA, S. W. KIM AND Y. H. BAE, *Macromol. Symp.* **109**, 155-167 (1996).
- [25] <http://www.basf.de>
- [26] W. G. POHL, H. J. KUHN UND W. KUHN, *Z. Naturforschg.* **21 a**, 756-763 (1966).
- [27] Y. OSADA UND S. B. ROSS-MURPHY, *Spektr. d. Wiss.* **10**, 84-89 (1993).
- [28] M. ZRÍNYI, *Trends in Polymer Science* **5**, 280-285 (1997).
- [29] Y. OSADA, H. OKUZAKI, AND J. P. GONG, *Trends in Polymer Science* **2**, 61-66 (1994).
- [30] Y. OSADA AND J.-P. GONG, *Adv. Mater.* **10** (11), 827-837 (1998).
- [31] W. LEE, “*Polymer Gel Based Actuator: Dynamic model of gel for real-time control*”, *Ph.D. Thesis*, Massachusetts Institute of Technology (1996).

3 Probenpräparation und Mikrostrukturierung

Die Mikrostrukturierung von Oberflächen ist ein wesentlicher Bestandteil des hier vorgestellten beugungsoptischen Sensorprinzips. Aus diesem Grund sind auch die Methoden, die man einsetzt, um Substrate chemisch im Mikrometermaßstab zu strukturieren, von besonderer Bedeutung.

Neben der Mikrostrukturierung eines Hydrogels bzw. dessen Vorläufer – der Monomerlösung – war die größte Herausforderung im Rahmen dieser Arbeit die Immobilisierung des Hydrogels auf einem Substrat. Die Methode, die dazu eingesetzt wird, wird im vorliegenden Kapitel beschrieben. Ausführliche Untersuchungen zum Haftverhalten immobilisierter Hydrogele, die am MPI für Polymerforschung in Mainz durchgeführt wurden, werden in Kapitel 4 vorgestellt.

Das folgende Kapitel beschäftigt sich zunächst mit den Verfahren der chemischen Mikrostrukturierung von Oberflächen. Der Schwerpunkt liegt dabei auf der Methode des Mikroformen in Kapillaren (micromolding in capillaries, MIMIC). Mit diesem Verfahren zur chemischen Mikrostrukturierung wurden alle in dieser Arbeit verwendeten Strukturen hergestellt. Diese und andere softlithographische Methoden sowie deren Anwendungsspektrum wurden von WHITESIDES *et al.* [1-4] vorgestellt.

Anschließend werden die Probleme mit dem Haftversagen der Hydrogele und die Methode zur Oberflächenmodifikation der Substrate, mit deren Hilfe die Hydrogele immobilisiert wurden, beschrieben.

Abschließend werden die Monomerlösungen und die Präparation der mikrostrukturierten Hydrogele vorgestellt.

3.1 Die Methoden der Softlithographie

Der Begriff *Softlithographie* wurde von XIA UND WHITESIDES [2] für eine Reihe nicht-photolithographischer Methoden geprägt. Häufig werden in der Softlithographie elastomere Stempel zur Übertragung von Strukturen verwendet. In Tabelle 3-1 sind einige nicht-photolithographische Verfahren mit dem jeweils maximal erreichbaren Auflösungsvermögen aufgelistet.

Die wichtigsten Methoden, die zum Übertragen von Strukturen elastomere Stempelmaterialien verwenden, sind hierbei: das Mikrokontakt-Drucken (microcontact printing, μ CP), das Mikroformen in Kapillaren (micromolding in capillaries, MIMIC), das Replikatformen (replica molding, REM), das Mikrotransferformen (microtransfer molding, μ TM) und das lösungsmittelunterstützte Mikroformen (solvent-assisted micromolding, SAMIM).

Tabelle 3-1 Wichtige nicht-photolithographische Strukturierungsmethoden. Aus [2].

Methoden	Auflösung [μm]
Laserablation	0.07
Siebdruck	20
Tintenstrahldruck	50
Xerographie	50
Mikrokontakt-Drucken, (μCP)	0.035
Replikatformen (REM)	0.03
Mikrotransferformen (μTM)	1
Mikroformen in Kapillaren (MIMIC)	1
lösungsmittelunterstütztes Mikroformen (SAMIM)	0.06

3.2 Das Mikroformen in Kapillaren

Die als Sensormatrix im beugungsoptischen Sensor eingesetzten Mikrostrukturen wurden ausschließlich mit dem Mikroformen in Kapillaren hergestellt. Als Stempelmaterial wurde nur Poly(dimethylsiloxan) (Sylgard 184 von Dow Corning) verwendet. Das Verfahren des Mikroformens in Kapillaren und die besonderen Eigenschaften des PDMS-Stempelmaterials sollen hier ausführlicher beschrieben werden.

3.2.1 Die Herstellung der Stempel

Die meisten Methoden der Softlithographie basieren auf der Verwendung eines elastomeren Stempelmaterials. Grundsätzlich können alle Elastomere eingesetzt werden, die den folgenden Anforderungen genügen: sie müssen chemisch inert sein, um mit den zu strukturierenden Substanzen nicht zu reagieren. Des Weiteren müssen sich die Strukturen der Elastomere ohne große Fehler übertragen lassen. Die am häufigsten verwendeten Elastomere in der Softlithographie sind Polyurethane und Polysiloxane.

Die elastomeren Stempel werden durch Replikatformen hergestellt (Abbildung 3-1). Die Abgussform besteht aus einem Silizium-Wafer, der Strukturen aus einem Photolack trägt. Vor der Verwendung wird der Silizium-Wafer im Exsikkator mit (Tridecafluoro-1,1,2,2-tetrahydrooctyl)trichlorosilan beschichtet, um das PDMS nach dem Aushärten rückstandslos ablösen zu können. Dazu wird ein Vakuum von 4-6 mbar angelegt. Der Wafer wird für ca. eine Stunde im Exsikkator belassen. Zum Abformen der Struktur

wird der Wafer aus dem Exsikkator genommen und mit dem Polymervorläufer abgegossen. Um eingeschlossene Gasbläschen aus dem Polymervorläufer zu entfernen muss der Wafer anschließend im Exsikkator sorgfältig evakuiert werden. Zum Aushärten des Polymervorläufers wird der Wafer für ca. vier Stunden bei 60 °C in den Trockenschrank gestellt.

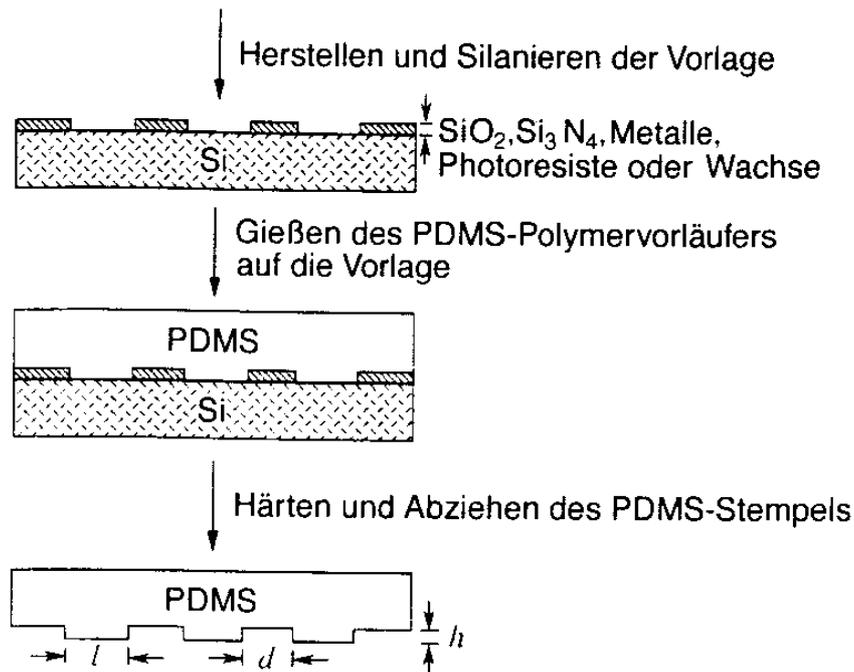


Abbildung 3-1 Herstellung eines PDMS-Stempels von einer Vorlage. Der Wafer wird vor der Verwendung mit einem Trichlorosilan beschichtet. Die Bereiche der replizierten Strukturen liegen bei: l : 0.5-200 μm , d : 0.5-200 μm und h : 0.2-20 μm . Entnommen aus [2].

Die Eigenschaften, die ein Elastomer und im Besonderen PDMS für die Verwendung als Stempelmaterial auszeichnen, sind (nach [2]):

- Ein Elastomer passt sich einer Oberfläche an, die im Mikrometerbereich nicht eben ist.
- Mit einem Elastomer können Strukturen auf nicht ebenen Oberflächen erzeugt werden.
- Aufgrund seiner Elastizität kann es sehr gut von den Strukturen wieder abgelöst werden.
- PDMS besitzt eine geringe Oberflächenenergie (ca. $21.6 \times 10^{-3} \text{ J m}^{-2}$) und ist chemisch inert.

- PDMS ist homogen und isotrop und bis 300 nm optisch transparent und somit auch für photolithographische Anwendungen geeignet.
- PDMS ist häufig wiederverwendbar.
- Die Oberflächeneigenschaften von PDMS lassen sich mit einer Plasmabehandlung modifizieren.

3.2.2 Die Eigenschaften von Poly(dimethylsiloxan)

Durch seine chemische Inertheit haften oder reagieren Polymerkörper nicht irreversibel an bzw. mit der PDMS-Oberfläche [2]. Aus diesem Grund lassen sich PDMS-Stempel mehrmals verwenden.

Die Oberflächeneigenschaften eines PDMS-Stempels lassen sich durch die Behandlung mit einem Sauerstoff-Plasma modifizieren [5]. Abbildung 3-2 zeigt schematisch, wie eine solche Modifikation ablaufen kann. Nach der Behandlung mit einem Sauerstoff-Plasma wird ein Chlorsilan aus der Gasphase auf der PDMS-Oberfläche abgeschieden. Je nachdem, welcher Art die terminale Endgruppe X ist, lassen sich somit die Oberflächeneigenschaften eines PDMS-Stempels dauerhaft verändern. Modifikationen von PDMS-Stempeln, die nicht permanent sind, lassen sich durch Gasphasenabscheidung geeigneter Silane erreichen.

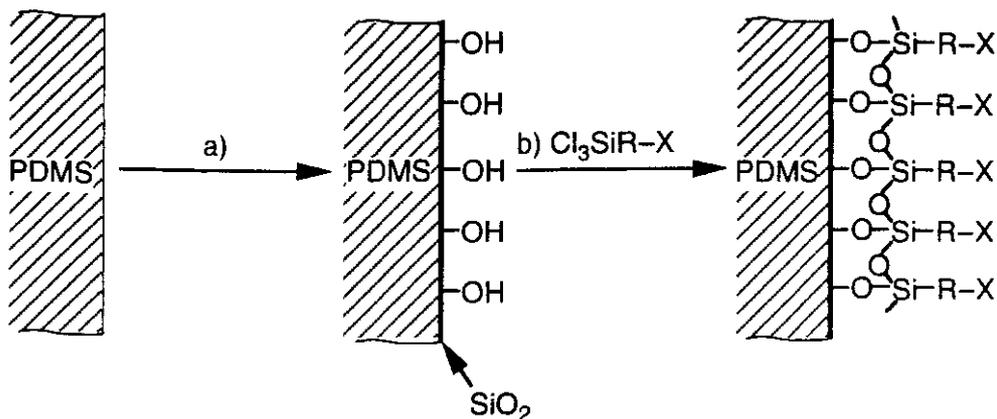


Abbildung 3-2 Modifikation einer PDMS-Oberfläche. a) Behandeln mit einem Sauerstoff-Plasma. b) Umsetzung mit einem Chlorsilan zum Aufbau selbstaggregierender Monolagen (SAM). Je nach den Eigenschaften der terminalen Endgruppe X können so unterschiedliche Grenzflächeneigenschaften realisiert werden. Entnommen aus [2].

Die chemische Inertheit von PDMS zeigt sich auch bei der Behandlung mit starken Basen. PDMS besitzt gegenüber Wasser einen Kontaktwinkel von 110° . Nach einer Behandlung mit 5 N KOH bei 100°C für sechs Stunden betrug der Kontaktwinkel 105° . Eine Plasmabehandlung, die zu einer Oxidation der PDMS-Oberfläche führt, lässt Wasser auf der PDMS-Oberfläche spreiten (Kontaktwinkel $\sim 0^\circ$) [6].

Die elastischen Eigenschaften des PDMS können auch einige Probleme bereiten [2, 7]. In Abbildung 3-3 sind typische Deformationen dargestellt, die auf die elastischen Eigenschaften des PDMS zurückzuführen sind.

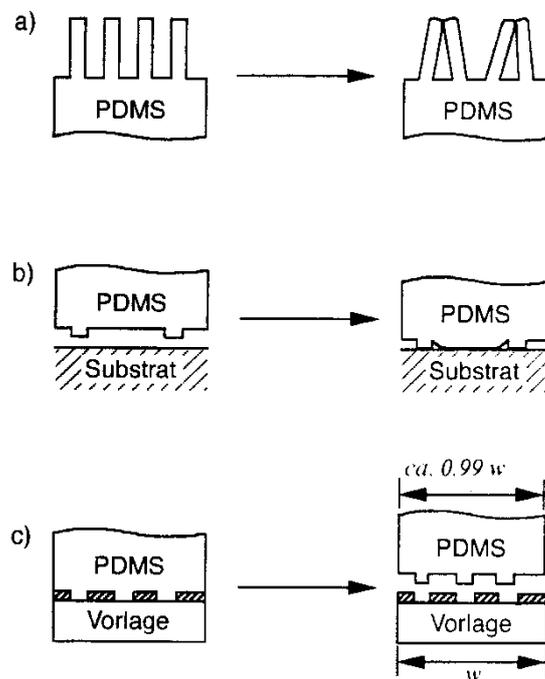


Abbildung 3-3 Darstellung möglicher Deformationen und Verzerrungen von Mikrostrukturen auf der Oberfläche eines PDMS-Stempels. a) Paarbildung, b) Durchhängen, c) Schrumpfen. Entnommen aus [2].

3.2.3 Die Herstellung von Mikrostrukturen durch MIMIC

Auf ein Substrat wird ein PDMS-Stempel mit einer Reliefstruktur aufgedrückt. Dadurch entsteht zwischen Stempel und Substrat ein dreidimensionaler strukturierter Hohlraum. Vor den Stempel wird eine Monomerlösung aufgebracht, die dann spontan die Kapillaren befüllt. Nach dem Aushärten kann der Stempel vom Substrat entfernt werden (Abbildung 3-4). Es bleibt eine dreidimensionale Struktur des Polymers auf dem Substrat zurück, welche der Struktur des Masters entspricht, von der das PDMS abgossen wurde.

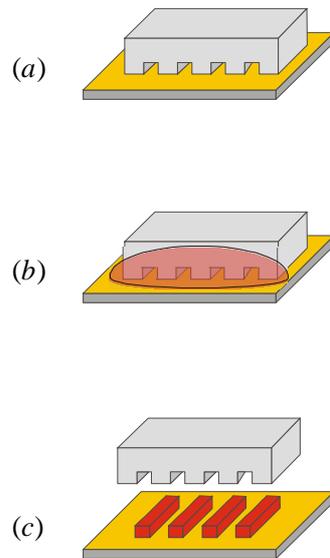


Abbildung 3-4 Strukturierung nach dem Mikroformen in Kapillaren (micromolding in capillaries, MIMIC). (a) Der PDMS-Stempel wird auf das Substrat gedrückt. (b) Die Monomerlösung wird vor dem Stempel aufgebracht. Durch die Kapillarkraft wird die Monomerlösung in die Kapillaren gezogen. (c) Nach dem Polymerisieren wird der Stempel vom Substrat entfernt. Eine dreidimensionale Mikrostruktur bleibt zurück.



Abbildung 3-5 Dies ist die Linienstruktur eines pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels. Die Breite der Gelbalken beträgt 10 µm. Der Mittenabstand ist 20 µm.

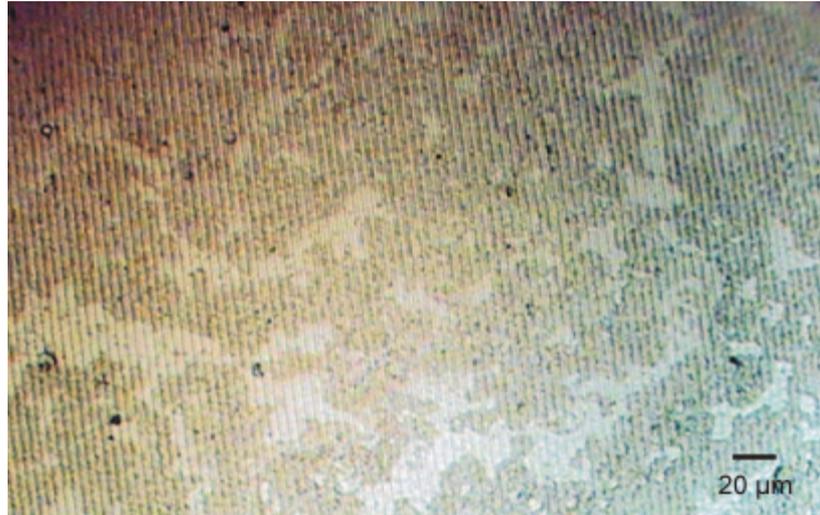


Abbildung 3-6 Dies ist die Linienstruktur eines glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels. Die Breite der Gelbalken beträgt $4\ \mu\text{m}$. Der Mittenabstand ist $8\ \mu\text{m}$. Die Qualität der Struktur eines glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels ist in der Regel nicht so gut wie die eines pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels, was auf die Zusammensetzung der Monomerlösung zurückzuführen ist.

3.2.4 Theoretische Betrachtung des MIMIC Prozesses

Im MIMIC Prozess werden die Kapillaren, die zwischen dem PDMS-Stempel und dem Substrat bestehen, spontan gefüllt, wenn damit eine Abnahme der freien Grenzflächenenergie verbunden ist.

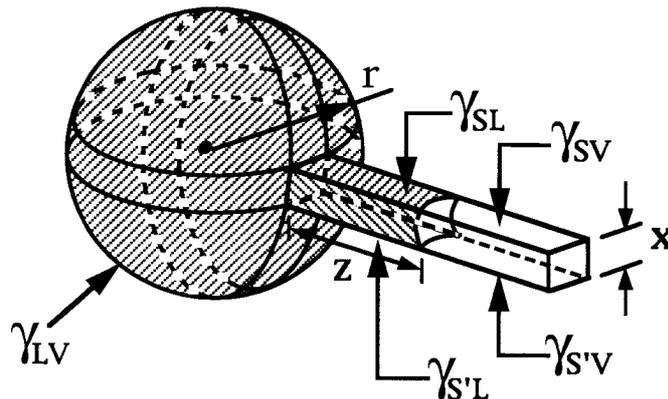


Abbildung 3-7 Modell zur Beschreibung von MIMIC. g_{LV} entspricht der Grenzflächenenergie zwischen der Flüssigkeit und der Gasphase, g_{SL} entspricht der Grenzflächenenergie zwischen dem Festkörper und der Flüssigkeit und g_{SV} entspricht der Grenzflächenenergie zwischen dem Festkörper und der Gasphase; (L: liquid, V: vapor, S: solid). Die gestrichelten Größen repräsentieren jeweils die Wechselwirkungen mit dem Substrat. Entnommen aus [3].

Vor die Kapillare wird ein Tropfen der Monomerlösung aufgebracht, dessen Radius sei r . Die Strecke, die von der Flüssigkeit in der Kapillare zurückgelegt wird, sei Δz und die Kantenlänge der quadratischen Kapillare sei x . Der Kontaktwinkel der Flüssigkeit gegenüber PDMS sei \mathbf{q} und gegenüber dem Substrat \mathbf{q}' (Abbildung 3-7).

Die Änderung der freien Enthalpie, die mit dem Füllen der Kapillaren verbunden ist, lässt sich nach [4] angeben durch:

$$\Delta G = \mathbf{g}_{LV} \Delta A^{\text{sphere}} - f(\mathbf{g}_{SL}, \mathbf{g}_{S'L}) \Delta A^{\text{channel}} \quad (3.1)$$

und daraus ergibt sich:

$$\Delta G = \frac{x^2 \Delta z \mathbf{g}_{LV}}{r} - [3x \Delta z (\mathbf{g}_{SV} - \mathbf{g}_{SL}) + x \Delta z (\mathbf{g}_{S'V} - \mathbf{g}_{S'L})]. \quad (3.2)$$

Unter der Annahme, dass der Radius des Tropfens sehr viel größer ist als die Kantenlänge einer Kapillare ($r \gg x$), vereinfacht sich die obige Gleichung zu:

$$\Delta G \approx -[3x \Delta z (\mathbf{g}_{SV} - \mathbf{g}_{SL}) + x \Delta z (\mathbf{g}_{S'V} - \mathbf{g}_{S'L})] \quad (3.3)$$

und

$$\Delta G \approx -x \Delta z \mathbf{g}_{LV} (3 \cos \mathbf{q} + \cos \mathbf{q}'). \quad (3.4)$$

Damit ergibt sich ein direkter Zusammenhang zwischen der Änderung der freien Enthalpie, die mit dem Füllen der Kapillaren verbunden ist, und dem experimentell zugänglichen Kontaktwinkel. \mathbf{q}' ist der Kontaktwinkel der Monomerlösung zum Substrat und \mathbf{q} ist der Kontaktwinkel zum PDMS. Liegen die Werte für beide Kontaktwinkel \mathbf{q} und \mathbf{q}' zwischen 0 und 90°, so werden die Kapillaren spontan gefüllt [3].

Die Geschwindigkeit, mit der die Kapillare gefüllt wird, dz/dt , hängt von der Oberflächenspannung \mathbf{g} , der Viskosität der Flüssigkeit \mathbf{h} und dem Radius der Kapillare R_H ab. Der Radius R_H einer quadratischen Kapillare mit der Kantenlänge x ergibt sich aus dem Verhältnis des Volumens zur Oberfläche der Kapillaren:

$$R_H = \frac{x^2 z}{4 x z}. \quad (3.5)$$

Nach [4] ergibt sich für die Geschwindigkeit, mit der eine Kapillare gefüllt wird:

$$\frac{dz}{dt} = \frac{R_H \mathbf{g}_{LV} \cos \mathbf{q}}{4\mathbf{h}_z} = \frac{R_H (\mathbf{g}_{SV} - \mathbf{g}_{SL})}{4\mathbf{h}_z} . \quad (3.6)$$

(L = flüssig, V = gasförmig, S = fest)

Die Füllgeschwindigkeit ist proportional zum Kapillarradius und umgekehrt proportional zur Länge des gefüllten Abschnitts und zur Viskosität der Flüssigkeit.

3.3 Die Probenpräparation

3.3.1 Immobilisierung von Hydrogel-Mikrostrukturen

Für das hier vorgestellte beugungsoptische Sensorkonzept war es notwendig, die mikrostrukturierten Hydrogele auf dem Substrat kovalent zu immobilisieren. Sensormessungen in der Gasphase sind noch ohne Kopplung der Gele mit dem Substrat ausführbar. Aber auch schon hier kommt es zu Ablöseerscheinungen der Mikrostrukturen (Abbildung 3-8).

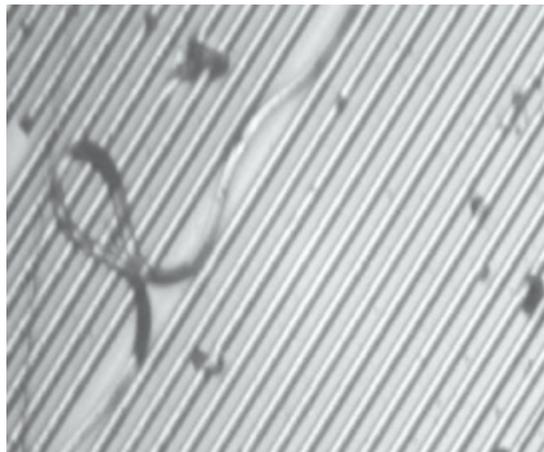


Abbildung 3-8 Zu sehen ist das Haftversagen eines mikrostrukturierten Hydrogels während einer Messung. Während der Messung löst sich ein Gelbalken ab und bildet eine Schlaufe. Aus [8].

Normalerweise lösen sich die Hydrogelmikrostrukturen sofort vom Substrat ab, sobald sie in Wasser eingetaucht werden oder mit Wasser abgespült werden. Daher ist es notwendig, das Hydrogel mit dem Substrat dauerhaft zu verbinden. Die stabilste Art der Wechselwirkung zwischen Substrat und dem Hydrogel ist eine kovalente Verbindung. Die von PRUCKER UND RÜHE [9] vorgestellte Methode zur kovalenten Ankopplung von Polymeren an Substrate konnte auch auf Hydrogele übertragen werden. Eine einfachere Methode, die für die Sensoranwendung eingesetzt wurde, geht davon aus, dass eine auf dem Substrat immobilisierte Doppelbindung während des Prozesses der radikalischen Polymerisation in das Hydrogel eingebaut wird. Damit wird das Gel ebenfalls kovalent mit dem Substrat verbunden.

Dazu wird ein Glassubstrat 24 Stunden in eine 2 Vol.-%ige ethanolische Lösung des 3-(Trimethoxysilyl)propyl methacrylat (Abbildung 3-9) eingelegt. Zunächst wird das Substrat mit absolutem Ethanol für 30 Minuten im Ultraschallbad gereinigt. Nach der Trocknung wird es für 30 Minuten in CARO'sche¹ Säure (75 Vol.-% konzentrierte Schwefelsäure (96 %) und 25 Vol.-% Wasserstoffperoxid (30 %)) eingelegt und anschließend mit destilliertem Wasser neutral gespült. Die Trocknung erfolgt im Trockenschrank bei 120 °C für zwei Stunden. Nach 24 Stunden in der ethanolischen Lösung wird das Substrat mit absolutem Ethanol abgespült und an der Luft getrocknet. Das Substrat kann dann zur Immobilisierung von Hydrogelen eingesetzt werden. SCHUMACHER [8] hat eine ähnliche Methode bereits vorgestellt.

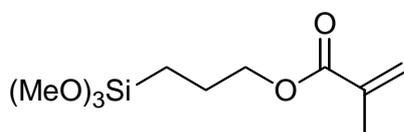


Abbildung 3-9 Dieses 3-(Trimethoxysilyl)propyl methacrylat wurde aus einer ethanolischen Lösung auf einem Glassubstrat abgeschieden. Es soll dort als „Monomer“ dienen und während der radikalischen Polymerisation in das Hydrogel eingebaut werden.

Gelstrukturen, die nach diesem Verfahren auf Glassubstraten immobilisiert wurden, konnten mehrere Monate in Wasser gelagert werden, ohne dass sich die Struktur ablöste. Abbildung 3-10 zeigt eine solche Hydrogelmikrostruktur, die sechs Monate in MP-Wasser gelagert wurde. Die Struktur ist immer noch intakt. Lediglich an manchen Stellen sind die Gelbalken unterbrochen, was auf eine nicht vollständige Polymerisation hindeutet.

¹ Vorsicht! CARO'sche Säure ist extrem ätzend und reagiert heftig, unter Umständen explosiv mit organischen Materialien.

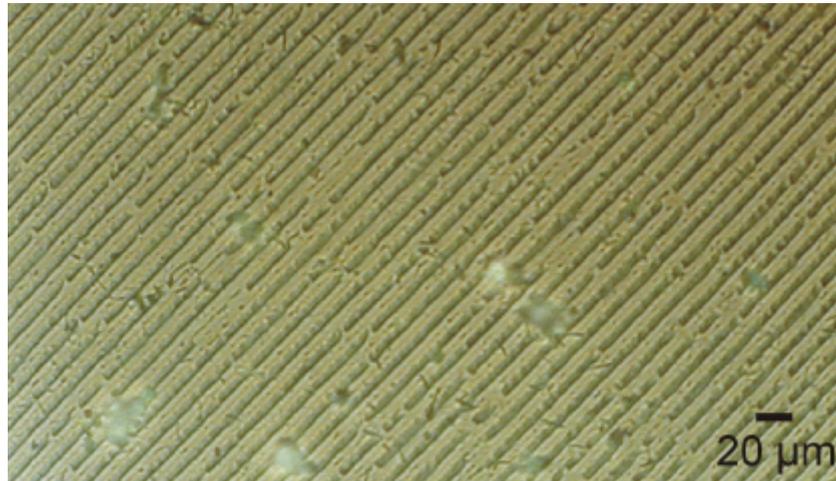


Abbildung 3-10 Dies ist eine Hydrogelmikrostruktur eines Acrylamid-Gels, die sechs Monate in MP-Wasser gelagert wurde. Die Struktur hat sich dennoch nicht vom Substrat abgelöst. Das Substrat wurde zuvor nach der beschriebenen Methode mit 3-(Trimethoxysilyl)propyl methacrylat beschichtet. Der Mittenabstand der Gelbalken beträgt 8 μm. Die Dicke eines Gelbalkens beträgt 4 μm.

Um einen Eindruck von der Stabilität der Wechselwirkung zwischen Hydrogel und Substrat zu bekommen, wurde ein P(MAA-g-EG)-Hydrogel auf ein Substrat polymerisiert, das mit 3-(Trimethoxysilyl)propyl methacrylat beschichtet war. Das Gelstück konnte einer Zugbelastung stand halten (Abbildung 3-11). Das Haftverhalten kovalent immobilisierter Hydrogele wird im folgenden Kapitel ausführlicher untersucht.

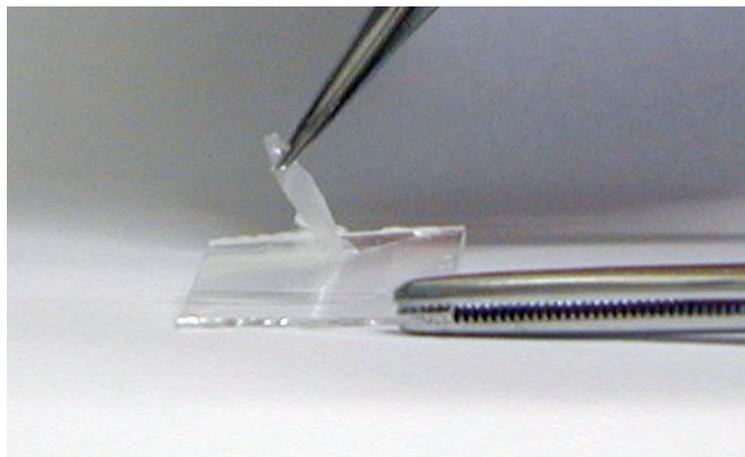


Abbildung 3-11 Dieses Substrat wurde vor dem Aufpolymerisieren des P(MAA-g-EG)-Hydrogels mit dem Trimethoxysilan beschichtet. Es ist deutlich zu erkennen, wie das Gelstück dem Zug, der durch die Pinzette ausgeübt wird, stand hält.

3.3.2 Die Zusammensetzung der Monomerlösungen

Zur Herstellung eines pH- und glucose-sensitiven beugungsoptischen Sensors wurde ein Copolymer aus Poly(methacrylsäure) und Poly(ethylenglykol) verwendet, das bereits eine pH-Sensitivität besitzt (Tabelle 3-2).

Tabelle 3-2 Zusammensetzung der Monomerlösung des pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels.

Substanz	Menge
Methacrylsäure	8.8 g
Poly(ethylenglykol) (400) monomethylethermonomethacrylat	1.2 g
Tetraethylenglykoldimethacrylat	92.4 μ l
MP-Wasser	5 ml
absolutes Ethanol	5 ml

In ähnlicher Zusammensetzung wurde dieses Hydrogel von HASSAN *et al.* [10] vorgestellt. Die Zusammensetzung der Monomerlösung wurde hier auf die Anforderungen zur optimalen Strukturierbarkeit und Empfindlichkeit gegenüber Glucose hin optimiert.

Die Methacrylsäure wurde vor ihrer Verwendung über neutrales Aluminiumoxid gesäut, um den Stabilisator Hydrochinonmonomethylether zu entfernen. Anschließend wurde sie bei 50 °C und 20 mbar (15 Torr) vakuumdestilliert und vor der Lagerung bei -18 °C im Gefrierschrank dreimal entgast. Zum Entgasen wurde die Methacrylsäure, die sich in einem Schlenk-Rohr befand, mit flüssigem Stickstoff eingefroren und anschließend unter einem Vakuum aufgetaut.

Der Vernetzer Tetraethylenglykoldimethacrylat wurde über basisches Aluminiumoxid gesäut, um den Stabilisator Hydrochinon zu entfernen. Von einer anschließenden Destillation wurde abgesehen, da aufgrund der hohen Molmasse sehr hohe Temperaturen angewendet werden müssten, welche eine Polymerisation auslösen könnten. Erfahrungswerte bei der Destillation des niederen Homologen Diethylenglykoldimethacrylat belegen, dass eine Destillation nur äußerst schwierig durchzuführen ist [11]. Vor der Lagerung im Gefrierschrank wurde auch das Tetraethylenglykoldimethacrylat dreimal entgast. Alle anderen Chemikalien wurden ohne weitere Aufarbeitung eingesetzt.

Die Monomerlösung (Tabelle 3-2) wurde mit etwas weniger Ethanol angesetzt als bei der von HASSAN *et al.* [10] beschriebenen Mischung. Dies hängt damit zusammen, dass sich mit einem geringeren Ethanolanteil bessere Ergebnisse bei der Strukturierung des Hydrogels mittels MIMIC ergaben. Da die Menge und Art des Lösungsmittels Einfluss auf die Bildung des Netzwerks während der Polymerisation hat, wurde diese Zusammensetzung für alle folgenden Experimente beibehalten.

Die Initiierung der Polymerisation mit Ammoniumperoxodisulfat und Natriumdisulfid nach [10] erwies sich für die Strukturierung als ungeeignet. Mit diesen Initiatoren setzt die Polymerisation unvermittelt ein, da in wässrigen Lösungen schon bei niedrigen Temperaturen der homolytische Zerfall der schwachen Sauerstoff-Sauerstoff-Bindung und der Schwefel-Schwefel-Bindung des Persulfats bzw. des Disulfids einsetzt. Somit war es nicht möglich, den Polymerisationsprozess kontrolliert ablaufen zu lassen. Aus diesem Grund wurde der thermisch und photolytisch initiiere Starter 4,4'-Azobis-(4-cyanopentansäure) verwendet, dessen Zerfallscharakteristik der des 2,2'-Azobis-(isobutyronitril) (AIBN) sehr ähnlich ist, so dass die Polymerisation sowohl thermisch als auch mit UV-Licht gestartet werden kann. Des Weiteren ist 4,4'-Azobis-(4-cyanopentansäure) in dem verwendeten Lösungsmittelgemisch aus Ethanol und MP-Wasser gut löslich. Zur Polymerisation wurden 108 mg 4,4'-Azobis-(4-cyanopentansäure) verwendet.

Die Zusammensetzung der Monomerlösung des glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels (Tabelle 3-3) wurde besonders auf eine hohe Empfindlichkeit gegenüber Glucose optimiert. Im Vergleich zu der Zusammensetzung des glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels aus [10] wurden die Anteile der Enzyme und des Wassers erhöht und die Menge des Ethanols reduziert.

Tabelle 3-3 Zusammensetzung der Monomerlösung des glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels.

Substanz	Menge
MP-Wasser	6 ml
Natriumcarbonat	800 mg
Glucoseoxidase (~ 200 U/mg) ² , Pulver, lyophilisiert	300 mg
Katalase ($\sim 70\,000$ U/ml), Suspension in 3.2 M (NH ₄) ₂ (SO ₄)-Lösung	350 μ l
Acrylsäurechlorid	5 μ l
Methacrylsäure	8.8 g
Poly(ethylenglykol) (400) monomethylethermonomethacrylat	1.2 g
Tetraethylenglykoldimethacrylat	95 μ l
absolutes Ethanol	4 ml

² 1 U entspricht der Enzymmenge, die 1 μ mol Substanz bei pH 7 und 25 °C umsetzt.

Versuche haben gezeigt, dass wässrige Lösungen der beiden Enzyme auf Säurezugabe und auf Zugabe von Ethanol zunächst viskoser werden, bevor die Enzyme beginnen auszufallen. Aus diesem Grund wurde der Anteil des Natriumcarbonats und das Wasser-Ethanol-Verhältnisses im Vergleich zu [10] verändert.

Zunächst wurden die beiden Enzyme und das Natriumcarbonat im Wasser gelöst. Diese Lösung wurde auf ca. 4 °C abgekühlt bevor das Acrylsäurechlorid zugegeben wurde. Anschließend wurde die Mischung für eine Stunde kräftig gerührt. Die übrigen Komponenten wurden gemischt und tropfenweise zugegeben. Auf das Entgasen der Lösung wurde wegen der Enzyme verzichtet. Stattdessen wurde nach dem Zusammenmischen für ca. 20 Minuten Argon durch die Lösung geleitet. Die Lösung wurde unter Argon bei -18 °C im Gefrierschrank aufbewahrt. Zur Polymerisation wurden 108 mg 4,4'-Azobis-(4-cyanopentansäure) verwendet.

Durch die Umsetzung des Acrylsäurechlorids mit den Enzymen Glucoseoxidase und Katalase soll diesen über eine Amidbindung eine Doppelbindungsfunktionalität verliehen werden, die es ermöglicht, diese Enzyme im Verlauf der radikalischen Polymerisation kovalent mit dem Polymerrückgrat zu verbinden. Diese Enzyme sind notwendig, um dem Hydrogel eine Sensitivität gegenüber Glucose zu verleihen. Das Reaktionsprinzip beruht auf der Oxidation der Glucose zur Gluconsäure durch die Glucoseoxidase (3.7). Damit ist eine Änderung des pH-Werts in der Umgebung des Hydrogels verbunden, worauf sich der Quellungszustand des Gels ändert. Das Enzym Katalase ist notwendig, um das gebildete Wasserstoffperoxid in molekularen Sauerstoff umzuwandeln (3.8), der dann wieder zur Oxidation der Glucose eingesetzt werden kann.



3.3.3 Die Herstellung mikrostrukturierter Hydrogel-Proben

Alle Proben wurden auf Glassubstraten hergestellt, die nach der in Abschnitt 3.3.1 beschriebenen Weise präpariert waren. Zur Herstellung der mikrostrukturierten Hydrogel-Proben wurden die Monomerlösungen sowohl thermisch als auch mit UV-Strahlung polymerisiert.

Die thermische Polymerisation erfolgte im Trockenschrank in einer Wasserdampf-atmosphäre, die dem Austrocknen der Monomerlösung entgegenwirken sollte. Die Polymerisationszeit wurde dabei zwischen 24 Stunden und 72 Stunden und die Polymerisationstemperatur zwischen 40 °C und 60 °C variiert. Nach diesem Verfahren wurden nur Monomerlösungen des pH-sensitiven Hydrogels polymerisiert.

Die Polymerisation durch UV-Bestrahlung erfolgte in einem Schlenk-Rohr unter Argon-Atmosphäre in einem Southern-New-England-Ultraviolett-Company-Rayonet--RPR-200-UV-Reaktor unter Verwendung einer von 16 Lampen mit einer Wellenlänge von 350 nm. Die Bestrahlungszeiten variierten zwischen 30 Minuten und zwei Stunden.

Um den störenden Einfluss des Radikalfängers Sauerstoff so gering wie möglich zu halten, wurden die Stempel und die Monomerlösung in einer Glovebox unter Argon-Atmosphäre auf die Substrate aufgebracht und anschließend in das Schlenk-Rohr transferiert.

Die Empfindlichkeit der Enzyme auf UV-Bestrahlung wurde an einer wässrigen Enzymlösung untersucht, die an Raumluft mit 350 nm bestrahlt wurde. Nach drei Stunden Bestrahlung zeigten sich noch keine Einschränkungen der Enzymaktivität, die durch pH-Messung an einer Glucoselösung überprüft wurde. Die Temperaturempfindlichkeit einer wässrigen Enzymlösung wurde bei 60 °C und 40 °C untersucht. Bei 40 °C behielten die Enzyme ihre Aktivität über einen Zeitraum von fünf Tagen bei, was wiederum durch die Messung der pH-Wert Änderung einer Glucoselösung überprüft wurde. Bei 60 °C verloren die Enzyme ihre Aktivität schon nach 2-3 Tagen.

3.4 Literaturverzeichnis

- [1] E. KIM, Y. XIA, AND G. M. WHITESIDES, *Nature* **376**, 581-584 (1995).
- [2] Y. XIA UND G. M. WHITESIDES, *Angew. Chem.* **110**, 568-594 (1998).
- [3] E. KIM, Y. XIA, AND G. M. WHITESIDES, *J. Am. Chem. Soc.* **118**, 5722-5731 (1996).
- [4] E. KIM AND G. M. WHITESIDES, *J. Phys. Chem. B* **101**, 855-863 (1997).
- [5] M. K. CHAUDHURY AND G. M. WHITESIDES, *Langmuir* **7**, 1013-1025 (1991).
- [6] O. J. A. SCHUELLER, X.-M. ZHAO, G. M. WHITESIDES, S. P. SMITH, AND M. PRENTISS, *Adv. Mater.* **11** (1), 37-41 (1999).
- [7] E. DELAMARCHE, H. SCHMID, B. MICHEL, AND H. BIEBUYCK, *Adv. Mater.* **9** (9), 741-746 (1997).
- [8] J. SCHUMACHER, *Dissertation*, Universität Heidelberg (2001).

- [9] O. PRUCKER AND J. RÜHE, *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* **304**, 167-172 (1993).
- [10] C. M. HASSAN, F. J. DOYLE III, AND N. A. PEPPAS, *Macromolecules* **30**, 6166-6173 (1997).
- [11] O. PRUCKER, IMTEK, Freiburg, *persönliche Mitteilung*.

4 Immobilisierung von Hydrogelen auf Oberflächen

Das folgende Kapitel befasst sich mit Untersuchungen zum Haftverhalten immobilisierter Hydrogele, die am MPI für Polymerforschung in Mainz durchgeführt wurden. Die kovalente Immobilisierung der Hydrogele ist für die hier vorgestellte beugungsoptische Sensoranwendung bei Messungen unter Flüssigkeiten unbedingt notwendig, da sich Hydrogele, die nicht auf dem Substrat immobilisiert sind, beim Kontakt mit einer Flüssigkeit sofort ablösen.

Zur kovalenten Immobilisierung der Hydrogele wurde hier ausschließlich die Methode von PRUCKER UND RÜHE [1] verwendet. Dieses Verfahren zur kovalenten Immobilisierung von Polymeren wurde bereits eingehend untersucht [2-6].

Ziel dieser Arbeit war es, diese Methode des kovalenten Ankoppelns von Polymeren kennenzulernen und auf Hydrogele zu übertragen. Um Erfahrungen mit dem Haftverhalten von kovalent angekoppelten Hydrogelen zu sammeln, wurden Schermessungen an speziell hergestellten Proben durchgeführt.

Im Folgenden sollen zunächst kurz die wichtigsten Methoden des kovalenten Ankoppelns von Polymeren vorgestellt werden. Anschließend wird die Präparation der Proben und die eigenen Messungen und Ergebnisse gezeigt.

4.1 Methoden der kovalenten Bindung von Polymeren an Substrate

Polymere lassen sich auf verschiedene Weisen auf Substraten abscheiden. Beispielsweise können sie durch einfaches Eintauchen (dip coating) oder Aufschleudern (spin coating) auf Substrate aufgebracht werden.

Die Adhäsion dieser auf diese Art aufgetragenen physisorbierten Schichten ist jedoch nicht sehr stark. Diese Systeme sind Konkurrenzadsorptionen niedermolekularer Moleküle, beispielsweise aus dem Lösungsmittel oder der Luftfeuchtigkeit, ausgesetzt. Die Adsorption von Lösungsmittelmolekülen führt dazu, dass der Polymerfilm von der Oberfläche verdrängt wird. Das vordringlichste Anliegen im Rahmen dieser Arbeit war, die Verdrängung des Polymerfilms zu verhindern.

Weitaus stärkere und auch stabilere Wechselwirkungen zwischen Substrat und Adsorbat ergeben sich durch die Ausbildung kovalenter Bindungen. Beispielsweise lassen sich mit Thiolen auf Gold sogenannte *self-assembled monolayers* (SAM, selbstaggregierende Monolagen) [7] aufbauen.

Auch auf anderen Substraten lassen sich solche selbstaggregierende Monolagen abscheiden. Beispielsweise findet eine spontane Adsorption langkettiger *n*-Alkylcarbonsäuren auf Aluminiumoxid und Silber statt [7]. Die treibende Kraft ist die ionische Wechselwirkung zwischen der Carboxylatgruppe und der Metall(oxid) Oberfläche. Auf Substraten aus Siliziumoxid, Aluminiumoxid, Glas und Germaniumoxid lassen sich Alkylchlorosilane und Alkylalkoxysilane als SAMs abscheiden [7], wobei die Ausbildung von Si–O-Bindungen zwischen dem Substrat und den Silanen die treibende Kraft ist.

Die kovalente Immobilisierung von Polymeren kann auf zwei verschiedene Arten realisiert werden. Durch die Technik des *grafting to*, bei der eine funktionelle Gruppe, welche am Polymer lokalisiert ist, mit einer geeigneten reaktiven Gruppe auf dem Substrat reagiert. Beispielsweise lassen sich so Polymere, die eine terminale Chlor-silangruppe tragen, auf einem Substrat mit oberflächenständigen Hydroxylgruppen durch die Bildung von Silanolgruppen kovalent immobilisieren [8]. Diese Reaktionen sind in der Regel leicht durchführbar, besitzen aber den Nachteil, dass die Ausbeute an Oberflächenreaktionen und damit die Pfropfdichte der Polymermoleküle auf der Oberfläche sehr gering ist, da nachfolgende Polymermoleküle gegen einen Konzentrationsgradienten hin zur Oberfläche diffundieren müssen. Je größer die Konzentration der Polymermoleküle an der Oberfläche wird, umso ungünstiger wird dieser Transport.

Der zweite Ansatz, die *grafting from* Technik, umgeht dieses Problem, indem das Polymer von der Oberfläche her aufwächst. Dazu wird zunächst ein geeignetes Startermolekül auf der Oberfläche immobilisiert, welches die Polymerisationsreaktion auslöst und als Endgruppe in das Polymer eingebaut wird [1, 9, 10]. Das Polymer bleibt während des gesamten Wachstumsprozesses kovalent mit der Oberfläche verbunden. Mit dieser *grafting from* Methode lassen sich alle Polymere immobilisieren, die durch eine Kettenreaktion gebildet werden können.

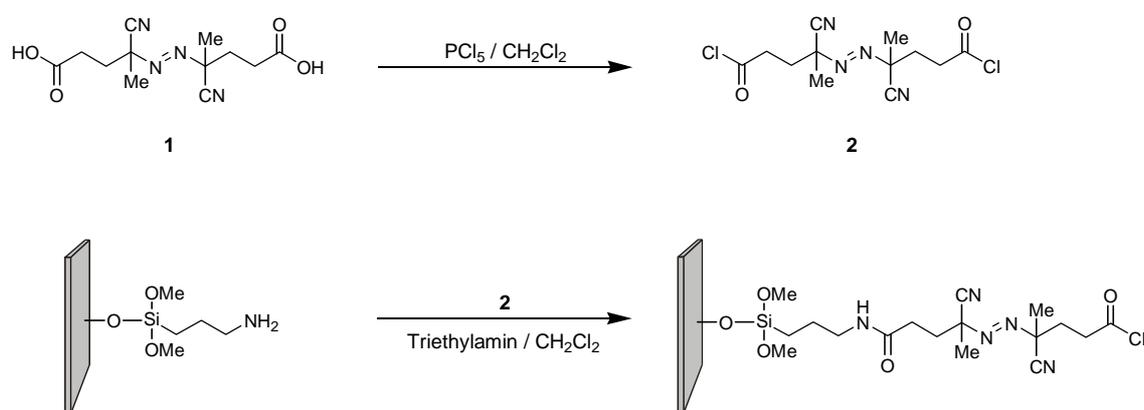


Abbildung 4-1 Die Immobilisierung des 4,4'-Azobis-(4-cyanopentansäurechlorids) nach BOVEN et al. [10] auf funktionalisiertem Kieselgel. Dargestellt ist nur eine mögliche Anordnung des Initiators auf der Oberfläche. Denkbar wäre auch die Bindung über beide Endgruppen an die Oberfläche.

Abbildung 4-1 zeigt die von BOVEN *et al.* [10] vorgestellte Methode zur Immobilisierung der 4,4'-Azobis-(4-cyanopentansäure) in Form des Säurechlorids auf aminofunktionalisiertem Kieselgel. Im Anschluss an die Immobilisierung kann die Polymerisationsreaktion thermisch oder photolytisch in Gegenwart eines geeigneten Monomers oder der Lösung eines Monomers gestartet werden.

PRUCKER und RÜHE [1, 2-6] haben ein System von Radikalinitiatoren entwickelt, welche ebenfalls im *grafting from* Prozess eingesetzt werden können. Durch den Einbau einer Estergruppe in das Initiatormolekül lassen sich die gebildeten Polymere durch säurekatalysierte Esterspaltung vom Substrat entfernen. Dadurch ist es möglich, eine Molekulargewichtsbestimmung an Polymeren durchzuführen, die zuvor auf einem Substrat hergestellt wurden.

In einem ersten Ansatz [3] synthetisierten sie, ausgehend vom Säurechlorid der 4,4'-Azobis-(4-cyanopentansäure), den symmetrischen Azoinitiator 4,4'-Azobis-(4-cyanopentansäure-(3"-chlordimethylsilyl)propylester) (Azodisilan, ADS) **3**, dessen Strukturformel in Abbildung 4-2 zu sehen ist. Die Synthese dieser Verbindung verläuft analog dem in Abbildung 4-3 gezeigten Syntheschema. Anstelle der Verbindung **4** wird die 4,4'-Azobis-(4-cyanopentansäure) eingesetzt und in das Säurechlorid überführt.

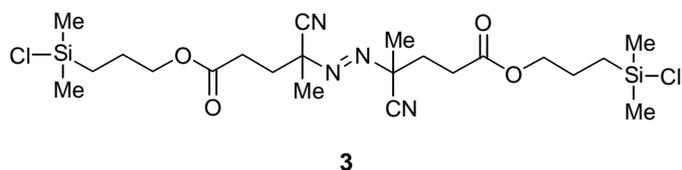


Abbildung 4-2 Die Strukturformel des symmetrischen Azoinitiators 4,4'-Azobis-(4-cyanopentansäure-(3"-chlordimethylsilyl)propylester) (Azodisilan, ADS).

Dieser symmetrische Azoinitiator ist jedoch nicht geeignet zur Untersuchung der Mechanismen und der Kinetik der Radikalkettenreaktion, die von einem immobilisierten Azoinitiator ausgelöst wird. Wesentlicher Nachteil ist die Bifunktionalität des Moleküls in Bezug auf die Fähigkeit, mit beiden Enden mit dem Substrat zu reagieren, wodurch ein Molekül ein oder zwei Bindungsstellen besetzen kann. Aus diesem Grund haben PRUCKER UND RÜHE [4] einen asymmetrischen Azoinitiator – 2',4-Azo-(2'-cyanopropyl)-(4-cyanopentansäure-(3"-chlordimethylsilyl)propylester); kurz: Azomochlorsilan, AMCS – **7** synthetisiert. Das Syntheschema ist in Abbildung 4-3 dargestellt.

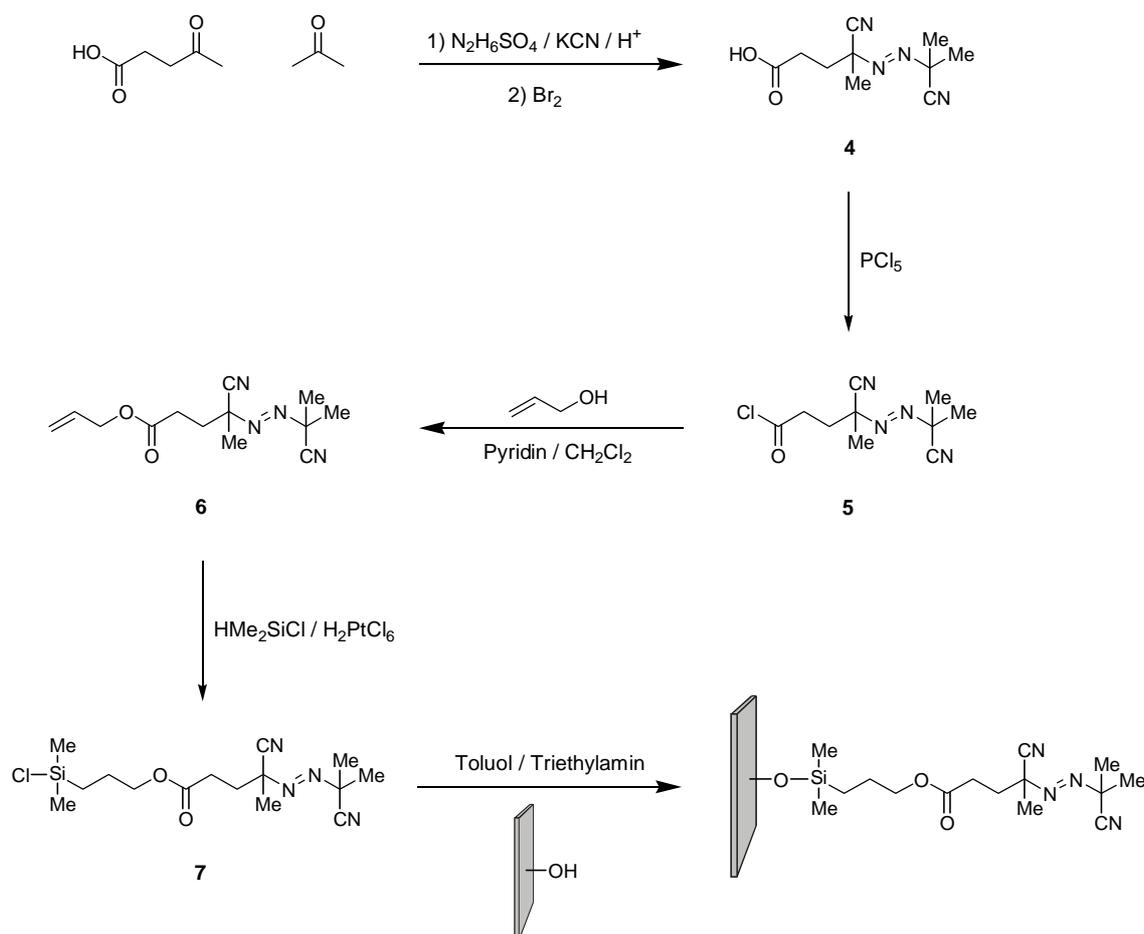


Abbildung 4-3 Syntheschema zur Darstellung des asymmetrischen Azoinitiators 2',4-Azo-(2'-cyanopropyl)-(4-cyanopentansäure-(3''-chlordimethylsilyl)propylester) nach [4]. Dieser Initiator kann nur über eine Endgruppe kovalent mit der Oberfläche verbunden werden.

Aufgrund der Monofunktionalität kann der asymmetrische Azoinitiator **7** nur über eine Seite mit dem Substrat kovalent binden, so dass er nur eine Bindungsstelle des Substrats belegt. Damit kann die Oberflächenbedeckung genau kontrolliert werden. Da der Initiator ein dem AIBN ähnlichen Aufbau besitzt, sollte seine Zerfallskinetik ebenfalls ähnlich sein. Somit kann man gezielt die Oberflächenbedeckung durch partiellen thermischen Zerfall kontrollieren.

Diese besonderen Eigenschaften des asymmetrischen Initiators **7** sind für die Untersuchungen zur kovalenten Ankopplung eines Hydrogels nicht von Bedeutung, so dass alle Untersuchungen mit dem leichter zugänglichen, symmetrischen Initiator **3** durchgeführt wurden.

4.2 Die Untersuchungsmethode

Zur Untersuchung des Haftverhaltens kovalent immobilisierter Hydrogele wurde ein System aus Glasobjektträgern, die durch eine Hydrogelschicht zusammengehalten werden, entwickelt (*Hydrogel-Sandwich-System*). Mit Schermessungen (Abbildung 4-4) soll an diesem System untersucht werden, wie stark kovalent immobilisierte Hydrogele auf Substraten haften können. Damit sollte es möglich sein, das Haftverhalten bei Flächenbedeckungen von einigen Quadratmillimetern quantitativ zu erfassen.

Eine weitere Methode, mit der das Haftverhalten kovalent immobilisierter Hydrogele untersucht werden kann, stellen die Peel-Tests dar (Abbildung 4-4). In einem ersten Versuch wurde dazu bereits ein ca. 2-3 mm dicker Hydrogelfilm auf einen Objektträger aufpolymerisiert, der zur Hälfte mit ADS beschichtet war. Messungen an diesem System wurden bisher nicht vorgenommen. Daher werden im Folgenden ausschließlich die Herstellung des Hydrogel-Sandwich-Systems und die Schermessungen an diesem System beschrieben.

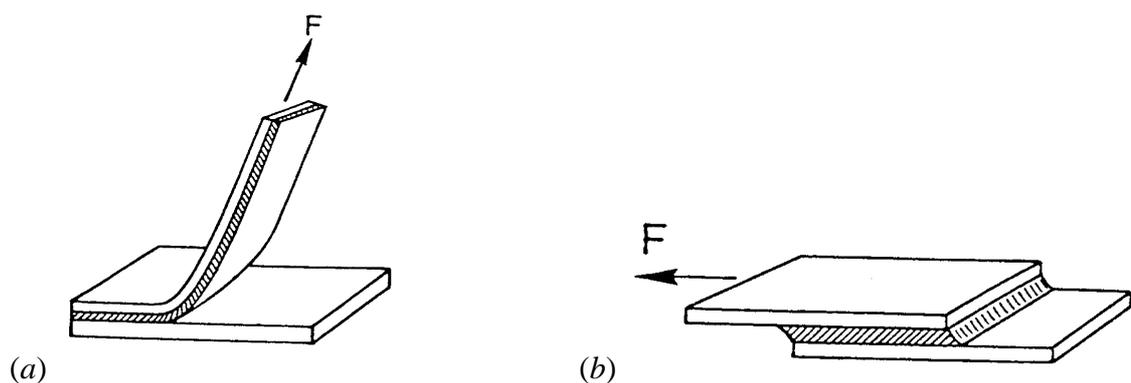


Abbildung 4-4 Darstellung von Untersuchungsmethoden zur Bestimmung des Haftverhaltens immobilisierter Hydrogele. (a) Beim Peel-Test wird die Kraft gemessen, die zum Abziehen des Hydrogels von einem Substrat notwendig ist. (b) Bei der Scherung wird die Kraft gemessen, die zum Dehnen und schließlich zum Auseinanderreißen des „Hydrogel-Sandwich“ notwendig ist. Entnommen aus [11].

4.3 Die Probenpräparation

4.3.1 Die Vorbereitung der Substrate

Als Substrate dienen Glasobjektträger, wie sie in der Mikroskopie verwendet werden (Dimension ca. 76×26 mm). Zur Reinigung werden die Objektträger für ca. 30 Minuten in CARO'sche Säure (75 Vol.-% konzentrierte Schwefelsäure (96 %) und 25 Vol.-% Wasserstoffperoxid (30 %)) eingelegt, anschließend mit destilliertem Wasser neutral gespült und an der Luft getrocknet.

Zur Immobilisierung des symmetrischen Radikalstarters 4,4'-Azobis-(4-cyanopentansäure-(3"-chlordimethylsilyl)propylester) - im folgenden ADS, Azodisilan abgekürzt [3] - wurden 50 ml trockenes Toluol und ca. 2 ml getrocknetes Triethylamin unter Schutzgas in einem Schlenkrohr vorgelegt. Dazu wurden 5 ml einer 50 mM Stammlösung von ADS in Toluol gegeben. Die Objektträger wurden bis zur Hälfte in diese Lösung eingetaucht und unter Lichtausschluss für ca. 20 Stunden bei Raumtemperatur aufbewahrt. Kurz vor der Verwendung wurden die Objektträger aus der Lösung geholt, mit Toluol und Aceton abgespült und anschließend an der Luft getrocknet.

Zur Herstellung der Proben wurde die Monomerlösung des pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels verwendet, deren Zusammensetzung in Kapitel 3 angegeben ist.

4.3.2 Die Herstellung des Hydrogel-Sandwich-Systems

Das Hydrogel-Sandwich-System (Abbildung 4-5) besteht aus zwei Objektträgern, die jeweils zur Hälfte mit ADS beschichtet sind. Zwischen den beiden Substraten befindet sich eine dünne Schicht des Hydrogels.

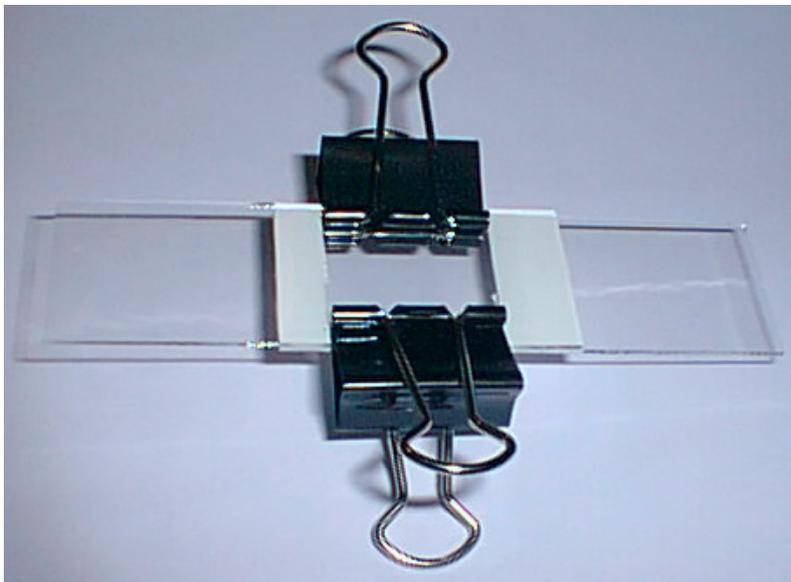


Abbildung 4-5 Diese Konfiguration wurde zur Herstellung des Sandwich-Systems aus Objektträger-Hydrogel-Objektträger verwendet. Als Spacer wurden hier vier Lagen eines Teflonbandes verwendet. Problematisch bei diesem Aufbau waren die Öffnungen, die sich an den Stellen befinden, an denen die Maulklammer sitzen.

Zur Darstellung wurden die Objektträger mit Klammern gegeneinander fixiert. Vor dem Befüllen wurde jedoch zunächst nur eine der beiden Klammern angebracht. Für einen definierten Abstand sorgte eine Schicht Teflonband, die sich zwischen den beiden Objektträgern befand (Abbildung 4-5). Nach dem Befüllen des Systems mit der Monomerlösung wurde die zweite Klammer angebracht. Um das Verdampfen des Lösungsmittels während der Polymerisation zu vermeiden, wurde das ganze System mit Teflonband abgedichtet. Zum Auspolymerisieren werden die Proben bei 65 °C 16 bis 18 Stunden in den Trockenschrank gelegt. Nach der Polymerisation wurden die Klammern und das Teflonband entfernt.

Aufgrund der Beschichtung der beiden Substrate ist das gebildete Hydrogel auf beiden Seiten kovalent mit den Objektträgern verbunden. Proben, die mit unbeschichteten Objektträgern hergestellt wurden, zerfielen nach dem Entfernen der Klammern.

Das Abdichten der Proben erwies sich als außerordentlich schwierig. So war es mit der oben beschriebenen Konfiguration nicht möglich, den gesamten Raum zwischen den Substraten blasenfrei abzudichten. Weiterhin ist es mit dieser Konfiguration schwierig, die Dicke des Hydrogelfilms über mehrere Proben konstant zu halten, da der Spacer aus mehreren Lagen Teflonband aufgebaut ist. Daher wurde das Teflonband gegen einen Teflonrahmen mit einer Dicke von 0.5 mm ausgetauscht. Der Teflonrahmen besteht aus zwei Teilen, die sich nach der Polymerisation leicht entfernen lassen. Im oberen Bereich befindet sich eine Öffnung, durch die die Monomerlösung eingefüllt werden kann. Vor dem Polymerisieren wird diese mit einem Teflonstück verschlossen, so dass das gesamte System weitgehend blasenfrei zur Polymerisation gebracht werden kann. Die Substrate wurden wiederum durch zwei Maulklammern gegeneinander fixiert.

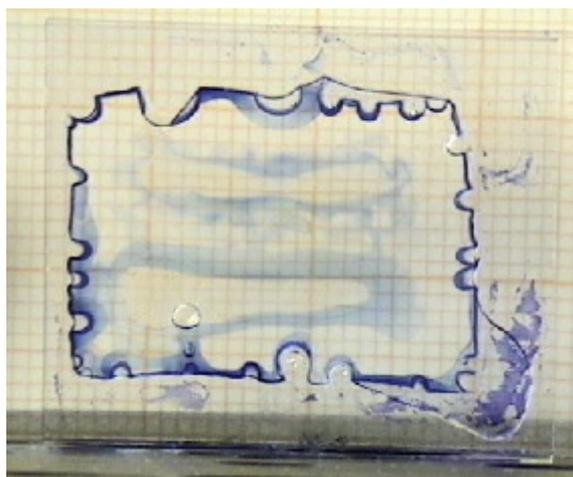


Abbildung 4-6 Um die Fläche zu bestimmen, die das Hydrogel zwischen den Objektträgern bedeckt, war es notwendig, einen stärkeren Kontrast zwischen dem Hydrogel und dem umgebenden Glas herzustellen. Dazu wurde das System in eine wässrige Tintenlösung eingelegt.

Mit dieser verbesserten Konfiguration konnten Proben hergestellt werden, bei denen das Hydrogel eine Fläche von 260 mm^2 bis 400 mm^2 bedeckt. Als Beispiel sei Abbildung 4-6 gezeigt. Das Hydrogel wurde mit einer wässrigen Tintenlösung eingefärbt, damit die Abmessung der Kontaktfläche des Hydrogels besser ermittelt werden konnte.

4.4 Ergebnisse

Das Diagramm in Abbildung 4-7 zeigt die Messkurven, die mit Proben im getrockneten Zustand aufgenommen werden konnten.

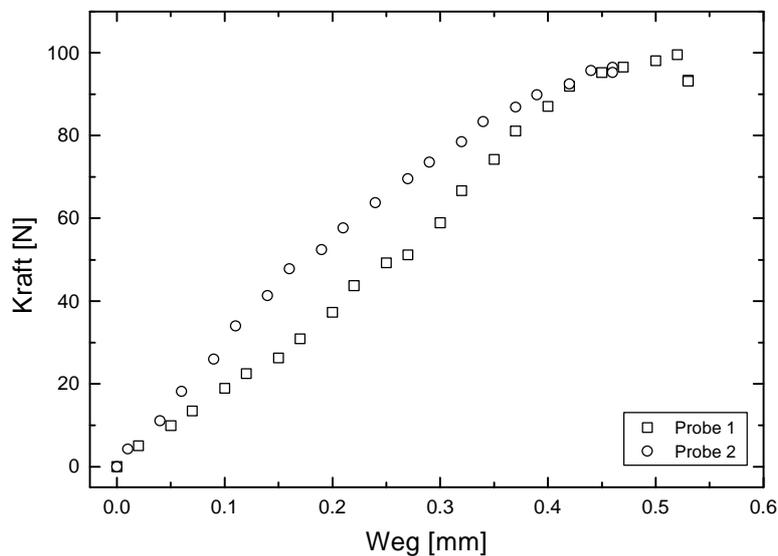


Abbildung 4-7 Dargestellt sind die Messergebnisse der ersten Proben. Beide Proben wurden in trockenem Zustand gemessen. Sie konnten mit der gegebenen Gerätekonfiguration nicht auseinander gezogen werden, da lediglich eine Kraft von maximal 100 N angebracht werden konnte. Nach der Messung wurden die Proben einer taktilen Untersuchung unterzogen, bei der sich der äußerst stabile Zustand bestätigte. Einer Drehbelastung hielten jedoch beide Proben nicht stand.

Aus dem Diagramm (Abbildung 4-7) lässt sich kein Abrisspunkt erkennen. Mit der gegebenen Gerätekonfiguration konnten die Proben nicht auseinander gezogen werden. Dies spricht für den erwarteten Effekt, den eine kovalente Verknüpfung des Hydrogels mit den Substraten erwarten lässt. An dieser Stelle sei nochmals darauf hingewiesen, dass mit unbeschichteten Substraten das Sandwich-System nach dem Entfernen der Klammern sofort auseinander fällt.

Um die Ausbeute der Proben zu erhöhen, die vermessen werden konnten, wurde im Folgenden die verbesserte Probenpräparation unter Verwendung des Teflonrahmens eingesetzt. Des Weiteren wurden die Proben vor den Messungen in destilliertem Wasser gelagert. Somit konnte das Hydrogel nicht mehr austrocknen. Die Messergebnisse aller Proben sind in Abbildung 4-8 zu sehen. Deutlich zu erkennen ist die, im Vergleich zu Abbildung 4-7, schlechtere Haftung der Proben.

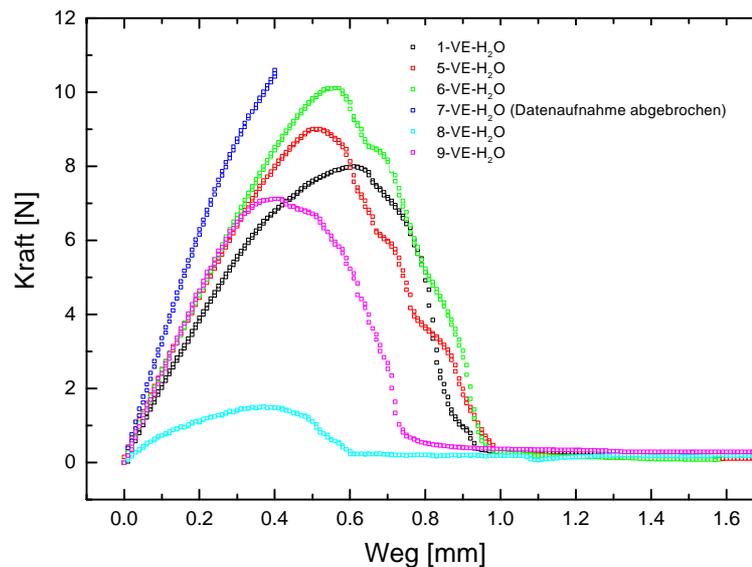


Abbildung 4-8 Dargestellt sind Messergebnisse von Proben, die unter Verwendung eines Teflon-Rahmens hergestellt wurden. Im Gegensatz zu den ersten Messungen wurden die Proben vor der Messung in destilliertem Wasser gelagert, so dass das Hydrogel nicht mehr austrocknete.

Von fünf Proben konnte die Kraft gemessen werden, die zum Abreißen eines Substrats notwendig ist. In allen Messungen wurde das Hydrogel von einem der beiden Substrate ohne sichtbare Rückstände komplett abgelöst. XPS-Messungen, mit denen entschieden werden kann, ob es sich um ein adhäsives oder kohäsives Haftversagen handelt, stehen noch aus.

Für den Fall eines reinen adhäsiven Haftversagens ergibt sich, dass die kovalente Wechselwirkung zwischen dem Hydrogel und dem Substrat schwächer ist als die intramolekulare kovalente Vernetzung des Gels.

Man erwartet eine Korrelation zwischen der vom Polymer bedeckten Fläche zwischen den Substraten und der Kraft, die notwendig ist, um das System auseinanderreißen. Je größer diese Fläche ist, umso größer muss die Kraft sein, die zum Auseinanderreißen benötigt wird.

In Abbildung 4-9 ist die maximale Kraft gegen die Fläche, die das Polymer zwischen den beiden Substraten bedeckt, aufgetragen. Die Steigung der Geraden ergibt sich zu $(2.2 \pm 0.3) \times 10^{-2} \text{ N/mm}^2$. Obwohl nur wenige Messwerte vorliegen, wird die Erwartung bestätigt, dass bei einer größeren Flächenbedeckung durch das Hydrogel eine größere Kraft zum Auseinanderreißen der Proben notwendig ist. Aus den fünf Messwerten kann noch keine verlässliche endgültige Aussage über die Zusammenhänge der Flächenbedeckung und der Abrisskraft gezogen werden. Die gestrichelte Linie deutet an, dass es sich hierbei um einen linearen Zusammenhang handeln kann. Weitere Messungen müssen diesen Trend aber noch bestätigen.

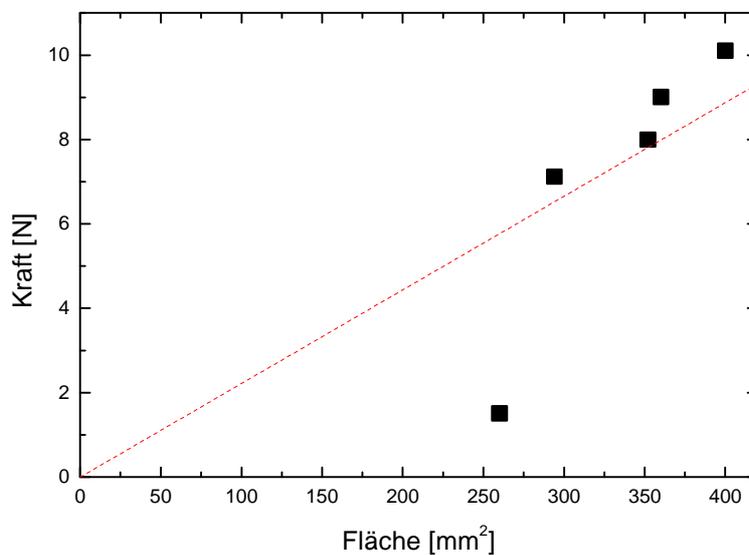


Abbildung 4-9 Aufgetragen ist die Fläche, die das Polymer zwischen den Substraten bedeckt, gegen die Kraft, die notwendig ist, um das System auseinander zureißen. Das natürliche Empfinden, das, je größer die bedeckte Fläche, desto größer die notwendige Kraft, wird durch die vorliegenden Messungen bestätigt. Die gestrichelte Gerade dient zur Orientierung.

Unter der Annahme elastischen Verhaltens der Proben können deren mechanische Eigenschaften durch das HOOK'sche Gesetz beschrieben werden, das davon ausgeht, dass die Spannung der resultierenden Dehnung proportional ist. Dabei ist zu beachten, dass diese Annahme streng nur für kleine Dehnungen gilt. Abbildung 4-10 zeigt die Messergebnisse von sechs Proben für eine Auslenkung bis 0.2 mm.

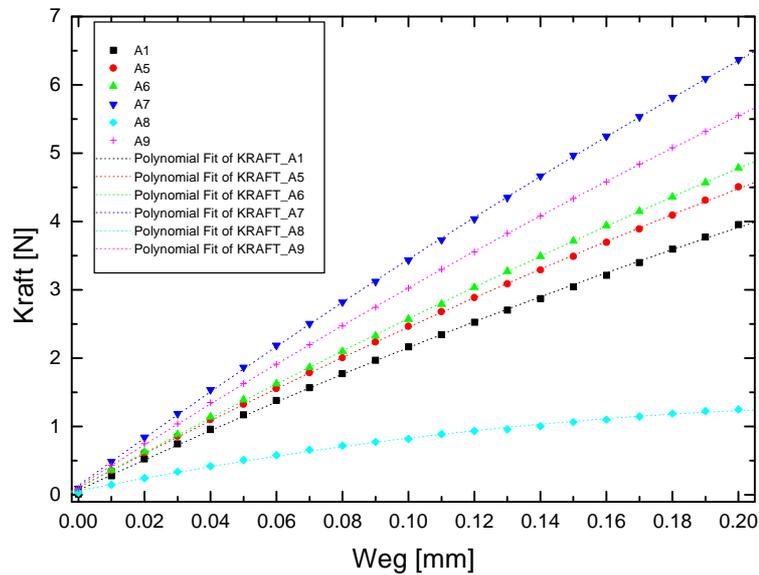


Abbildung 4-10 Dies ist ein Ausschnitt aus Abbildung 4-8 für die Dehnung bis 0.2 mm.

Die Steigung der Messkurven ergibt sich für infinitesimale Auslenkungen durch quadratisches Anfitten der Daten und Ermittlung der ersten Ableitung im Ursprung. Die Werte sind in Tabelle 4-1 wiedergegeben. Außerdem wurden die ermittelten Steigungen auf die Kontaktflächen der Hydrogele normiert.

Tabelle 4-1 Steigungen im Ursprung und auf die Fläche normierte Steigungen der Messkurven.

Probe Nr.	Steigung [N/mm]	Fläche [mm ²]	Steigung/Fläche [N/mm ³]
1	22.54 ± 0.33	352	6.40×10^{-2}
5	25.04 ± 0.21	360	6.96×10^{-2}
6	26.14 ± 0.19	400	6.54×10^{-2}
7	35.07 ± 0.25	376	9.33×10^{-2}
8	9.53 ± 0.24	260	3.67×10^{-2}
9	31.00 ± 0.14	294	1.05×10^{-1}

4.5 Zusammenfassung

Mit den vorliegenden Daten konnte bisher bestätigt werden, dass mit zunehmender Flächenbedeckung des Hydrogels die Kraft, die zum Auseinanderreißen der Probe notwendig ist, größer wird. Bei alle Proben wurde das Hydrogel rückstandsfrei von einem der beiden Substrate abgerissen. Ob es sich dabei um ein reines adhäsives Haftversagen handelt wurde bisher noch nicht weiter untersucht.

Die vorliegenden Ergebnisse entsprechen den Erwartungen, die ein solches System bei den Scherversuchen zeigen soll. Aufgrund der geringen Anzahl vorliegender Messwerte kann hier aber nur ein Trend wiedergegeben werden, der durch weitere Messungen bestätigt werden muss.

Die Steigungen der Messkurven im Bereich infinitesimaler Auslenkung variieren in Abhängigkeit von der Fläche, die durch das Hydrogel abgedeckt wird. Je größer die Fläche, umso größer der Kontakt zwischen Hydrogel und Substrat. Somit erwartet man eine größere Steigung. Dieser Trend kann durch die vorliegenden Messungen nicht eindeutig bestätigt werden.

Des Weiteren konnte bis zu einer Dehnung von 0.2 mm keine lineare Abhängigkeit zwischen der Kraft und der Auslenkung – gemäß dem HOOK'schen Gesetz – beobachtet werden. Im Vergleich zu einer linearen Abhängigkeit flachen die Messkurven schneller ab, was auf eine niedrigere Rückstellkraft der Proben schließen lässt.

Im Verlauf zukünftiger Messungen kann das Haftverhalten der Hydrogele in verschiedenen Quellungszuständen und mit verschiedenen Vernetzerkonzentrationen untersucht werden. Mit zunehmendem Quellgrad werden die Hydrogele labiler, so dass mit Messungen bei verschiedenen Quellungsgraden

der Punkt des kohäsiven Haftversagens gefunden werden kann. Diesem Auseinanderreißen des Hydrogels kann mit einer Steigerung des Vernetzergrades entgegengewirkt werden. Durch diese Untersuchungen wird das Verständnis für das Haftverhalten kovalent immobilisierter Hydrogele erweitert, das dann wesentlich zum Verständnis des immobilisierten und mikrostrukturierten Hydrogels für die Sensoranwendungen beiträgt.

Im Vordergrund weiterer Untersuchungen sollte auch die Verbesserung der Probenpräparation stehen, damit die Ausbeute der Proben, die man einer Messung zuführen kann, größer wird.

Weiterhin kann auch durch Peel-Messungen an kovalent immobilisierten Hydrogelen mehr über das Haftverhalten erfahren werden. Dazu könnte das von CRETON *et al.* [12] beschriebene Verfahren eingesetzt werden.

4.6 Literaturverzeichnis

- [1] O. PRUCKER AND J. RÜHE, *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* **304**, 167-172 (1993).
- [2] J. RÜHE, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **42**, 1237-1246 (1994).
- [3] O. PRUCKER, *Dissertation*, Universität Bayreuth (1995).
- [4] O. PRUCKER AND J. RÜHE, *Macromolecules* **31**, 592-601 (1998).
- [5] O. PRUCKER AND J. RÜHE, *Macromolecules* **31**, 602-613 (1998).
- [6] O. PRUCKER AND J. RÜHE, *Langmuir* **14**, 6893-6898 (1998).
- [7] A. ULMAN, *Chem. Rev.* **96**, 1533-1554 (1996).
- [8] K. P. KRENKLER, R. LAIBLE UND K. HAMANN, *Angew. Makromol. Chem.* **53** (Nr. 810), 101-123 (1976).
- [9] R. LAIBLE UND K. HAMANN, *Angew. Makromol. Chem.* **48** (Nr. 707), 97-133 (1975).
- [10] G. BOVEN, M. L. C. M. OOSTERLING, G. CHALLA, AND A. J. SCHOUTEN, *Polymer* **31**, 2377-2383 (1990).
- [11] BASF, *ZKM Polymerphysik, Festkörperphysik-Arbeitsgebiete und Methoden*, Ludwigshafen (1993).
- [12] C. CRETON, E. J. KRAMER, C.-Y. HUI, AND H. G. BROWN, *Macromolecules* **25**, 3075-3088 (1992).

5 Quellungsstudien an P(MAA-*g*-EG)-Hydrogelen

Je nach ihrer Zusammensetzung reagieren Hydrogele mit einer Änderung ihres Quellungszustandes auf die Änderung von Umgebungsbedingungen. Diese Eigenschaft macht Hydrogele besonders für Sensoranwendungen interessant. Die wichtigsten Umgebungsbedingungen, auf deren Änderung Hydrogele reagieren, sind:

- die Temperatur
- die Lösungsmittelzusammensetzung
- die Ionenstärke
- der pH-Wert
- elektrische Felder

Hydrogele reagieren in der Regel nicht selektiv auf bestimmte Moleküle. Aus diesem Grund müssen sie zunächst funktionalisiert werden, um auf ein bestimmtes Molekül oder eine Stoffgruppe zu reagieren. Die Strategie besteht darin, eine Funktionalität einzuführen, die als Reaktion auf ein bestimmtes Molekül eine der oben erwähnten Änderungen in der Umgebung des Hydrogels hervorruft, damit das Hydrogel mit einer Änderung seines Quellungszustandes darauf reagiert. Die Funktionalisierung des hier verwendeten P(MAA-*g*-EG)-Hydrogels mit Enzymen wird in Kapitel 3 beschrieben.

Das P(MAA-*g*-EG)-Hydrogel zeigt eine starke Abhängigkeit seines Quellungszustandes vom pH-Wert und der Ionenstärke des umgebenden Lösungsmittels. Zur Charakterisierung des Gels wurden Gleichgewichtsquellungsexperimente durchgeführt. Sie sollen Aufschluss darüber geben, in welchem pH-Bereich und in welchem Konzentrationsbereich die größten Änderungen des Quellungszustandes des Hydrogels auftreten. Damit kann der Bereich abgeschätzt werden, in dem der Sensor seine größte Empfindlichkeit besitzt.

Zur Charakterisierung des Hydrogels wurde der Massenquellgrad q bestimmt, der sich aus dem Verhältnis der Masse des gequollenen Gels zur Masse des getrockneten Gels gemäß Gleichung 5.1 berechnet.

$$q = \frac{m_{\text{gequollen}}}{m_{\text{trocken}}} \quad (5.1)$$

5.1 Mechanismen des Quellens und Schrumpfens

In den Quellungsexperimenten werden im Wesentlichen die Fähigkeiten des Netzwerks zur Aufnahme eines Lösungsmittels untersucht. Im Fall der Hydrogele werden die Quellungseigenschaften in verschiedenen wässrigen Lösungen untersucht. Je nachdem, welche Bedingungen vorgegeben werden, kann ein Hydrogel dabei bis zum 100fachen seines eigenen Gewichts an Wasser aufnehmen.

Die Quellungsexperimente sind zur Charakterisierung von Polymernetzwerken besonders geeignet, da aufgrund der kovalenten Vernetzung die Beweglichkeit der Ketten und somit ihre vollständige Trennung voneinander nicht möglich ist. Polymernetzwerke sind somit – im Gegensatz zu nicht verknüpften Polymersträngen – in Lösungsmitteln grundsätzlich unlöslich. Durch das Eindringen von Lösungsmittelmolekülen kommt es zu einem Aufweiten und einem Aufquellen des Netzwerks. Diesem Aufquellen wirkt die Knäuelungstendenz der Ketten entgegen, so dass sich ein Gleichgewichtsquellungsgrad einstellen kann. Die Mechanismen, durch die das Quellungsverhalten eines Hydrogels beschrieben werden kann, sind:

- Die Polymer–Lösungsmittel-Wechselwirkung. Je nach Art des Lösungsmittels und der Zusammensetzung des Hydrogels finden attraktive oder repulsive Wechselwirkungen statt.
- Die Vernetzungsdichte. Je größer der Anteil der Vernetzungsstellen in einem Netzwerk, umso weniger kann es aufquellen.
- Die Gummielastizität, die durch die Elastizität der einzelnen Polymerstränge hervorgerufen wird [1]. Zusätzlich wirkt einer Expansion die Knäuelungstendenz des Netzwerkes entgegen.
- Die osmotischen Effekte, die durch Konzentrationsunterschiede zwischen dem Inneren des Gels und dem umgebenden Lösungsmittel hervorgerufen werden.
- Die Komplexbildungstendenz aufgrund von Wasserstoffbrückenbindungen, die besonders das Quellungsverhalten des P(MAA-g-EG)-Hydrogels bestimmen.
- Die elektrostatischen Wechselwirkungen, die durch die Abstoßung oder Anziehung ionischer Gruppen innerhalb des Netzwerks hervorgerufen werden.
- Der Gegenionendruck, der durch die gegenseitige Abstoßung der gelösten Gegenionen im Gelinneren hervorgerufen wird, die aufgrund der Elektroneutralitätsbedingung das Gel nicht verlassen können.
- Die Temperatur. Je nach der Zusammensetzung des Hydrogels findet mit steigender Temperatur ein stärkeres oder schwächeres Aufquellen statt.

5.2 Die besonderen Eigenschaften des P(MAA-g-EG)-Hydrogels

Das P(MAA-g-EG)-Hydrogel zeigt ein reversibles Komplexierungs- und Dekomplexierungsverhalten, welches im Wesentlichen vom pH-Wert und der Ionenstärke des umgebenden Lösungsmittels bestimmt wird. Weiterhin wird das Quellverhalten dieses Hydrogels von der Temperatur bestimmt. In der Regel ziehen sich PMAA-Gele mit steigender Temperatur kontinuierlich zusammen, wohingegen PAA-Gele mit steigender Temperatur aufquellen [2]. Dieses gegensätzliche Verhalten lässt sich durch die VAN-DEER-WAALS Wechselwirkung, welche bei der Stabilisierung des PMAA-Komplexes überwiegt, erklären.

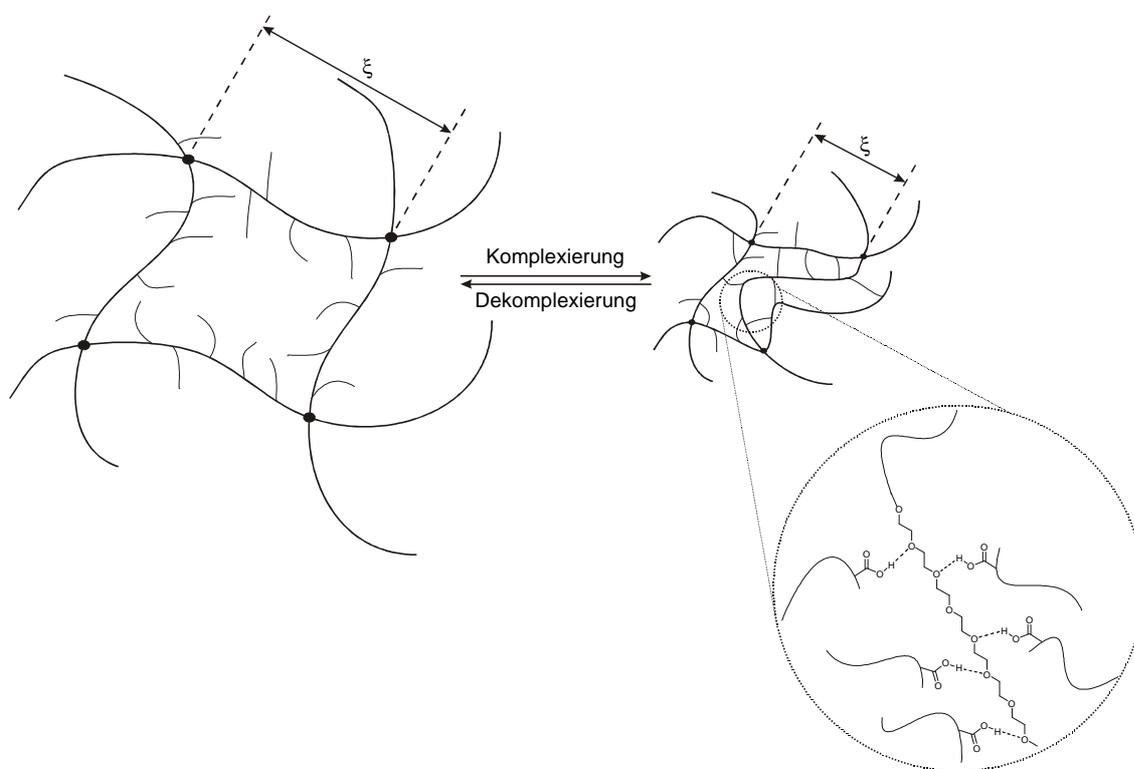


Abbildung 5-1 Dargestellt ist ein Ausschnitt aus dem PMAA-Grundgerüst, in das die PEG-Ketten gefropft sind. Die Verknüpfungspunkte, an denen die PMAA Stränge kovalent miteinander verbunden sind, sind hier durch die Punkte dargestellt. Das P(MAA-g-EG)-Hydrogel zeigt ein reversibles Komplexierungs-/Dekomplexierungsverhalten, welches auf der Bildung bzw. Trennung von Wasserstoffbrücken zwischen den gefropften PEG-Ketten und dem PMAA-Gerüst beruht. Dieses Verhalten tritt dann auf, wenn der pH-Wert der umgebenden wässrigen Lösung verändert wird. Das Ergebnis der Komplexierung ist ein signifikanter Rückgang der Korrelationslänge ξ , der mit einer Reduktion der Maschengröße verbunden ist. Dadurch wird der Querschnitt, durch den eingeschlossene Moleküle diffundieren können, verkleinert, so dass über den pH-Wert das Quell- und Diffusionsverhalten dieses Hydrogels kontrolliert werden kann.

Die Bildung von Interpolymerkomplexen der P(MAA-g-EG)-Netzwerke ist auf die Bildung von Wasserstoffbrücken zwischen den Carboxylgruppen des PMAA-Gerüsts und den Sauerstoffatomen der aufgepfropften PEG-Einheiten zurückzuführen (Abbildung 5-1). Die Komplexbildung wird dabei besonders vom pH-Wert der umgebenden Lösung beeinflusst. Bei niedrigen pH-Werten, im Bereich pH 3 bis pH 4, sind die Carboxylgruppen des PMAA-Gerüsts weitgehend protoniert und zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken mit den Sauerstoffatomen der PEG-Ketten fähig. Steigt der pH-Wert der umgebenden Lösung an, so werden die Carboxylgruppen sukzessive deprotoniert, womit ein Aufbrechen der Wasserstoffbrücken und ein Aufquellen des P(MAA-g-EG)-Hydrogels verbunden ist. Neben dem Aufbrechen der Wasserstoffbrückenbindungen ist mit zunehmender Deprotonierung des PMAA-Gerüsts die gegenseitige Abstoßung der Carboxylatgruppen für das Aufquellen verantwortlich.

Die Stabilität der Interpolymerkomplexe wird von mehreren Parametern bestimmt. Besonders die Länge der aufgepfropften PEG-Einheiten hat einen großen Einfluss auf den Grad der Komplexbildung. Je länger die PEG-Einheiten sind, umso größer ist die Anzahl möglicher Wasserstoffbrücken, umso stärker sind die ausgebildeten Komplexe [3].

Weiterhin bestimmt das Verhältnis der MAA- und EG-Einheiten die Stabilität der Polymerkomplexe. Eine maximale Wechselwirkung tritt dann auf, wenn das Verhältnis der MAA- zu den EG-Einheiten 1:1 beträgt. Werden – bei gleichbleibendem Verhältnis der MAA- zu den EG-Einheiten – längere PEG-Einheiten in das PMAA-Rückgrat eingebaut, so ergibt sich entsprechend der größeren Anzahl an Wechselwirkungsmöglichkeiten eine stärkere Wechselwirkung. Im Fall der Deprotonierung findet dann auch aufgrund der Abstoßung der Carboxylatgruppen eine verstärkte Aufquellung statt [3].

Die Geschwindigkeit, mit der ein Gleichgewichtsquellzustand erreicht wird, hängt stark vom aktuellen Quellgrad des P(MAA-g-EG)-Hydrogels und von den Dimensionen des Gels ab. In einem wenig gequollenen Gel ist der Grad der Komplexbildung hoch, so dass die Diffusion von Wasser in das Hydrogel verlangsamt abläuft. Bei großen Quellgraden hingegen läuft die Diffusion deutlich schneller ab, da durch die geringere Anzahl der Wasserstoffbrücken und die Ionisierung des Polymergerüsts ein weiteres Eindringen von Wasser erleichtert ist.

In Abbildung 5-2 ist die Abhängigkeit des Diffusionskoeffizienten von Wasser in einem P(MAA-g-EG)-Hydrogel in Abhängigkeit vom pH-Wert der umgebenden Lösung dargestellt. Für pH-Werte kleiner pH 4.6 ist der Diffusionskoeffizient deutlich niedriger als für pH-Werte zwischen pH 4.6 und pH 5.6. In diesem pH-Bereich beginnen die Wasserstoffbrückenbindungen aufzubrechen. Dadurch wird die Einschränkung der Diffusion, die im komplexierten Zustand besteht, nach und nach aufgehoben. In pH-

Bereichen oberhalb von pH 5.6 sind die meisten Komplexe dissoziiert. Durch die Ionisierung des PMAA-Gerüsts und der damit verbundenen Abstoßung benachbarter Carboxylatgruppen verläuft die Diffusion von Wasser deutlich schneller.

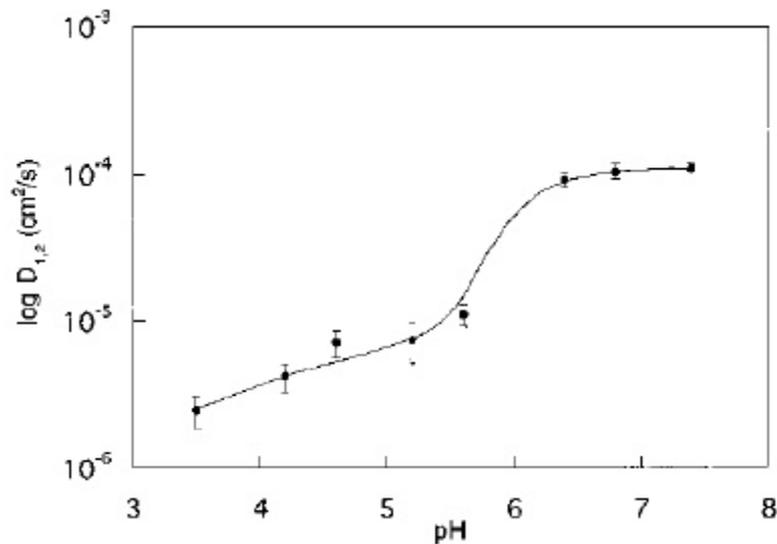


Abbildung 5-2 Diffusionskoeffizienten für Wasser in einem P(MAA-g-EG)-Hydrogel in Abhängigkeit vom pH-Wert (Temperatur 37 °C, Ionenstärke konstant bei 0.1 mol/l). Je niedriger der pH-Wert der umgebenden Lösung – je niedriger der Quellungsgrad des Hydrogels – umso langsamer verläuft die Diffusion. Entnommen aus [3].

5.3 Die Präparation der Proben

5.3.1 Die Zusammensetzung der Monomerlösung

Die Zusammensetzung der Monomerlösung des pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels, mit dem die Gleichgewichtsquellungsversuche durchgeführt wurden, ist in Kapitel 3 beschrieben. Zur Polymerisation wurden 108 mg 4,4'-Azobis-(4-cyanopentansäure) zugegeben.

5.3.2 Die Herstellung der Hydrogelscheiben

Für die Quellungsversuche wurden Hydrogelscheiben mit einem Durchmesser von 8 mm und einer Höhe von 3 mm hergestellt. Zur Herstellung der Hydrogelscheiben wurden Teflonformen benutzt, die in Abbildung 5-3 zu sehen sind. Diese Teflonformen wurden mittels zweier Maulklemmen auf einen Objektträger aufgespannt. Der Druck,

der durch die Maulklemmen auf die Formen ausgeübt wurde, reichte aus, um das System völlig abzudichten. Durch eines der beiden Löcher auf der Oberseite wurde die Monomerlösung so lange eingefüllt, bis das Volumen vollständig ausgefüllt war. Anschließend wurden die Löcher mit den in Abbildung 5-3 gezeigten Teflonstopfen flüssigkeitsdicht verschlossen. In dieser Teflonform wurde die Monomerlösung 72 Stunden bei 60 °C im Trockenschrank polymerisiert.

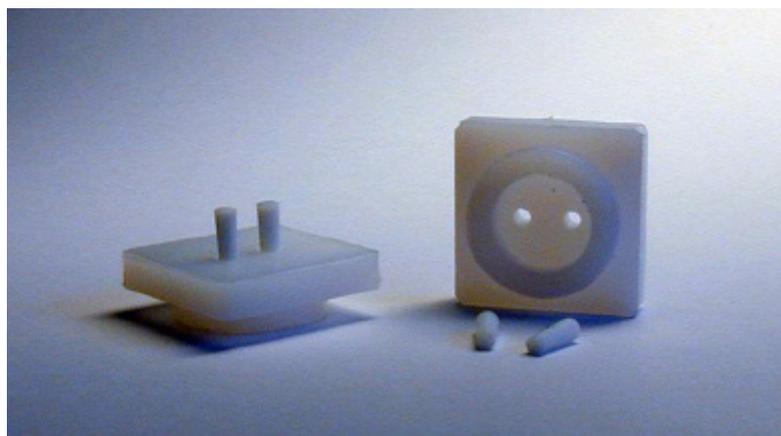


Abbildung 5-3 Diese Teflonformen wurden zum Erstellen der P(MAA-g-EG)-Gelstücke verwendet. Sie wurden mit zwei Maulklemmen flüssigkeitsdicht auf einen Objektträger gespannt. Die Monomerlösung wurde durch die Löcher auf der Oberseite eingefüllt. Mit den Teflonstopfen wurde das System abgedichtet. Der Durchmesser der Form beträgt 8 mm bei einer Höhe von 3 mm.

5.4 Die Durchführung der Quellungsexperimente

5.4.1 Die Vorbereitung der Quellungsexperimente

Zur Untersuchung des Quellungsverhaltens wurden aus zwei verschiedenen Monomerlösungen gleicher Zusammensetzung fünf bzw. sechs Hydrogelscheiben hergestellt. Damit wurde der Massenquellgrad gleichzeitig an fünf bzw. sechs Gelproben in zwei unabhängigen Messreihen bestimmt. Die ermittelten Gleichgewichtsquellgrade der einzelnen Proben innerhalb einer Reihe wurden gemittelt und es wurde die Standardabweichung berechnet.

Direkt nach dem Polymerisieren wogen alle Gelstücke ca. 140 mg. Jedes Gel wurde einzeln zunächst eine Woche in 100 ml Lösung aus 50 Vol.% absolutem Ethanol und

50 Vol.% MP-Wasser eingelegt, um nicht polymerisierte Monomere auszuwaschen. Die Waschlösung wurde während dieser Zeit täglich erneuert. Anschließend wurden die Gelscheiben bis zur Gewichtskonstanz bei 40 °C im Trockenschrank getrocknet. Nach jedem Quellungsexperiment wurde dieser Trockenvorgang wiederholt. Die Gleichgewichtsquellungsexperimente waren dann abgeschlossen, wenn die Massenänderung der Gele pro Tag kleiner als 0.1-0.2 % war.

In den hier vorgestellten Gleichgewichtsquellungsstudien wurde das Quellungsverhalten des P(MAA-g-EG)-Hydrogels in Abhängigkeit von drei verschiedenen Natriumchloridkonzentrationen 1×10^{-3} mol/l, 1×10^{-2} mol/l und 1×10^{-1} mol/l untersucht. Anschließend wurde das Quellungsverhalten für sechs verschiedene pH-Werte im Bereich pH 3.2 bis pH 7.3 gemessen. Die Ionenstärke dieser Lösungen wurde konstant auf 0.1 mol/l gehalten, um den Einfluss der Salzkonzentration auf das Quellverhalten auszuschließen. Die Lösungen wurden aus MP-Wasser, konzentrierter Essigsäure und Natriumhydroxid hergestellt. Anschließend wurde die notwendige Menge Natriumchlorid zugegeben. Alle Quellstudien wurden in einem klimatisierten Labor bei 22 °C bis 24 °C durchgeführt.

5.4.2 Das Quellverhalten in Abhängigkeit von der NaCl-Konzentration

Zur Bestimmung des Quellverhaltens in Abhängigkeit von der Natriumchloridkonzentration wurde jedes Gelstück in 100 ml einer Natriumchloridlösung konstanter Konzentration eingelegt. In den ersten drei Tagen wurden die Lösungen täglich, später jeden dritten Tag und im weiteren Verlauf wöchentlich ausgetauscht. Von Zeit zu Zeit wurden die Gele gewogen. Dazu wurden sie zunächst vorsichtig mit einem Tuch abgetupft und anschließend mit einem Stickstoffstrom sanft abgeblasen. Dabei musste darauf geachtet werden, dass die Gele so wenig wie möglich beschädigt wurden. Gerade im Bereich großer Quellgrade war dies nicht immer möglich, so dass die Gele im Verlauf der Quellstudie in mehrere Teile zerbrachen. Aus diesem Grund wurden die Gele nicht bei jedem Wechsel der Lösungen gewogen.

Um einen Eindruck von dem Quellvermögen des P(MAA-g-EG)-Hydrogels zu bekommen, sind in Abbildung 5-4 Gelstücke in unterschiedlichen Quellungsstadien abgebildet. Es handelt sich dabei um verschiedene Gelstücke, die alle aus derselben Monomerlösung hergestellt wurden. Die Bilder zeigen Gele in verschiedenen Quellungsstadien, die während der Untersuchungen zur Abhängigkeit des Quellverhaltens von der Natriumchloridkonzentration durchlaufen wurden.

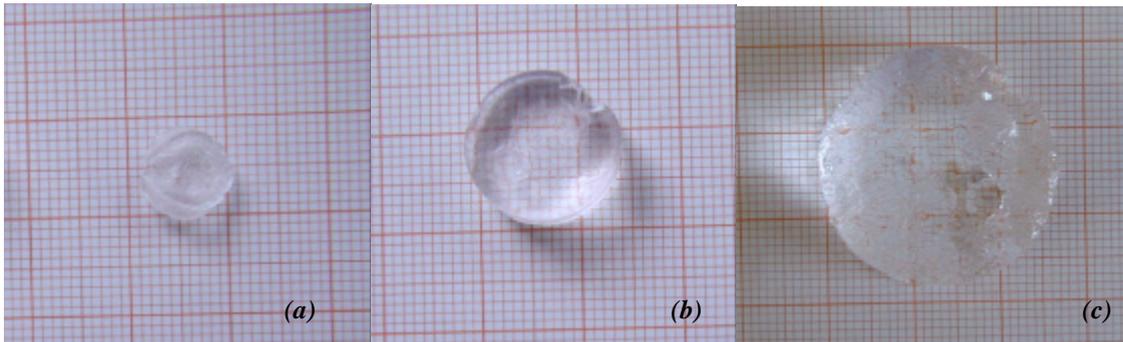


Abbildung 5-4 Diese Darstellung vermittelt einen Eindruck davon, wie stark ein P(MAA-g-EG)-Hydrogel aufquellen kann. Um einen Größenvergleich besser durchführen zu können, wurden die Gelstücke auf Millimeterpapier gelegt. Alle Gelstücke wurden aus derselben Monomerlösung hergestellt. Die Bilder zeigen Gele in verschiedenen Quellungsstadien, die während der verschiedenen Untersuchungen durchlaufen wurden. (a) Das Gel wurde bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Dabei behält es seine ursprüngliche räumliche Ausdehnung nahezu bei. (b) Der Massenquellgrad dieses Gelstücks beträgt 10. (c) Diese Aufnahme zeigt ein Gelstück mit einem Massenquellgrad von 66. Dies ist der größte Quellgrad, der während der Quellungsexperimente mit dem P(MAA-g-EG)-Hydrogel erreicht wurde.

Die Masse der Hydrogelscheiben nimmt im Verlauf des Quellungsperiments zu, bis ein Gleichgewichtszustand erreicht wird. In Abbildung 5-5 ist die Massenzunahme der Gelproben während einer Messreihe dargestellt. Alle anderen Messkurven zeigen einen vergleichbaren Verlauf.

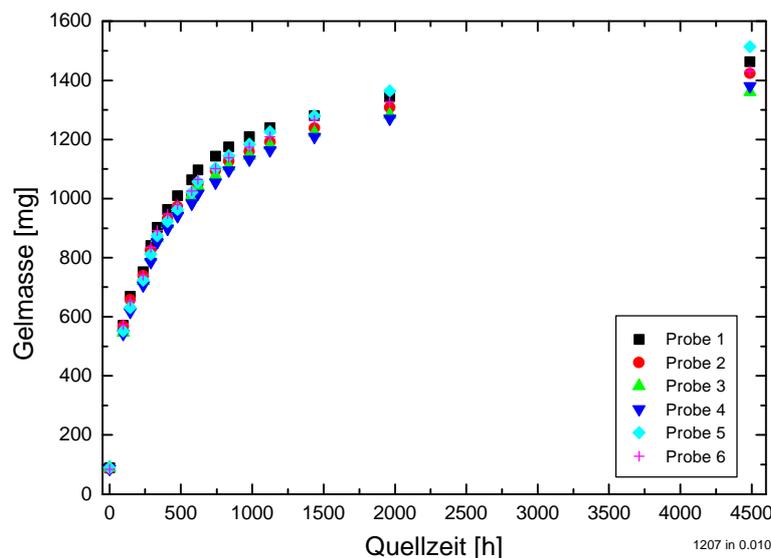


Abbildung 5-5 Dargestellt ist die Zunahme der Gelmasse von sechs Gelscheiben des P(MAA-g-EG)-Hydrogels in einer $1 \cdot 10^{-2}$ mol/l Natriumchloridlösung während des Quellungsperiments.

5.4.3 Das Quellverhalten in Abhängigkeit vom pH-Wert

Zur Bestimmung des Quellverhaltens des P(MAA-g-EG)-Hydrogels in Abhängigkeit vom pH-Wert wurden dieselben Gelstücke verwendet, die auch zur Untersuchung des salzabhängigen Quellens eingesetzt wurden.

Insgesamt wurden sechs verschiedene pH-Werte im Bereich pH 3.2 bis pH 7.3 untersucht. Jedes Gelstück einer Messreihe wurde in 100 ml einer Lösung mit konstantem pH-Wert eingelegt. Die Lösungen wurden mit Essigsäure und Natriumhydroxid hergestellt. Die Ionenstärke der Lösungen wurde mit Natriumchlorid auf einen konstanten Wert von 0.1 mol/l eingestellt.

Zunächst wurden die Lösungen täglich, später jeden dritten Tag und im weiteren Verlauf wöchentlich ausgetauscht. Vor jedem Wiegen wurden die Gele vorsichtig mit einem Tuch abgetupft und anschließend mit einem Stickstoffstrom sanft abgeblasen.

Als Beispiel für die Messkurven, die die Massenzunahme der Hydrogelscheiben im Verlauf der pH-Wert-Quellreihe zeigen, sei hier Abbildung 5-6 gezeigt. Die Messkurven für die übrigen pH-Werte zeigen einen vergleichbaren Verlauf.

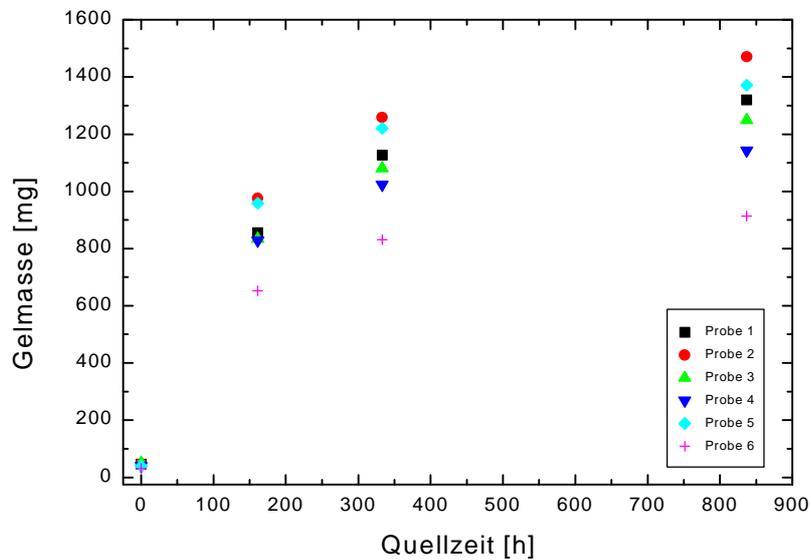


Abbildung 5-6 Zunahme der Gelmasse im Verlauf der Quellungsstudie in einer Lösung mit pH 5.6 und einer Ionenstärke von 0.1 mol/l.

5.5 Ergebnisse

Für jede Natriumchloridkonzentration und für jeden pH-Wert wurden fünf bzw. sechs voneinander unabhängige Werte für den Gleichgewichtsmassenquellgrad ermittelt.

In der Abbildung 5-7 sind die ermittelten Gleichgewichtsmassenquellgrade gegen die jeweilige Konzentration der Natriumchloridlösung aufgetragen. Je niedriger die Konzentration, umso größer ist der erreichte Gleichgewichtsquellgrad des Hydrogels. Das starke Aufquellen des Hydrogels im Bereich niedriger Konzentrationen ergibt sich aus einem Konzentrationsgradient, der zwischen dem Gelinneren und dem umgebenden Lösungsmittel besteht. Die Ladungen, die sich im Gelinneren befinden, sind nicht in der Lage, das Gel zu verlassen. Es handelt sich hierbei um die Carboxylatgruppen und die entsprechenden Gegenionen. Aufgrund des Konzentrationsgradienten diffundiert Wasser ins Gelinnere und führt somit zum Aufquellen des Hydrogels. Je niedriger die Salzkonzentration in der umgebenden Lösung ist, umso mehr Wasser diffundiert in die Gelmatrix, und führt so zu einer „Verdünnung“ der im Gel eingeschlossenen Ladungen.

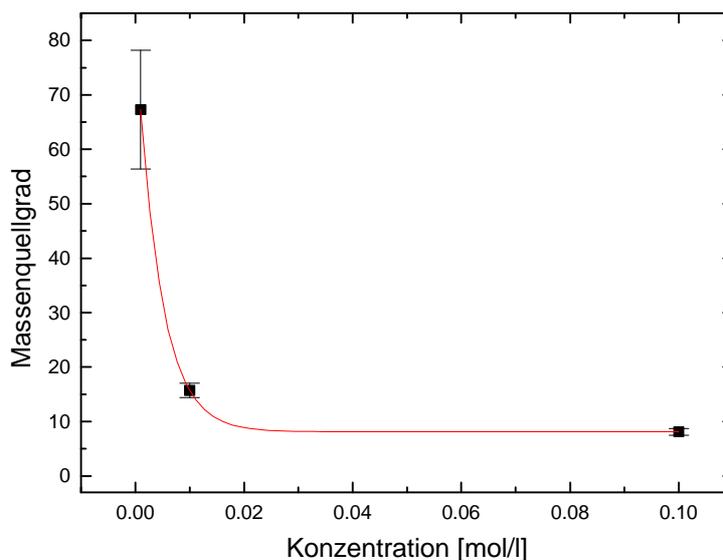


Abbildung 5-7 Dargestellt ist die Abhängigkeit des Gleichgewichtsmassenquellgrades eines P(MAA-g-EG)-Hydrogels von der Natriumchloridkonzentration.

Man erkennt deutlich die mit zunehmendem Quellgrad größer werdenden Abweichungen innerhalb einer Messreihe (Abbildung 5-7). Je größer der Quellgrad, umso größer ist die Gelscheibe und somit auch die Oberfläche. Aus diesem Grund ist es schwierig, von Messung zu Messung die gleichen Bedingungen, d.h. Trocknung der Oberfläche, zu reproduzieren. Weiterhin nimmt mit zunehmendem Quellgrad auch die Gefahr zu, dass sich kleine Gelstücke ablösen und damit die Gelmasse verändern.

Die Daten in Abbildung 5-7 wurden mit einer exponentiellen Zerfallsfunktion gefittet (Kapitel 6). Die Abklingkonstante z ergibt sich zu 4.38×10^{-3} mol/l. Mit der zweiten Messreihe wurden ebenfalls die Gleichgewichtsmassenquellgrade für die drei Natriumchloridkonzentrationen bestimmt. Der Kurvenverlauf entspricht Abbildung 5-7 und ergibt eine Abklingkonstante von $z = 4.57 \times 10^{-3}$ mol/l. Die Fehler, die von der Fitt-Routine angegeben wurden, waren vernachlässigbar klein.

Im Verlauf der Quellungsexperimente hat sich gezeigt, dass die Zeit bis zum Erreichen eines Gleichgewichtsquellzustandes für die höheren Konzentrationen (1×10^{-2} mol/l und 1×10^{-1} mol/l) größer war als für die niedrigere Konzentration (1×10^{-3} mol/l). Diese längeren Quellzeiten ergeben sich aus einer Verminderung der Diffusionsgeschwindigkeit für Wasser im komplexierten Netzwerk. Je niedriger der Quellungsgrad des Netzwerks, je höher der Grad der Komplexierung, umso langsamer läuft die Diffusion von Wasser in das Hydrogel ab (Abschnitt 5.2).

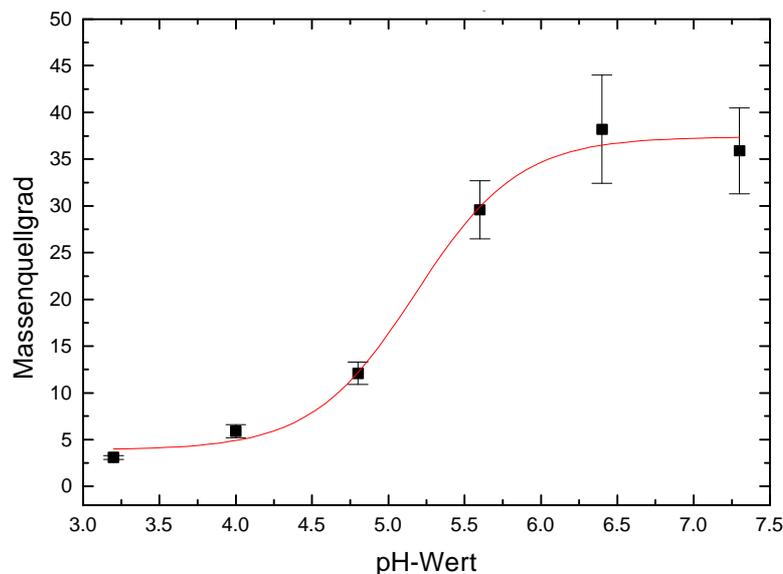


Abbildung 5-8 Dargestellt ist die Abhängigkeit des Gleichgewichtsmassenquellgrades des P(MAA-g-EG)-Hydrogels vom pH-Wert. Die Ionenstärke wurde bei allen Lösungen konstant auf 0.1 mol/l eingestellt.

Das Quellungsverhalten des P(MAA-g-EG)-Hydrogels in Abhängigkeit vom pH-Wert wird im Wesentlichen durch die Fähigkeit des Netzwerks zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen der Poly(methacrylsäure) und den Poly(ethylenglykol)-Ketten bestimmt (Abbildung 5-1). Die Ergebnisse der Gleichgewichtsquellungsexperimente sind in Abbildung 5-8 dargestellt. Die Gleichgewichtsquellgrade des P(MAA-g-EG)-Hydrogels wurden für sechs verschiedene pH-Werte im Bereich 3.2 bis 7.3 ermittelt. Die größte Änderung des Quellgrades findet im

pH-Bereich 4.6 bis 6.0 statt. Diese Kurve wurde mit einer BOLTZMANN-Funktion angefitet (Kapitel 6). Daraus ergibt sich ein Wendepunkt bei $\text{pH } 5.2 \pm 0.1$ und eine Abklingkonstante von -0.34 ± 0.07 .

5.6 Diskussion der Ergebnisse

Die Abhängigkeit des Quellungszustandes des P(MAA-*g*-EG)-Hydrogels von der Natriumchloridkonzentration nimmt mit steigender Ionenkonzentration ab (Abbildung 5-7). So zeigen Veränderungen der Ionenkonzentration im Bereich um 1×10^{-1} mol/l im Vergleich zu dem Bereich um 1×10^{-3} mol/l nur einen relativ geringen Einfluss auf den Quellungszustand des Hydrogels. Dieses wichtige Ergebnis wurde im Folgenden bei der Herstellung der Lösungen mit unterschiedlichem pH-Wert berücksichtigt. Um den Einfluss von Schwankungen der Ionenkonzentration auf das Quellungsverhalten des Hydrogels weitgehend ausschließen zu können, wurden alle Lösungen mit Natriumchlorid auf eine konstante Ionenstärke von 1×10^{-1} mol/l eingestellt.

In die Interpretation der eigenen Ergebnisse sollen hier auch die Ergebnisse von HASSAN *et al.* [4] und TORRES-LUGO UND PEPPAS [5] mit einbezogen werden. Die einzelnen Ergebnisse der Quellungsexperimente aus verschiedenen Veröffentlichungen können nicht direkt miteinander verglichen werden, da die Zusammensetzungen der Monomerlösungen und die Polymerisationsbedingungen variieren. Dennoch erhält man aus dem Vergleich der Ergebnisse ein umfassendes Bild vom Quellungsverhalten des P(MAA-*g*-EG)-Hydrogels.

Im pH-Quellungsexperiment (Abbildung 5-8) wurde ein maximaler Gleichgewichtsmassenquellgrad von 38 erreicht. Dieser Wert liegt deutlich über dem von TORRES-LUGO UND PEPPAS [5] ermittelten Wert von 14 (Abbildung 5-9). Für diese Spanne ist im Wesentlichen die unterschiedliche Zusammensetzung der Monomerlösungen, die zur Herstellung der Gele eingesetzt wurden, verantwortlich. Weiterhin ist die niedrigere Temperatur, bei der die hier vorgestellte Messung durchgeführt wurde, für das Erreichen des größeren Quellgrades verantwortlich.

Unabhängig davon entspricht der Kurvenverlauf in Abbildung 5-8 dem in Abbildung 5-9. Am empfindlichsten reagiert das Hydrogel auf pH-Wert Änderungen in einem pH-Bereich von pH 4.6 bis pH 6.0 (Abbildung 5-8). Dies stimmt mit den Untersuchungen von TORRES-LUGO UND PEPPAS [5] überein (Abbildung 5-9).

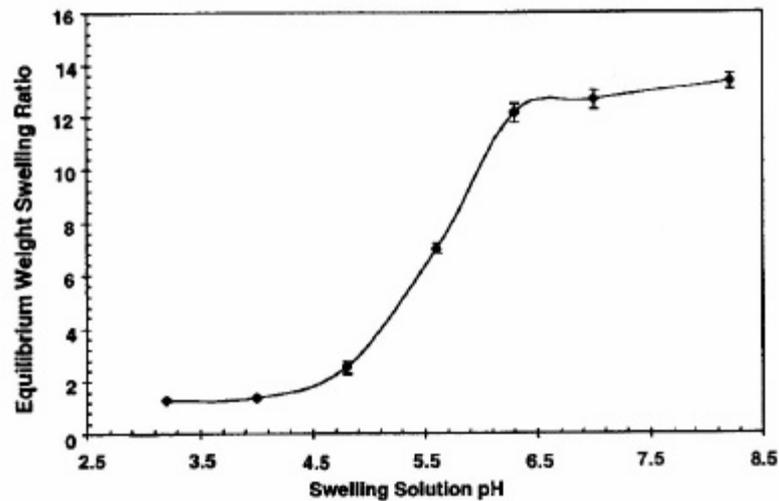


Abbildung 5-9 Gleichgewichtsmassenquellgrade eines P(MAA-g-EG)-Hydrogels in Abhängigkeit verschiedener pH-Werte. Die Ionenstärke wurde bei 0.1 mol/l konstant gehalten. Die Temperatur wurde konstant auf 37 °C gehalten. Entnommen aus [5].

Das Quellungsverhalten des mit Enzymen funktionalisierten glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels in Abhängigkeit vom pH-Wert wurde von HASSAN *et al.* [4] untersucht (Abbildung 5-10). Analog dem Quellverhalten des pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels treten die deutlichsten Änderungen des Quellgrades des glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels im pH-Bereich von pH 4.6 bis pH 6.0 auf. Der Wendepunkt dieser Kurve liegt bei pH 5.2. Dieses Hydrogel erreicht einen maximalen Gleichgewichtsquellgrad von 23. Vergleicht man diese Ergebnisse mit einem rein pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogel (Abbildung 5-9), so fällt auf, dass der maximal erreichte Massenquellgrad mit ca. 14 deutlich niedriger ausfällt. Diese Unterschiede im maximal erreichbaren Quellgrad lassen sich auf den Einbau der Enzyme zurückführen. Die Wechselwirkungen der einzelnen Kettensegmente sind durch die relativ großen Enzyme behindert. Aus diesem Grund ist die Ausbildung von Wasserstoffbrücken behindert und der Grad der Komplexierung geringer. Daher kommt es zu einem stärkeren Aufquellen des mit Enzymen funktionalisierten Hydrogels (Abbildung 5-10) im Vergleich zu einem rein pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogel (Abbildung 5-9).

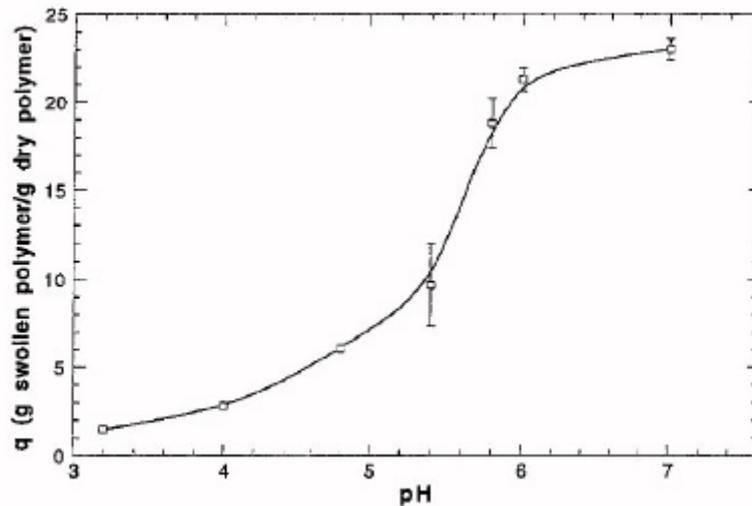


Abbildung 5-10 Gleichgewichtsquellungsstudie eines mit Enzymen funktionalisierten glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels in Abhängigkeit vom pH-Wert. Die Ionenstärke der Lösungen wurde konstant auf 0.1 mol/l gehalten. Die Temperatur wurde konstant auf 37 °C gehalten. Entnommen aus [4].

5.7 Literaturverzeichnis

- [1] T. TANAKA, *Sci. Am.* **244**, 110-123 (1981).
- [2] J. KLIER, A. B. SCRANTON, AND N. A. PEPPAS, *Macromolecules* **23**, 4944-4949 (1990).
- [3] A. M. LOWMAN AND N. A. PEPPAS, *Macromolecules* **30**, 4959-4965 (1997).
- [4] C. M. HASSAN, F. J. DOYLE III, AND N. A. PEPPAS, *Macromolecules* **30**, 6166-6173 (1997).
- [5] M. TORRES-LUGO AND N. A. PEPPAS, *Macromolecules* **32**, 6646-6651 (1999).

6 Beugungsoptische Messungen

In diesem Kapitel werden die Messungen mit der beugungsoptischen Apparatur vorgestellt und diskutiert. Die Präsentation der Messergebnisse wird dabei in zwei Abschnitte unterteilt. Im ersten Teil werden Messungen mit Lösungen verschiedener pH-Werte und mit Lösungen verschiedener Natriumchloridkonzentrationen vorgestellt, die ausschließlich an pH-sensitiven P(MAA-*g*-EG)-Hydrogelen durchgeführt wurden. Die Messungen, die im zweiten Teil gezeigt werden, beschäftigen sich mit pH-sensitiven und glucose-sensitiven P(MAA-*g*-EG)-Hydrogelen und deren Verhalten gegenüber Glucoselösungen unterschiedlicher Konzentrationen.

Bevor die Messungen mit der beugungsoptischen Apparatur vorgestellt werden, wird die Apparatur selbst und das Funktionsprinzip des gesamten Sensorsystems näher beschrieben. Anschließend werden die mathematischen und physikalischen Grundlagen der Beugungsoptik kurz vorgestellt. Eine ausführlichere Beschreibung der Beugungsapparatur, der Beugungsoptik und eine detaillierte Beschreibung des Mess- und Auswertverfahrens findet man bei SCHUMACHER [1].

6.1 Beschreibung der Beugungsapparatur

In Abbildung 6-1 ist schematisch der Aufbau der Beugungsapparatur dargestellt. Sie besteht aus einem He-Ne-Laser ($\lambda = 632.8 \text{ nm}$), der durch ein Linsensystem auf einen Strahlteiler gerichtet ist. Von dort wird ein Strahl unter senkrechtem Einfall auf die mikrostrukturierte Probe gerichtet, die sich in der Messkammer befindet. Das dadurch erzeugte Beugungsbild wird auf der Streuscheibe visualisiert, über eine CCD-Kamera aufgenommen und über eine Frame-Grabber Karte digitalisiert im Computer aufgezeichnet. Diese Frame-Grabber Karte unterscheidet 256 Grauwerte. Da die Beugungsordnungen stark unterschiedliche Intensitätswerte besitzen, werden die helleren Spots mit Filtern insoweit abgeschwächt, dass ihre Helligkeitswerte innerhalb des Dynamikbereichs der Frame-Grabber Karte liegen. Durch die Anwendung von Dioden, die eine deutlich größere Dynamik besitzen, kann auf die Verwendung von Filtern verzichtet werden [1].

Bei Messungen, die in Transmission durchgeführt werden, wird der Strahl von unten auf die Probe gerichtet (Abbildung 6-1). Ist das Substrat nicht transparent, so kann die Messung auch in Reflektion durchgeführt werden. Dabei wird der Laserstrahl von oben auf die Probe eingestrahlt [1-3].

Vom Strahlteiler wird ein Referenzstrahl über ein Spiegelsystem auf die Streuscheibe geleitet und zusammen mit dem Beugungsbild aufgezeichnet (Abbildung 6-1). Auf

diesen Referenzstrahl wird die Messung später normiert, um Schwankungen in der Laserintensität auszugleichen.

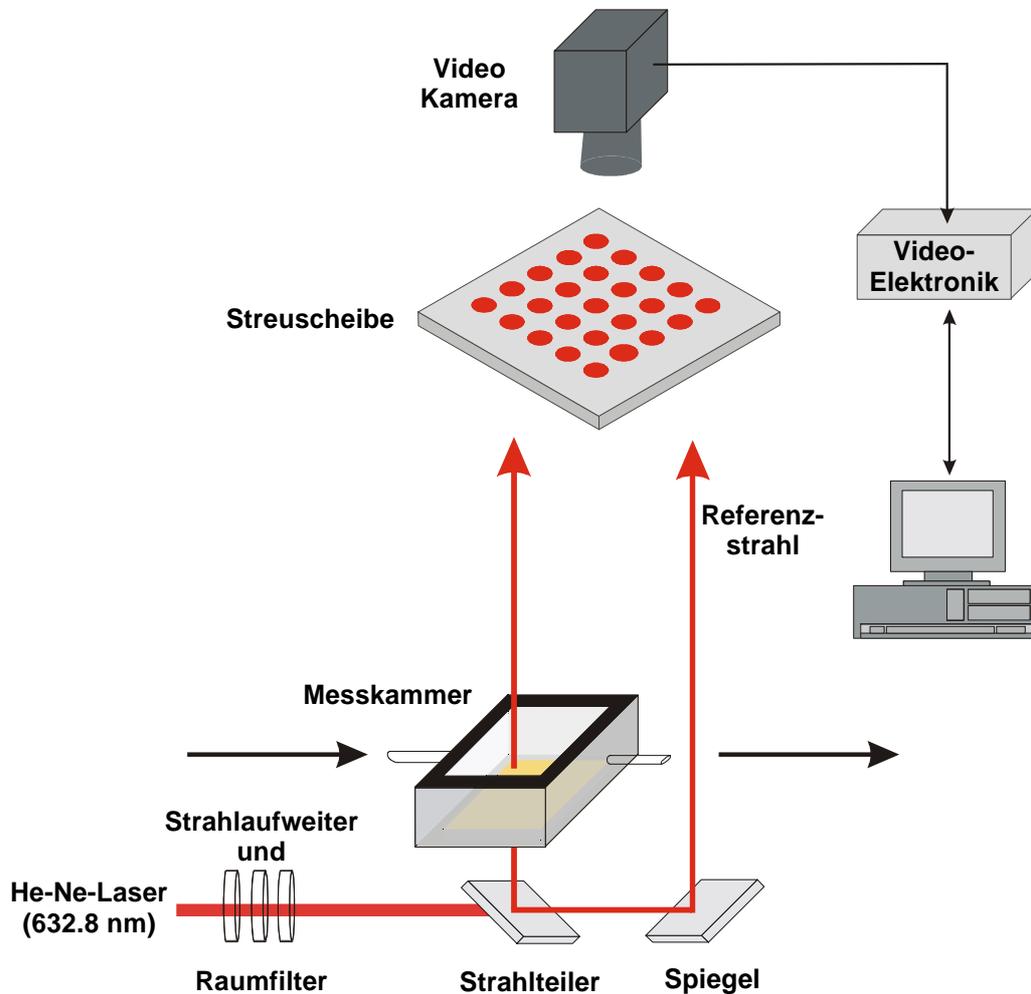


Abbildung 6-1 Schematische Darstellung des Aufbaus der Beugungsapparatur.

6.2 Das Funktionsprinzip des beugungsoptischen Sensors

Das Sensorkonzept beruht auf der Messung von Intensitätsänderungen des gebeugten Laserlichts, die durch die Änderung des Quellungszustandes eines mikrostrukturierten Hydrogels hervorgerufen werden.

Ein auf das mikrostrukturierte Hydrogelgitter gerichteter Laserstrahl wird gebeugt (Abbildung 6-2). Neben dem direkt transmittierten Laserstrahl werden durch Interferenz

eine Reihe von Beugungsordnungen (BO) erzeugt. Die Intensität jeder Beugungsordnung ändert sich, wenn sich der Quellungs- und Schrumpfungszustand des mikrostrukturierten Hydrogels ändert. Die Änderung dieser Intensitätsverteilung wird durch die Änderung der Form – Quellen oder Schrumpfen – des Hydrogels verursacht. Auf diesen Aspekt wird in Abschnitt 6.3 näher eingegangen.

Das verwendete P(MAA-g-EG)-Hydrogel zeigt ein u.a. vom pH-Wert abhängiges reversibles Quellungs- und Schrumpfungsverhalten. Weiterhin wird der Quellungs- und Schrumpfungsgrad des Gels stark von der Salzkonzentration des umgebenden Mediums beeinflusst. Die Abhängigkeit des Quellungsgrads vom pH-Wert und der Salzkonzentration wurde daher zunächst an makroskopischen Gelproben untersucht (Kapitel 5).

Die Empfindlichkeit des P(MAA-g-EG)-Hydrogels gegenüber Glucose wurde erst durch den kovalenten Einbau der Enzyme Glucoseoxidase und Katalase in das Polymergerüst erreicht (Kapitel 3). Dadurch wird das Hydrogel um die Selektivität gegenüber Glucose erweitert.

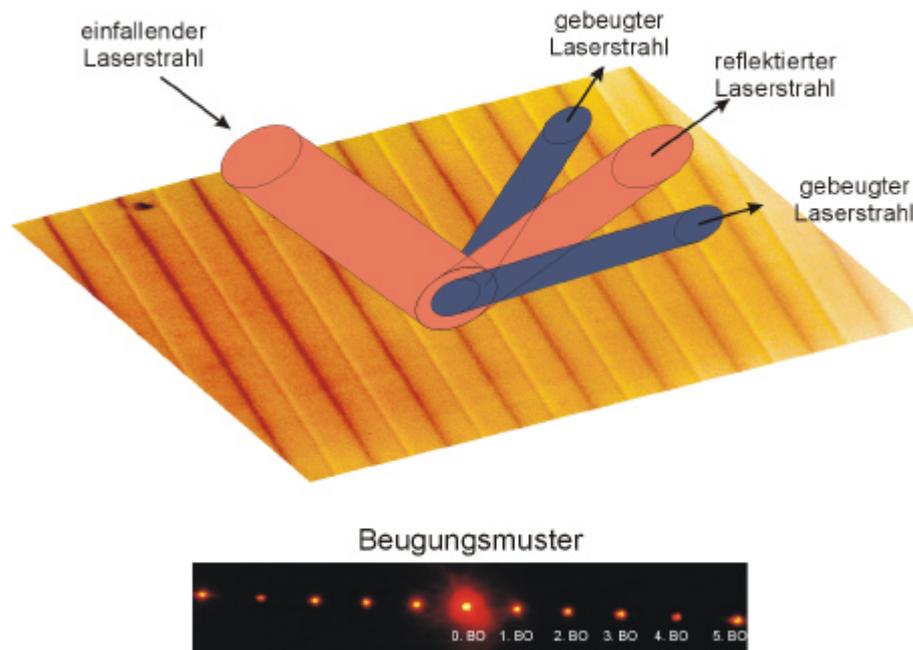


Abbildung 6-2 Das Funktionsprinzip des beugungsoptischen Sensors. Ein einfallender Laserstrahl wird an der Hydrogelmikrostruktur gebeugt, so dass neben dem direkt transmittierten Laserlicht (0. Beugungsordnung) eine Reihe weiterer Beugungsordnungen (BO) durch Interferenz entstehen. Die Intensitätsverteilung des gebeugten Laserlichts ändert sich, wenn sich der Quellungs- und Schrumpfungsgrad des mikrostrukturierten Hydrogels ändert.

6.3 FOURIER-Optik

In diesem Abschnitt sollen kurz die mathematischen und physikalischen Grundlagen beschrieben werden, die zum Verständnis der Beugungsoptik notwendig sind. Eine ausführlichere Beschreibung findet man in [4-6] sowie bei SCHUMACHER [1].

6.3.1 Die FOURIER-Transformation

Jede periodische Wellenform lässt sich durch eine Summe von sinusförmigen Funktionen darstellen, wenn bei der Überlagerung die richtige Amplitude, Wellenlänge und Phase gewählt wird (Abbildung 6-3). Dieses Prinzip drückt der FOURIER-Satz aus. Er besagt, dass *eine Funktion $f(x)$, die eine räumliche Periode I hat, durch eine Summe von harmonischen Funktionen zusammengesetzt werden kann, deren Wellenlänge ganzzahlige Teiler von I sind* [4].

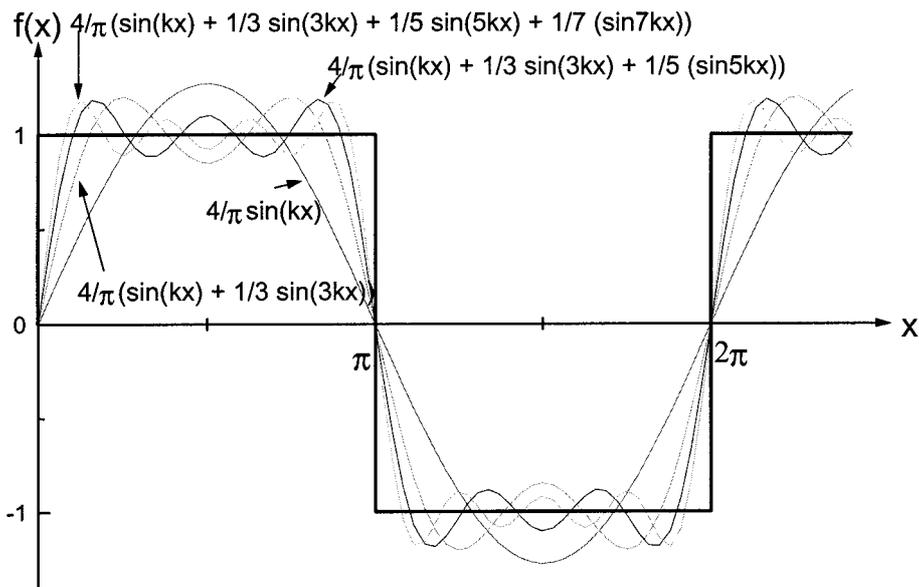


Abbildung 6-3 Beispiel einer periodischen Rechteckfunktion, die durch die Kombination mehrerer harmonischer Beiträge dargestellt wird. Aus [2].

In mathematischer Form ergibt sich daraus die FOURIER-Reihe:

$$f(x) = C_0 + C_1 \cos\left(\frac{2p}{I}x + e_1\right) + C_2 \cos\left(\frac{2p}{I/2}x + e_2\right) + \dots, \quad (6.1)$$

wobei C_i Konstanten sind und e_i ist die Phase.

Unter Verwendung von:

$$C_m \cos(mkx + \mathbf{e}_m) = A_m \cos(mkx) + B_m \sin(mkx) \quad (6.2)$$

mit $k = 2\mathbf{p}/l$ und:

$$A_m = C_m \cos \mathbf{e}_m \quad \text{und} \quad B_m = -C_m \sin \mathbf{e}_m \quad (6.3)$$

ergibt sich für $f(x)$:

$$f(x) = \frac{A_0}{2} + \sum_{m=1}^{\infty} A_m \cos(mkx) + \sum_{m=1}^{\infty} B_m \sin(mkx). \quad (6.4)$$

Ist die Funktion $f(x)$ bekannt, so können mit:

$$A_m = \frac{2}{l} \int_0^l f(x) \cos(mkx) dx \quad (6.5)$$

und

$$B_m = \frac{2}{l} \int_0^l f(x) \sin(mkx) dx \quad (6.6)$$

die Koeffizienten A_0 , A_m und B_m bestimmt werden. Diesen Vorgang bezeichnet man als FOURIER-Analyse.

Im allgemeineren Fall einer nicht-periodischen Funktion wird die FOURIER-Reihe durch das FOURIER-Integral ersetzt:

$$f(x) = \frac{1}{p} \left[\int_0^{\infty} A(k) \cos(kx) dk + \int_0^{\infty} B(k) \sin(kx) dk \right] \quad (6.7)$$

mit

$$A(k) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(x) \cos(kx) dx \quad (6.8)$$

und

$$B(k) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(x) \sin(kx) dx. \quad (6.9)$$

Die Größen $A(k)$ und $B(k)$ werden als die Amplituden der Sinus- und Kosinusbeträge im Bereich der Wellenzahl zwischen k und $k + dk$ interpretiert. Man nennt sie im Allgemeinen die FOURIER-Kosinus- bzw. Sinustransformierte [4]. Damit lassen sich auch nicht-periodische Funktionen beschreiben.

Mit der EULER-Formel:

$$e^{iz} = \cos z + i \sin z \quad (6.10)$$

erhält man aus dem FOURIER-Integral (6.7):

$$f(x) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} F(k) e^{-ikx} dk \quad (6.11)$$

mit

$$F(k) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(x) e^{ikx} dx \quad (6.12)$$

die FOURIER-Transformierte $F(k)$ von $f(x)$.

Symbolisch drückt man dies durch folgende Gleichung aus:

$$F(k) = \mathcal{F}\{f(x)\}. \quad (6.13)$$

Die Funktion $f(x)$ bezeichnet man als die inverse FOURIER-Transformierte von $F(k)$, was symbolisch ausgedrückt wird durch:

$$f(x) = \mathcal{F}^{-1}\{F(k)\}. \quad (6.14)$$

Die Funktion $F(k)$ ist eine komplexe Größe und setzt sich aus einem Realteil und einem Imaginärteil zusammen:

$$F(k) = A(k) + iB(k) = |F(k)| e^{i\phi(k)}. \quad (6.15)$$

In Abbildung 6-4 sind einige Beispiele für Funktionen $f(x)$ mit ihren FOURIER-Transformierten $F(k)$ gezeigt.

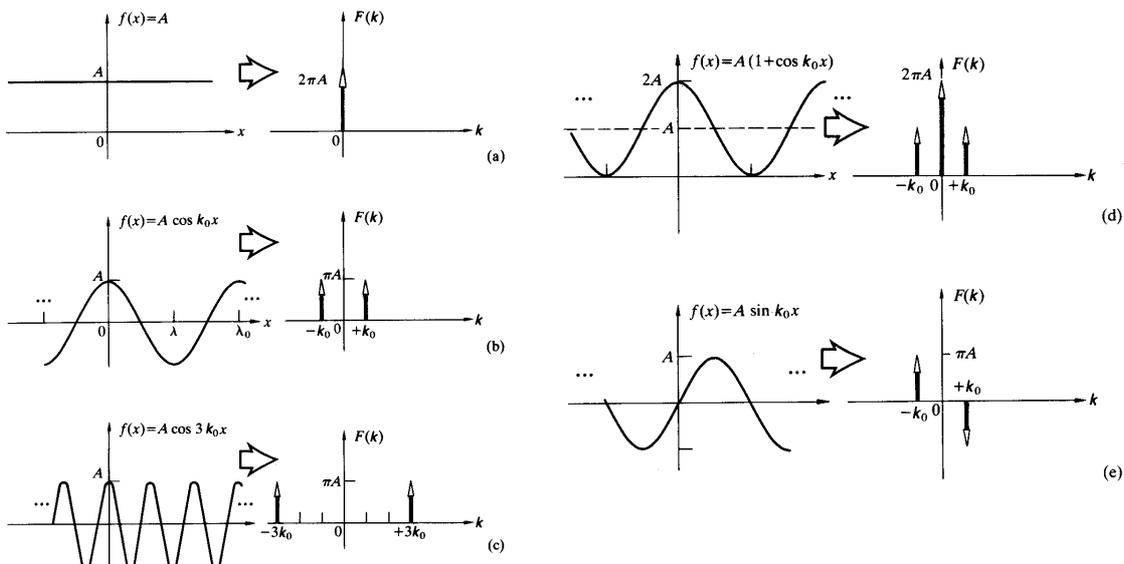


Abbildung 6-4 Einige Funktionen $f(x)$ und ihre FOURIER-Transformierten $F(k)$. Entnommen aus [4].

6.3.2 Die FRAUNHOFERSche Beugung

Unter Beugung versteht man die Abweichung von der geradlinigen Ausbreitung von Wellen. Anschaulich bedeutet dies, dass Wellen auch in Bereiche vordringen, die sie bei einer geradlinigen Ausbreitung nicht erfüllen würden. Dies wird durch das HUYGENSsche Prinzip beschrieben, das besagt, dass jeder Punkt einer Wellenfront Ausgangspunkt für neue Elementarwellen ist. Durch die Interferenz dieser Elementarwellen entsteht eine neue Wellenfront.

Veranschaulichen lässt sich die Beugung anhand ebener Wellen, die auf eine Blendebene Σ einfallen. Je nach Anordnung der Blende ebene Σ und der Beobachtungsebene S wird zwischen der FRESNEL- oder Nahfeldbeugung und der FRAUNHOFER- oder Fernfeldbeugung unterschieden. Sind die Blende ebene und die Beobachtungsebene sehr nahe beieinander, so liegt die FRESNEL-Beugung vor; sind sie dagegen weit voneinander entfernt, so liegt FRAUNHOFER-Beugung vor. Anschaulich ist die Anordnung ebener Wellen, die auf eine Blende ebene Σ mit der Blendenöffnung $a \times b$ einfallen, in Abbildung 6-5 dargestellt.

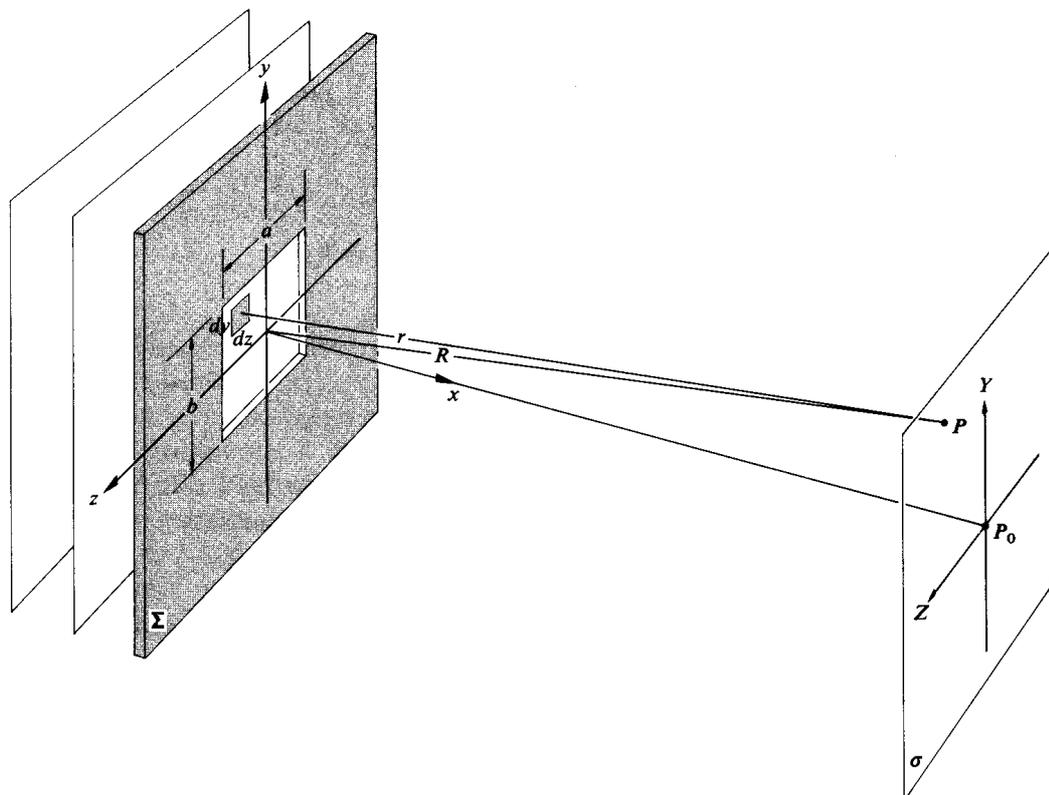


Abbildung 6-5 Zur Geometrie. Ebene Wellen fallen auf eine Blende ebene S ein und erzeugen in der Beobachtungsebene S ein Beugungsbild. Entnommen aus [4].

Mit der Blendenöffnungsfunktion:

$$A(y, z) = A_0(y, z) e^{i f(y, z)} \quad (6.16)$$

wird die Amplitudenverteilung innerhalb der Öffnung durch $A_0(y, z)$ beschrieben, während $\exp[i f(y, z)]$ die Phasenunterschiede von Punkt zu Punkt beschreibt [4]. Damit kann die Feldstärkenverteilung in \mathbf{s} , die durch eine ebene Welle erzeugt wird, die in Σ einfällt, beschrieben werden durch:

$$E(Y, Z) = \frac{\mathbf{e}_A e^{i(wt - kR)}}{R} \iint_{-\infty}^{+\infty} A(y, z) e^{ik(Yy + Zz)/R} dy dz. \quad (6.17)$$

Die Größe R ist der Abstand zwischen dem Blendenmittelpunkt in Σ und dem Punkt $P(Y, Z)$ in \mathbf{s} , an dem das Feld den Wert $E(Y, Z)$ besitzt. \mathbf{e}_A gibt die Ausgangsfeldstärke je Einheitsfläche der Blendenöffnung an.

Durch die Einführung der Raumfrequenzen k_Y und k_Z :

$$k_Y = \frac{kY}{R} \quad \text{und} \quad k_Z = \frac{kZ}{R} \quad (6.18)$$

lässt sich Gleichung 6.17 in ein FOURIER-Integral überführen:

$$E(k_Y, k_Z) = \frac{\mathbf{e}_A e^{i(wt - kR)}}{R} \iint_{-\infty}^{+\infty} A(y, z) e^{i(k_Y y + k_Z z)} dy dz. \quad (6.19)$$

Die Feldstärkenverteilung im FRAUNHOFERSchen Beugungsmuster ist somit proportional zu der FOURIER-Transformierten der Blendenöffnungsfunktion:

$$E(k_Y, k_Z) \sim \mathcal{F}\{A(y, z)\}. \quad (6.20)$$

6.3.3 Beugung am Einzelspalt

Tritt eine ebene Welle durch einen Spalt mit der Breite b , so ergibt sich für die Blendenöffnungsfunktion $A(y, z)$:

$$A(y, z) = \begin{cases} A_0 & \text{für } |z| \leq b/2 \\ 0 & \text{für } |z| > b/2 \end{cases}. \quad (6.21)$$

$A(y, z)$ hat die Form eines Rechteckpulses und A ist nur noch von z abhängig. Für dieses eindimensionale Problem ergibt sich die für die Feldstärkenverteilung im FRAUNHOFERSchen Beugungsmuster:

$$\begin{aligned}
 E(k_z) &= \mathcal{F}\{A(z)\} = A_0 \int_{z=-b/2}^{+b/2} e^{ik_z z} dz \quad 3 \\
 &= A_0 b \operatorname{sinc}\left(k_z \frac{b}{2}\right)
 \end{aligned}
 \tag{6.22}$$

6.3.4 Beugung am Doppelspalt

Bevor auf die Beugung am Doppelspalt näher eingegangen wird, soll zunächst das Faltungstheorem kurz beschrieben werden, auf das in diesem Zusammenhang zurückgegriffen wird.

Mit der Faltung zweier Funktionen lassen sich Beugungsgitter beschreiben. Die Faltung der Funktionen $f(x)$ und $h(x)$, die durch das Symbol $*$ dargestellt wird, ergibt eine neue Funktion $g(x)$, die durch das Faltungsintegral:

$$g(x) = f(x) * h(x) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(\mathbf{a}) h(x - \mathbf{a}) d\mathbf{a} \tag{6.23}$$

definiert wird. Die Beziehung zwischen dem Faltungsintegral und ihrer FOURIER-Transformierten wird als Faltungstheorem bezeichnet. So ergibt sich aus der FOURIER-Transformierten der gefalteten Funktion $g(x)$:

$$G(k) = \mathcal{F}\{g(x)\} \tag{6.24}$$

und den FOURIER-Transformierten der Funktionen $f(x)$ und $h(x)$:

$$F(k) = \mathcal{F}\{f(x)\} \quad \text{und} \quad H(k) = \mathcal{F}\{h(x)\} \tag{6.25}$$

das Faltungstheorem zu:

$$\mathcal{F}\{g(x)\} = \mathcal{F}\{f(x) * h(x)\} = \mathcal{F}\{f(x)\} \cdot \mathcal{F}\{h(x)\}. \tag{6.26}$$

Die Beugung am Doppelspalt wird beschrieben unter Verwendung einer Blendenöffnungsfunktion $g(x)$, die in Abbildung 6-6 veranschaulicht ist.

Die Blendenöffnungsfunktion $g(x)$ erhält man, indem man die Deltafunktionen $h(x)$, die die Spaltpositionen angeben, mit dem Rechteckpuls $f(x)$ faltet. Das Produkt der Transformierten ist die abgebildete amplitudenmodulierte Kosinus-Funktion $G(k)$, welche dem Faltungssatz zufolge das Beugungsfeld in der Bildebene beschreibt [4].

Dieser Formalismus lässt sich zur anschaulichen Beschreibung der Vorgänge verwenden, die für die Änderung der Intensitätsverteilung im Beugungsbild im Verlauf der

³ $\operatorname{sinc} x = \frac{\sin x}{x}$

Messungen (s.u.) verantwortlich sind. Die Änderung der Intensitätsverteilung beruht auf einer Formänderung der im Mikrometermaßstab strukturierten Hydrogelbalken. Wenn die exakte Form der einzelnen Hydrogelbalken bekannt wäre, so könnte sie durch eine Funktion $f(x)$ beschrieben werden. Die Position der Gelbalken, die durch die Deltafunktionen $h(x)$ beschrieben wird, ändert sich im Verlauf einer Messung nicht. Das Beugungsbild, genauer die Feldstärkenverteilung in der Bildebene, lässt sich aus dem Produkt der FOURIER-Transformierten von $f(x)$ und $h(x)$ beschreiben. Aus Abbildung 6-6 wird deutlich, dass die Lage der Beugungsordnungen, die durch $H(k)$ beschrieben wird, unverändert bleibt, wenn sich die Form der Gelbalken, die durch $F(k)$ beschrieben wird, ändert. Diese Formänderung hat aber direkten Einfluss auf die Intensitätsverteilung im Beugungsbild, wie man in der Darstellung von $G(k)$ erkennen kann.

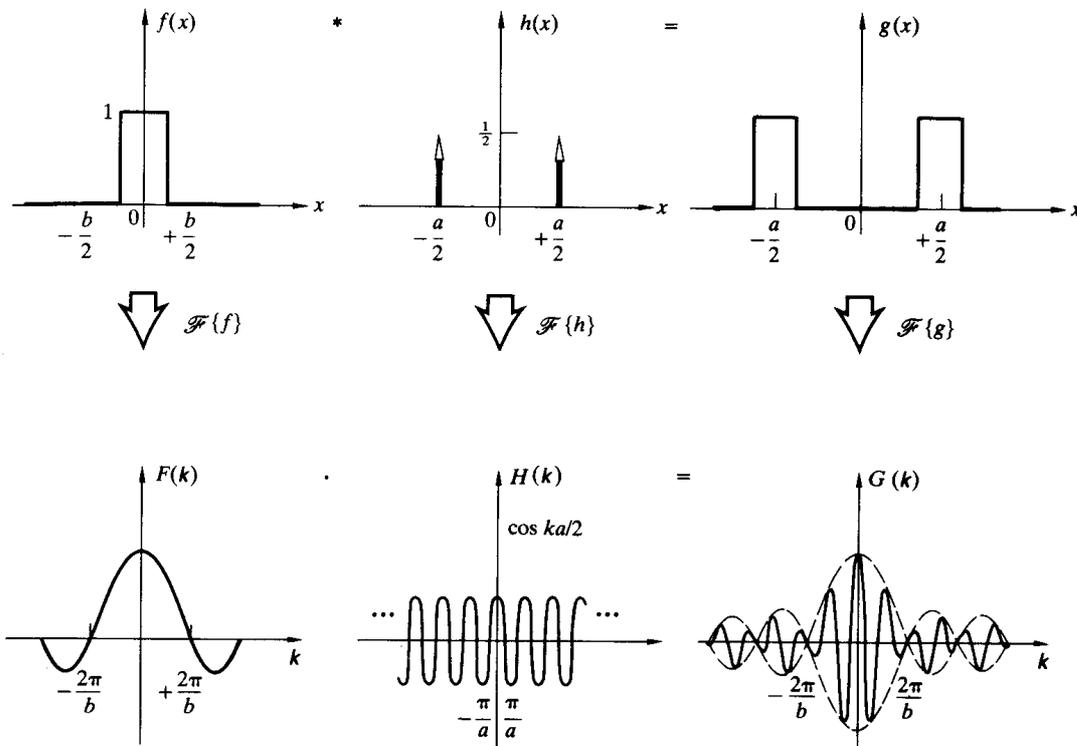


Abbildung 6-6 Zur Erläuterung des Faltungstheorems und der Beugung am Doppelspalt. Aus [4].

6.3.5 Beugung am Gitter

Erhöht man die Anzahl äquidistanter Spalte, so gelangt man zu einem Gitter. Das Gitter habe $N_0 = (2N + 1)$ Spalten mit einer Breite b und einem Mittenabstand von a . Die Strukturfunktion, die die Position der Spalten beschreibt, ist gegeben durch eine Summe:

$$A_d = \sum_{m=-N}^N \mathbf{d}(z - ma). \quad (6.27)$$

Die FOURIER-Transformierte von A_d ist dann darstellbar durch eine Summe von Exponentialfunktionen:

$$\mathcal{F}\{A_d\} = \sum_{m=-N}^N e^{imak_z} = \sum_{m=-N}^N q^m = q^{-N} \frac{q^{2N+1} - 1}{q - 1} = \frac{\sin N_0 \frac{a}{2} k_z}{\sin \frac{a}{2} k_z}. \quad (6.28)$$

Im Beugungsbild treten an den Stellen Hauptmaxima auf, an den der Nenner in Gleichung 6.28 Null wird. Dies ist erfüllt für:

$$k_z = \pm \frac{m 2\mathbf{p}}{a}. \quad (6.29)$$

Geht die Anzahl der Spalten eines Gitters gegen unendlich, so spricht man von einem DIRAC-Kamm und für die Strukturfunktion erhält man:

$$A_{d,\infty} = \sum_{m=-\infty}^{+\infty} \mathbf{d}(z - ma). \quad (6.30)$$

Die FOURIER-Transformierte dieser Funktion ist wieder ein DIRAC-Kamm und beschreibt das reziproke Gitter von $A_{d,\infty}$.

Für die Beugung am Gitter kann das Beugungsbild – analog den Darstellungen zur Beugung am Doppelspalt – durch die Faltung der Strukturfunktion mit einem Formfaktor beschrieben werden.

6.4 Messungen mit der beugungsoptischen Apparatur

Nachdem die Proben mit den mikrostrukturierten P(MAA-g-EG)-Hydrogelen hergestellt waren, wurden sie zunächst in MP-Wasser gründlich ausgewaschen, um nicht-polymerisierte Bestandteile zu entfernen. Anschließend wurden sie in die Beugungsapparatur eingebaut. Die Messung konnte dann statisch oder dynamisch im Durchfluss erfolgen.

Bei der statischen Messmethode wurden die Messlösungen mit einer Pipette von Hand ausgetauscht. Zunächst wurde das Substrat mit der Hydrogelmikrostruktur auf dem Probentisch fixiert und ein Dichtungsring aus PDMS wurde um die Struktur gelegt. Nach dem Befüllen mit der Messlösung wurde das System mit einem Glassubstrat abgedeckt. Zum Austauschen der Messlösungen musste die Datenaufnahme gestoppt werden. Mit der neuen Messlösung wurde die Probe zunächst fünfmal gespült, bevor das System wieder mit dem Glassubstrat abgedeckt werden konnte. Anschließend konnte die Datenaufnahme fortgesetzt werden.

Bei der dynamischen Methode wurde das Substrat mit der Hydrogelmikrostruktur in die Messkammer der Beugungsapparatur eingesetzt. Über eine Schlauchpumpe wurde 1 l MP-Wasser mit konstanter Geschwindigkeit kontinuierlich durch die Messkammer gepumpt. Diesem Wasser wurden dann die entsprechenden Mengen der zu untersuchenden Substanzen zugegeben. Vor der Verwendung wurde das MP-Wasser eine Stunde im Ultraschallbad entgast.

6.4.1 Auswertung der Messdaten

Während der Messung wurde in konstanten Zeitabständen von einer Minute mit der CCD-Kamera Bilder aufgenommen. Durch digitale Bildverarbeitung wurden aus allen Bildern, die während einer Messung aufgezeichnet wurden, die Intensitäten der Beugungsordnungen und des Referenzstrahls extrahiert und in eine ASCII-Datei geschrieben. Diese Datei wurde mit einem Tabellenkalkulationsprogramm weiter bearbeitet.

Die Intensitätswerte der einzelnen Beugungsordnungen wurden auf die Intensität des aufgezeichneten Referenzstrahls normiert. Dann wurden die relativen Intensitätsänderungen gegen die Messzeit aufgetragen. Durch Kenntnis der Art und Anzahl der Transmissionsfilter, die die Intensität einzelner Beugungsordnungen an die Messbedingungen der Frame-Grabber Karte und der CCD-Kamera angepasst haben, können bei Bedarf die absoluten Intensitätswerte berechnet werden.

Alle Messungen wurden bis zum Erreichen eines Gleichgewichtszustandes durchgeführt, d.h. das Gel nimmt nach der Änderung der Konzentration oder des pH-Werts der Messlösung wieder einen Gleichgewichtsquellungszustand ein. Daraus resultiert, dass durch eine Änderung der Umgebungsbedingungen auch eine Änderung in der Intensitätsverteilung des gebeugten Laserlichts auftritt, die sich nicht ändert, so lange die Umgebungsbedingungen konstant bleiben. Die Zeiträume eines Messintervalls variierten in der Regel zwischen 15 und 60 Minuten. Jede Minute wurde mit der CCD-Kamera ein Bild aufgezeichnet und somit die aktuelle Intensitätsverteilung aufgenommen.

Über die gemessenen Intensitäten eines Gleichgewichtszustands wurde der Mittelwert gebildet und die Standardabweichung berechnet. Diese wurden wiederum gegen die relativen Intensitäten aufgetragen, um daraus die Messkurven zum pH- und salzabhängigen Verhalten zu bekommen.

Die deutlichsten Intensitätsänderungen wurden immer in den ersten drei Beugungsordnungen beobachtet. Unter diesen drei Beugungsordnungen waren die Intensitätsänderungen in der 1. Beugungsordnung in der Regel am aussagekräftigsten. Aus diesem Grund wird hier fast ausschließlich die 1. Beugungsordnung zur Präsentation und Diskussion der Ergebnisse vorgestellt.

Wie stark die Intensitätsänderungen der einzelnen Beugungsordnungen ausfallen, hängt von der jeweiligen Formänderung des Hydrogelgitters ab. Hierbei ist zu beachten, dass die Intensität einer Beugungsordnung die Bedeutung des zugehörigen FOURIER-

Koeffizienten für die Beschreibung der Form des Beugungsobjekts widerspiegelt. Da die konkrete Formänderung, die durch eine Änderung der Umgebungsparameter hervorgerufen wird, in der Regel nicht bekannt ist, besteht kein einfach vorhersagbarer Zusammenhang zwischen Umgebungseinfluss und der Intensitätsänderung der einzelnen Beugungsordnungen. Es empfiehlt sich vielmehr, den beugungsoptischen Sensor bezüglich der Messgröße zu eichen. Eine ausführlichere Diskussion dieser Zusammenhänge findet sich bei SCHUMACHER [1].

6.4.2 Anmerkungen zum Fitten der Kurven

Die Messkurven wurden mit dem Programm ORIGIN von MICROCAL angefitet. Die Daten der pH-Messkurven konnten unter Verwendung der folgenden BOLTZMANN-Funktion angefitet werden:

$$f(x) = \frac{A_1 - A_2}{1 + e^{(x-x_0)/z}} + A_2. \quad (6.31)$$

Der Verlauf dieser angefiteten Kurven entspricht dem Kurvenverlauf, der sich aus den Quellungsexperimenten ergibt. Mit einem Wendepunkt des Graphen bei x_0 und einer Abklingkonstanten z können die jeweiligen pH-Messkurven charakterisiert und miteinander verglichen werden.

Die Messungen, die mit verschiedenen Natriumchloridlösungen durchgeführt wurden, konnten mit der folgenden exponentiellen Zerfallsfunktion angefitet werden:

$$f(x) = f(x_0) + A_1 e^{-(x-x_0)/z}. \quad (6.32)$$

Zum Vergleich und zur Charakterisierung der Messkurven wird die Abklingkonstante z angegeben.

6.4.3 Allgemeine Anmerkungen zu den Messungen

Durch kontinuierliche Verbesserung und Anpassung wurden die mikrostrukturierten Proben im Verlauf der Zeit unter wechselnden Bedingungen und mit teilweise unterschiedlichen Monomerlösungen hergestellt. Um die Ergebnisse der Messungen in einen Gesamtzusammenhang einordnen zu können, muss dies berücksichtigt werden.

Die Parameter, die angepasst wurden, sind im Einzelnen die Polymerisationsbedingungen und hier insbesondere die Polymerisationszeit sowie der Wechsel von thermischer Polymerisation auf die Polymerisation mit UV-Licht. Des Weiteren wurde die Präparation der Proben zunächst an Raumluft, später nur noch in der Glovebox in einer Schutzgasatmosphäre durchgeführt. Damit konnte die Polymerisationszeit entscheidend verkürzt werden, was für die Polymerisation der enzymhaltigen Monomerlösung beson-

ders wichtig war. Die Enzyme zeigen eine deutliche Abnahme ihrer Aktivität, wenn sie Temperaturen von 40 °C bis 60 °C oder UV-Bestrahlung ausgesetzt werden (Kapitel 3).

Zur Herstellung der Proben mit pH-sensitivem P(MAA-*g*-EG)-Hydrogel wurde ausschließlich die Monomerlösung in der Zusammensetzung, die in Kapitel 3 angegeben ist, verwendet. Die Monomerlösung des glucose-sensitiven P(MAA-*g*-EG)-Hydrogels wurde permanent auf Glucoseempfindlichkeit hin optimiert. Aus diesem Grund kamen hier Monomerlösungen unterschiedlicher Zusammensetzung zum Einsatz. Die Abweichungen von der Zusammensetzung der in Kapitel 3 oder der in der Literatur [7] angegebenen Monomerlösung werden im Text erläutert.

Als Substrate wurden ausschließlich Glasobjektträger verwendet, die nach der in Kapitel 3 beschriebenen Methode funktionalisiert wurden.

6.5 Messungen an pH-sensitiven P(MAA-*g*-EG)-Hydrogelen

6.5.1 Untersuchungen zum Einfluss der Ionenstärke und des pH-Werts

Die ersten Messungen, die hier vorgestellt werden, befassen sich mit Untersuchungen zum Einfluss der Natriumchloridkonzentration und des pH-Werts auf das Quellungsverhalten des P(MAA-*g*-EG)-Hydrogels. Zunächst soll untersucht werden, ob es einen Konzentrationsbereich gibt, in dem die Änderung der Ionenstärke nur noch geringen oder keinen Einfluss mehr auf das Quellverhalten des Gels hat. In einem solchen Konzentrationsbereich sollte es möglich sein das pH-abhängige Quellungsverhalten des Gels ohne salzbedingte Einflüsse zu untersuchen.

Die in Abbildung 6-7 dargestellte statische Messung wurde mit einer Hydrogelmikrostruktur durchgeführt, die aus einer Standard-Monomerlösung (Kapitel 3) hergestellt wurde und 72 Stunden in einer Wasserdampfphase bei 70 °C im Trockenschrank polymerisiert wurde. Es wurden MP-Wasser und Natriumchloridlösungen mit den Konzentrationen 1×10^{-3} mol/l, 1×10^{-2} mol/l und 1×10^{-1} mol/l vermessen. Zur Verbesserung der Übersichtlichkeit sind in allen folgenden Abbildungen die Konzentrationen der Messlösungen durch Zahlenwerte in den Graphiken angegeben.

Aus Abbildung 6-7 wird deutlich, dass die größte Intensitätsänderung im Konzentrationsbereich von 1×10^{-3} bis 1×10^{-2} mol/l stattfindet. Die Änderung der Intensität beim Übergang von 1×10^{-2} mol/l auf 1×10^{-1} mol/l fällt vergleichsweise gering aus. Trägt man die Mittelwerte der Intensitäten gegen die jeweiligen Konzentrationen auf, so wird damit der Verlauf des Quellungsverhaltens der makroskopischen Gelproben (Kapitel 5) bestätigt. Die Abklingkonstante des exponentiellen Zerfalls ergibt sich für diese Messung zu $z = (1.54 \pm 0.31) \times 10^{-3}$ mol/l (Abbildung 6-8).

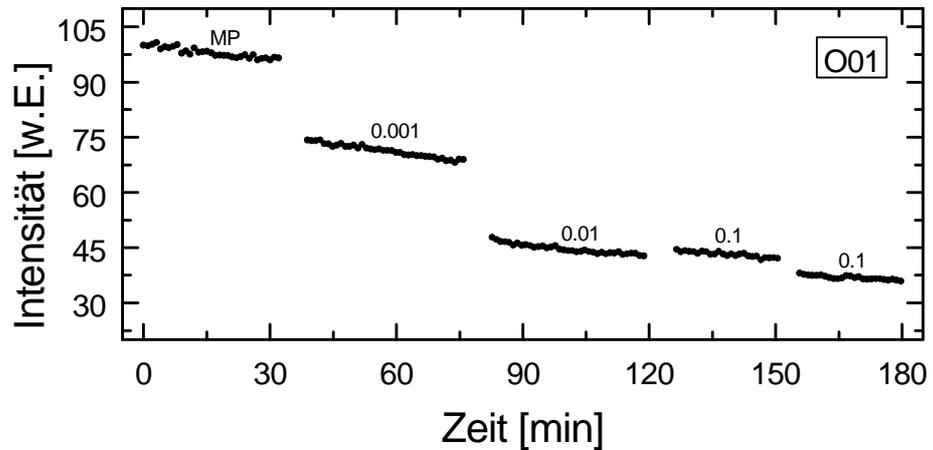


Abbildung 6-7 In dieser statischen Messung wurden Lösungen verschiedener Natriumchloridkonzentrationen gemessen. Zur besseren Übersichtlichkeit ist die Konzentration der jeweiligen Messlösung in mol/l durch den jeweiligen Zahlenwert über den gemessenen Intensitäten angegeben. Begonnen wurde mit MP-Wasser (MP). Man erkennt deutlich, dass die größten Intensitätsänderungen im Bereich niedriger Natriumchloridkonzentrationen von $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l bis $1 \cdot 10^{-2}$ mol/l auftreten.

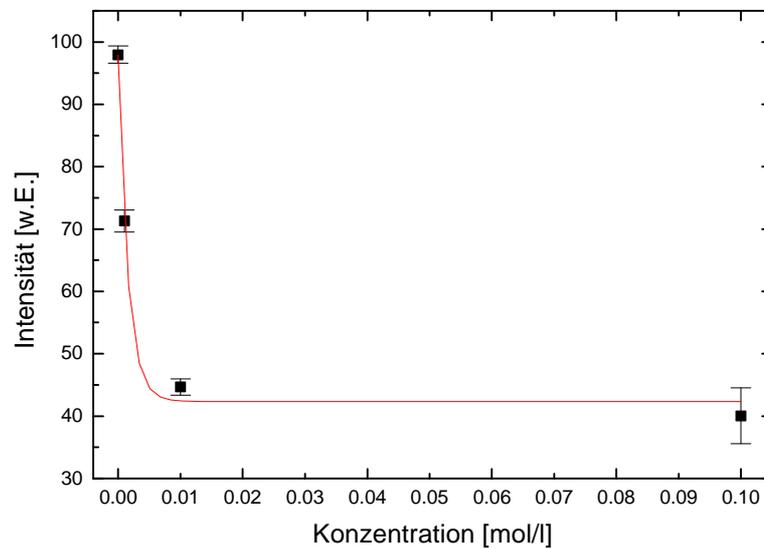


Abbildung 6-8 Aus den Mittelwerten der Intensitätsmesswerte ergibt sich diese Abhängigkeit von der Konzentration der Natriumchloridlösungen. Die Fehlerbalken ergeben sich aus der Standardabweichung der Intensitätsmesswerte. Der Messwert für MP-Wasser wurde in die Graphik mit einbezogen.

Nach dieser Messung wurde die Probe für drei Tage in MP-Wasser eingelegt, um das angereicherte Natriumchlorid auszuwaschen. Anschließend wurde sie erneut vermessen (Abbildung 6-9).

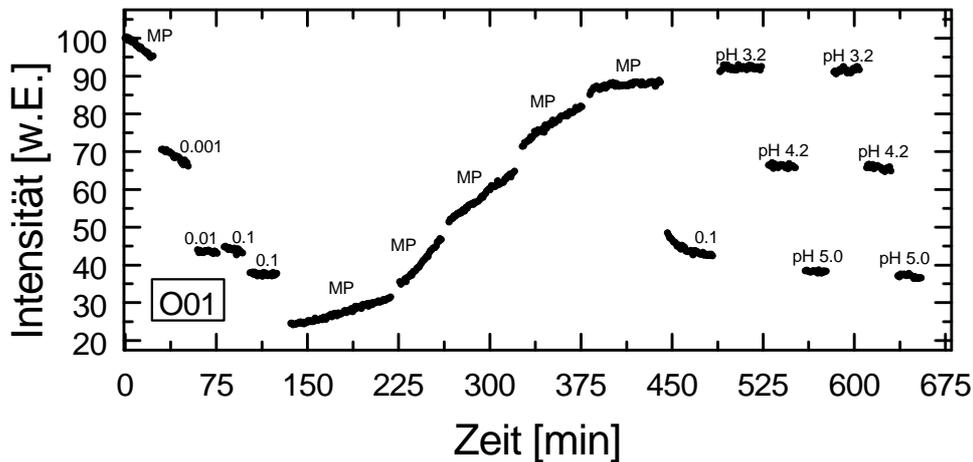


Abbildung 6-9 In dieser Messung wird der Effekt des An sammelns von Salz im Gel deutlich. Das Auswaschen des Salzes mit MP-Wasser aus dem Hydrogel verlief über mehrere Stunden. Die Intensität erreicht den ursprünglichen Wert auch nach einem Zeitraum von 5 ½ Stunden nicht vollständig.

Neben den Lösungen verschiedener Natriumchloridkonzentrationen wurden hier auch Lösungen mit verschiedenen pH-Werten bei konstanter Ionenstärke von 0.1 mol/l vermessen. Diese Lösungen wurden aus MP-Wasser durch Zugabe konzentrierter Essigsäure und Natriumhydroxid hergestellt. Anschließend wurde die notwendige Menge Natriumchlorid zugegeben, um eine Ionenstärke von 0.1 mol/l einzustellen.

Abbildung 6-10 bestätigt den Intensitätsverlauf aus Abbildung 6-8 für den Konzentrationsbereich von 1×10^{-3} bis 1×10^{-1} mol/l. Die Abklingkonstante des exponentiellen Zerfalls ergibt sich für diese Messung zu $z = (1.47 \pm 0.43) \times 10^{-3}$ mol/l und ist damit im selben Bereich wie der Wert der vorangegangenen Messung. Deutlich wird hier vor allen Dingen, dass mit einer Ionenstärke im Bereich von 0.1 mol/l keine wesentliche Änderung des Quellungs Zustandes und damit der Intensität des gebeugten Laserlichts mehr erreicht werden kann. Bei einer Ionenstärke von etwa 0.1 mol/l lassen sich somit salzbedingte Quellungs- und Intensitätsänderungen bei den pH-Messungen vernachlässigen. Dieses wichtige Ergebnis wird in weiteren beugungsoptischen Messungen und den Gleichgewichtsquellstudien bestätigt. So auch durch eine Messung, die bis zu einer Natriumchloridkonzentration von 2×10^{-1} mol/l mit einer differenzierteren Konzentrationsabstufung durchgeführt wurde (Abbildung 6-20).

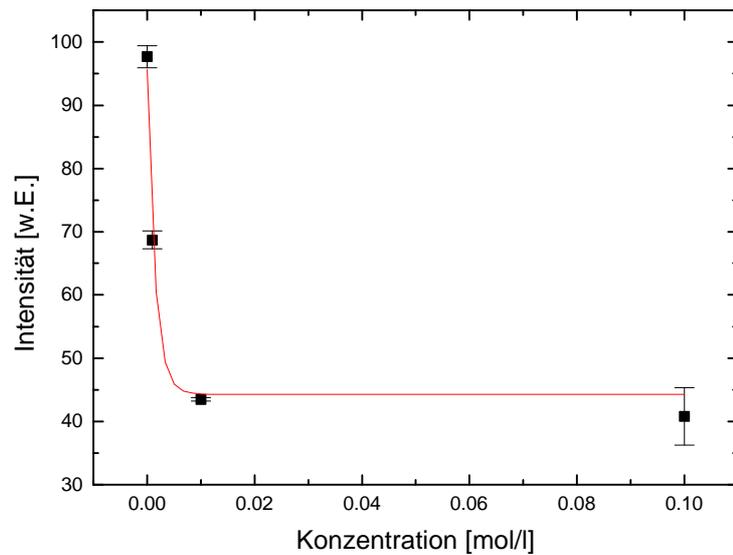


Abbildung 6-10 Aus den Mittelwerten der Intensitätsmesswerte aufgetragen gegen die Konzentration der Natriumchloridlösungen, ergibt sich diese Graphik. Die Fehlerbalken ergeben sich aus der Standardabweichung der Intensitätsmesswerte. Der Messwert für MP-Wasser wurde in die Graphik mit einbezogen.

Im Verlauf der obigen Messung wurde auch versucht, mit reinem MP-Wasser wieder den Anfangswert der Intensität zu erreichen. Über einen Zeitraum von 5 ½ Stunden wurde das im Gelinneren angehäufte Salz ausgewaschen und dabei die Intensitätsänderung verfolgt. Durch das Auswaschen des Gels konnte die ursprüngliche Intensität nahezu, jedoch nicht vollständig wieder erreicht werden. Im Anschluss daran wurde das Gel zunächst wieder mit einer Natriumchloridlösung von 0.1 mol/l äquilibriert, bevor Lösungen mit verschiedenen pH-Werten bei konstanter Ionenstärke von 0.1 mol/l vermessen wurden. Alle im Folgenden verwendeten Lösungen mit unterschiedlichen pH-Werten wurden auf die gleiche Weise hergestellt.

Aus diesen Messungen ergeben sich Abbildung 6-11 und Abbildung 6-12. Hier wurden die Mittelwerte der Intensitäten gegen die jeweiligen pH-Werte der Messlösungen aufgetragen. Die Fehler ergeben sich aus den Standardabweichungen der Intensitätsmesswerte.

Der Verlauf dieser Kurven, der an klassische Titrationskurven erinnert, wurde an die Kurvenform angefitet, die sich aus den Gleichgewichtsquellungsexperimenten ergibt (Kapitel 5) und die in der Literatur [7, 8] beschrieben wird.

Es ergibt sich ein Wendepunkt der Kurven für den 1. Messzyklus von $x_0 = 4.22$ und eine Abklingkonstante z von 0.19. Für den 2. Messzyklus ergibt sich ein x_0 -Wert von 4.22 und ein z -Wert von 0.16. In diesen Fällen gab die Fitt-Routine vernachlässigbar kleine Fehler an.

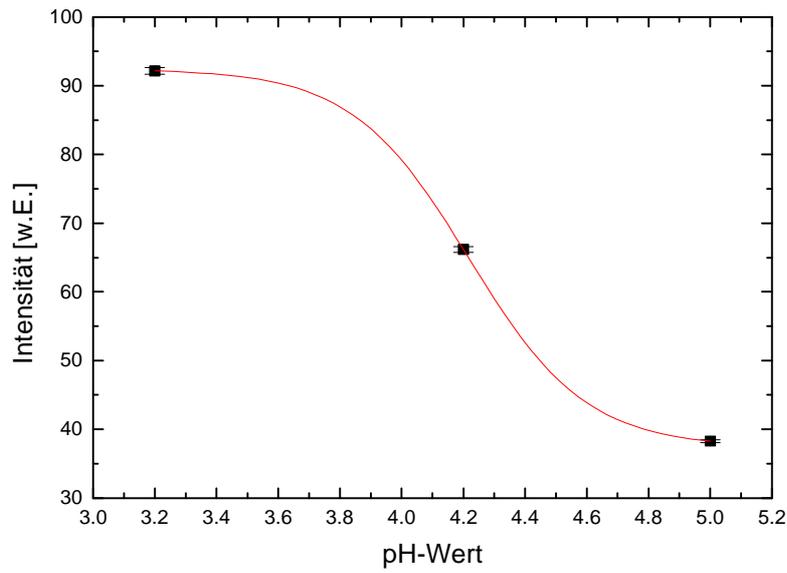


Abbildung 6-11 Der Intensitätsverlauf der 1. Beugungsordnung im 1. Messzyklus als Funktion des pH-Werts.

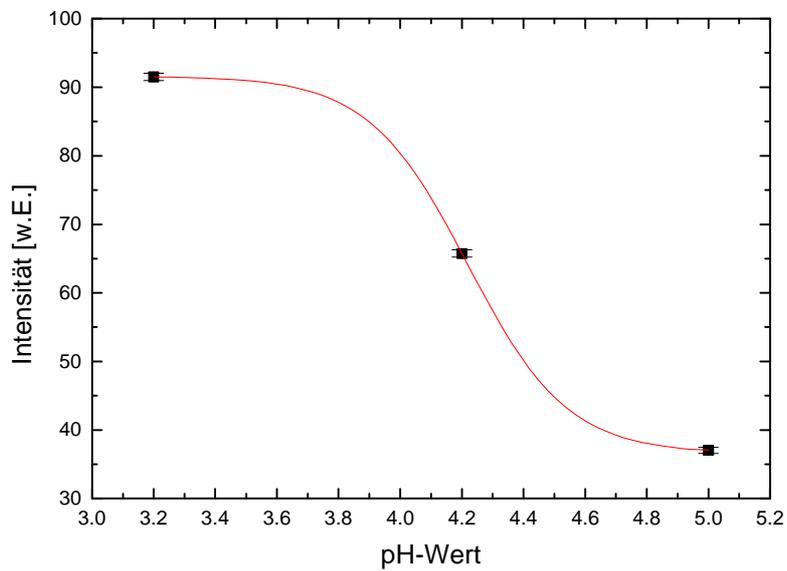


Abbildung 6-12 Der Intensitätsverlauf der 1. Beugungsordnung als Funktion des pH-Werts. Diese Daten stammen aus dem 2. Messzyklus, mit dem die Reversibilität des Systems gezeigt wird.

Zum Vergleich mit den in den beugungsoptischen Messungen ermittelten Werten für die Wendepunkte der Messkurven seien die in der Literatur [7] beschriebenen Werte herangezogen. In Gleichgewichtsquellungsexperimenten an pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogelen wurden dort Wendepunkte ermittelt, die in einem pH-Bereich von pH 4.6 bis pH 5.8 liegen.

In den nachfolgenden Messungen wurden Proben eingesetzt, die mit UV-Licht polymerisiert wurden. Aus dem Vergleich mit den vorangegangenen Untersuchungen kann somit der Einfluss der Polymerisationsbedingungen auf das Quellungsverhalten des Hydrogels abgeschätzt werden.

Die Probe, die in der folgenden Messung (Abbildung 6-13) eingesetzt wurde, stammt aus der Standard-Monomerlösung (Kapitel 3). Sie wurde an Raumluft präpariert und in einer Argonatmosphäre für zwei Stunden mit einer UV-Röhre mit einer Wellenlänge von 350 nm bestrahlt. Gemessen wurden auch hier Lösungen mit verschiedenen Natriumchloridkonzentrationen und Lösungen mit verschiedenen pH-Werten bei konstanter Ionenstärke von 0.1 mol/l.

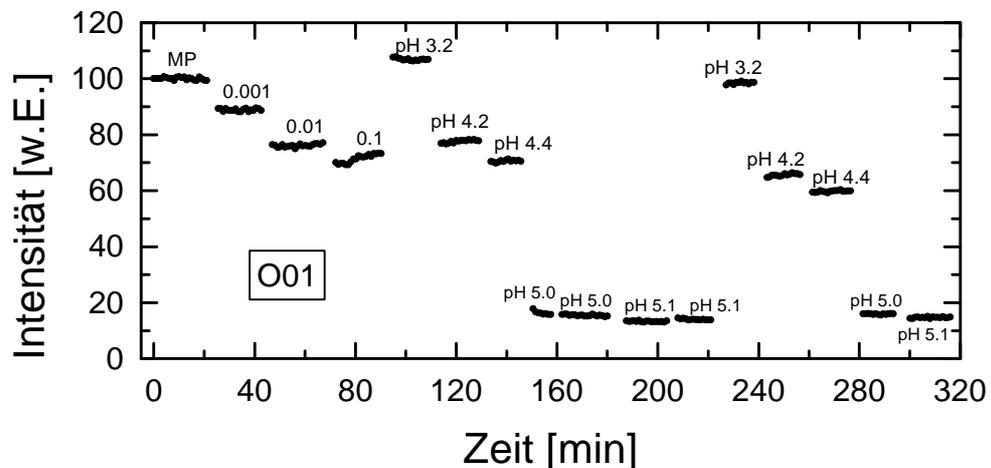


Abbildung 6-13 Diese Messung zeigt die Empfindlichkeitsgrenze der beugungsoptischen Methode in dieser Konfiguration auf. Intensitätsunterschiede lassen sich noch bei einer Differenz von 0.1 pH-Einheiten messen.

Mit dieser Messung (Abbildung 6-13) kann die Empfindlichkeitsgrenze des beugungsoptischen Konzepts in dieser Konfiguration angegeben werden. Im Bereich um pH 5 können hier noch Intensitätsunterschiede zwischen Lösungen gemessen werden, deren pH-Wert sich um 0.1 pH-Einheiten unterscheidet. Dies konnte in zwei aufeinanderfolgenden Messzyklen gezeigt werden.

Betrachtet man hingegen die Reproduzierbarkeit bezüglich den Intensitäten, die im Verlauf der beiden Messzyklen für jeweils identische pH-Werte erreicht wurden, so stellt man fest, dass im 2. Messzyklus die Intensitäten aus dem 1. Messzyklus nicht wieder erreicht werden konnten. Dies kann auf die im Verlauf der Messung stattfindende Kumulation von Salzen zurückgeführt werden.

Aus der Natriumchloridmessung ergibt sich eine Abklingkonstante z von $(1.87 \pm 0.89) \times 10^{-3}$ mol/l (Abbildung 6-14).

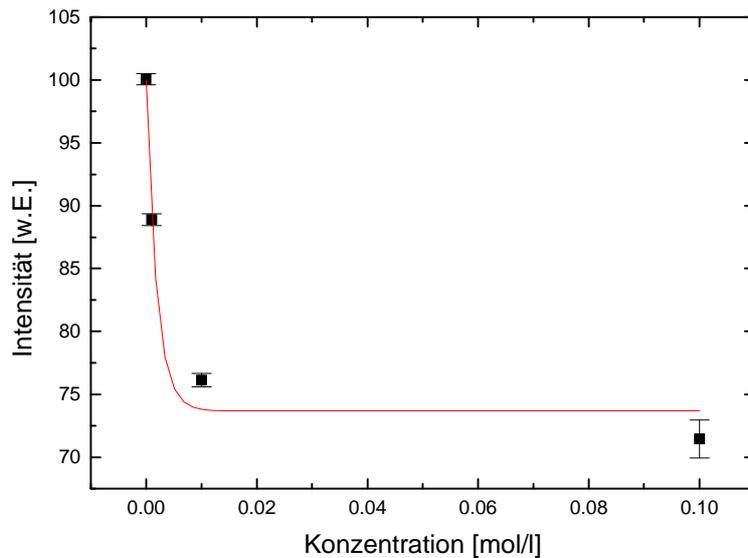


Abbildung 6-14 Natriumchlorid-Messreihe. Der Wert für MP-Wasser wurde ebenfalls aufgenommen.

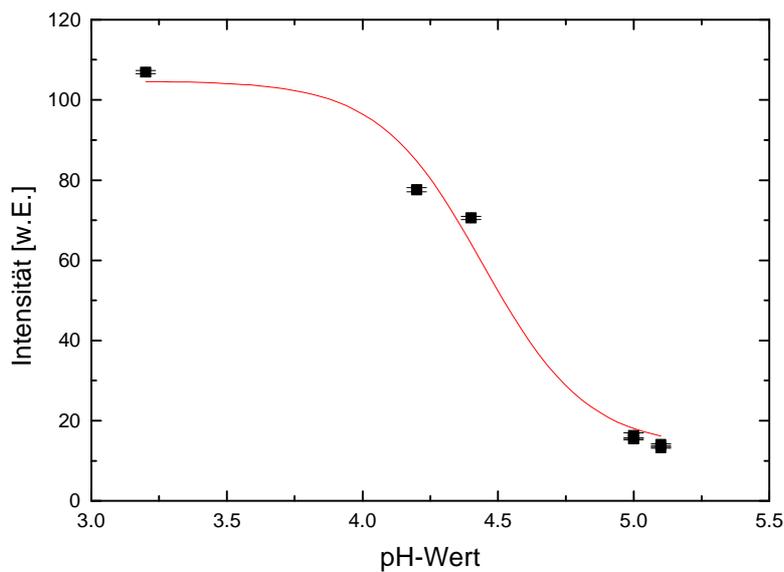


Abbildung 6-15 Die Daten dieser Kurve stammen aus dem 1. pH-Messzyklus.

Der Wendepunkt der Kurve für den 1. Messzyklus (Abbildung 6-15) liegt bei $x_0 = 4.44 \pm 0.05$ mit einer Abklingkonstanten z von 0.19 ± 0.04 . Für den 2. Messzyklus (Abbildung 6-16) ergibt sich ein x_0 -Wert von 4.37 ± 0.07 und ein z -Wert von 0.23 ± 0.08 .

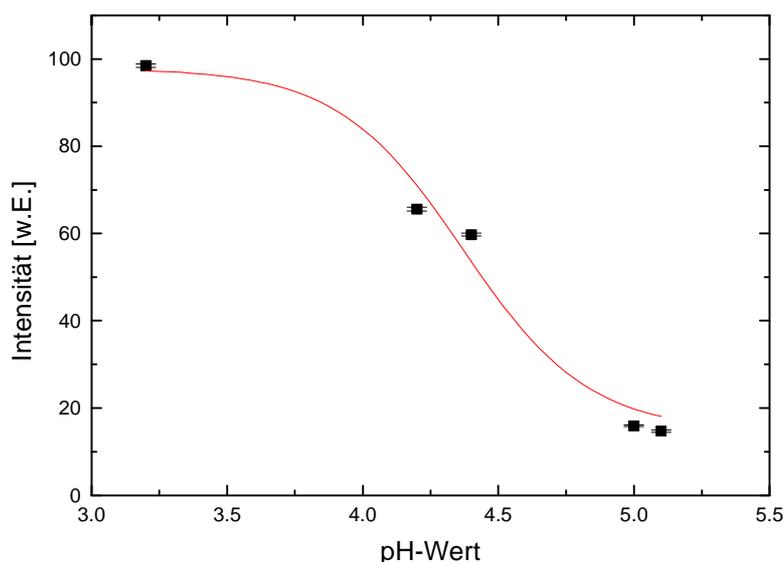


Abbildung 6-16 Die Daten dieser Kurve stammen aus dem 2. pH-Messzyklus.

Durch Vergleich dieser Messung (Abbildung 6-13) mit den Ergebnissen aus der vorherigen Messung (Abbildung 6-9), die an einem thermisch polymerisierten Gel durchgeführt wurde, ergeben sich keine messbaren Unterschiede. Sowohl die Abklingkonstanten aus den Kochsalzmessungen als auch die Wendepunkte und die Abklingkonstanten aus den pH-Messungen liegen im selben Größenordnungsbereich.

Die im Folgenden vorgestellten Messungen wurden im Durchfluss durchgeführt. Dazu wurde 1 l MP-Wasser kontinuierlich durch die Messkammer gepumpt. Zuvor wurde das Wasser eine Stunde im Ultraschallbad entgast. Portionsweise wurden Natriumchlorid, Essigsäure und Natriumhydroxid zugegeben. Gleichzeitig wurde der pH-Wert der Lösung mit einem pH-Meter gemessen.

Mit dieser dynamischen Messmethode sind einige Vorteile verbunden: Durch sorgfältiges Entgasen des MP-Wassers kann die Blasenbildung weitgehend vermieden werden. Bei statischen Messungen kann die Bildung von Mikrobläschen, die sich am Abdeckglas bilden, nicht immer ausgeschlossen werden. Weiterhin wird das Auslaufen der Messlösung durch eine gute Abdichtung der Messkammer verhindert.

Die folgende, im Durchfluss ausgeführte, dynamische Messung (Abbildung 6-17) wurde mit einer Probe durchgeführt, die völlig unter Schutzgas hergestellt und eine Stunde mit einer Wellenlänge von 350 nm in einem Abstand von ca. 2 cm belichtet wurde.

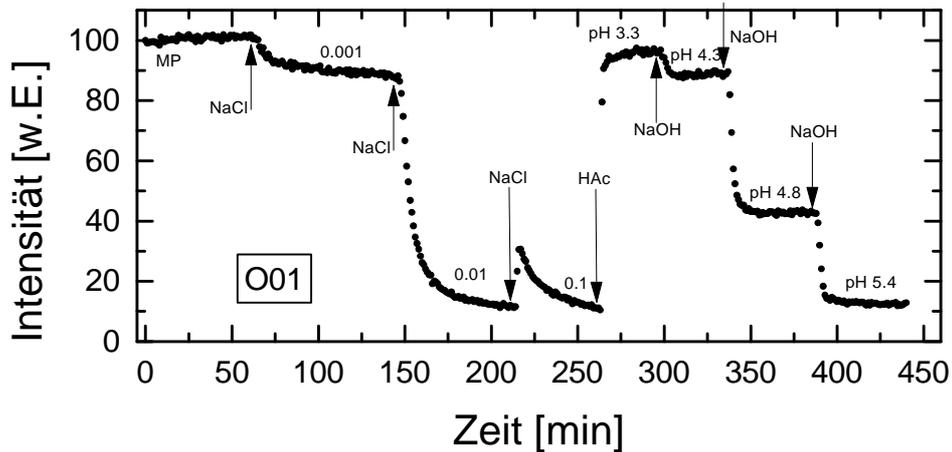


Abbildung 6-17 Für diese dynamische Messung wurde 1 l MP-Wasser kontinuierlich durch die Messzelle gepumpt. Nach und nach wurden entsprechende Mengen Natriumchlorid, Essigsäure und Natriumhydroxid zugegeben.

Die Geschwindigkeit, mit der das System auf eine Konzentrationsänderung oder pH-Wert Änderung reagiert, liegt im Bereich von 3-4 Minuten. Ein Gleichgewichtswert wird in der Regel nach 14-17 Minuten erreicht. Unter Berücksichtigung der Zeit, die die Schlauchpumpe für den kompletten Austausch der in der Messkammer befindlichen Lösung benötigt (ca. 5 Minuten), reagiert das Hydrogel also unmittelbar auf eine Änderung seiner Umgebungsbedingungen.

In dieser Messung ist zu erkennen, dass die Intensitätsänderungen im Bereich der niedrigen Natriumchloridkonzentrationen am größten ist. Für diese Messung ergibt sich eine Abklingkonstante z von $(4.1 \pm 1.95) \times 10^{-3}$ mol/l (Abbildung 6-18).

Aus dieser Messung wird der pH-Bereich, in dem das Sensorsystem am empfindlichsten reagiert, besonders deutlich: Die größten Intensitätsänderungen werden durch die Änderung des pH-Werts um eine pH-Einheit zwischen pH 4.3 bis pH 5.4 ausgelöst. Die Änderung des pH-Werts in der selben Größenordnung zwischen pH 3.3 und pH 4.3 verursacht dagegen vergleichsweise geringe Intensitätsänderungen. Für diese Messung ergibt sich ein x_0 -Wert von 4.71 ± 0.01 und eine Abklingkonstante z von 0.17 ± 0.01 (Abbildung 6-19).

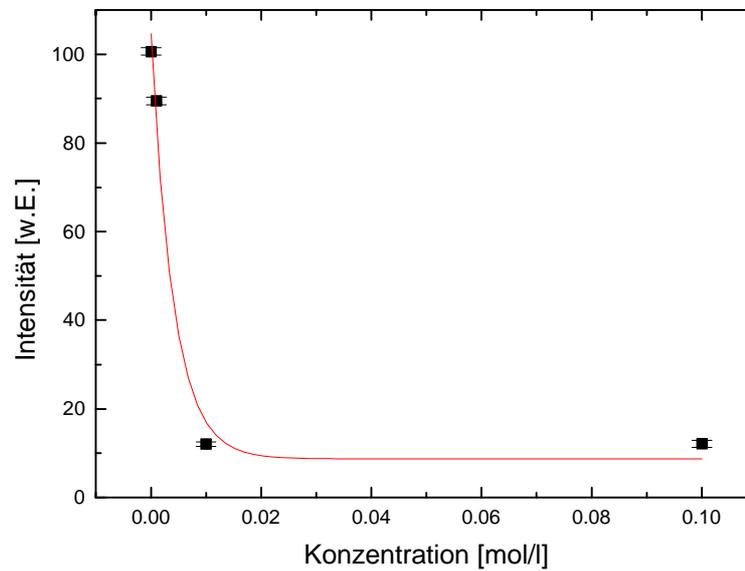


Abbildung 6-18 Natriumchlorid-Messreihe inklusive MP-Wasser Messwerte.

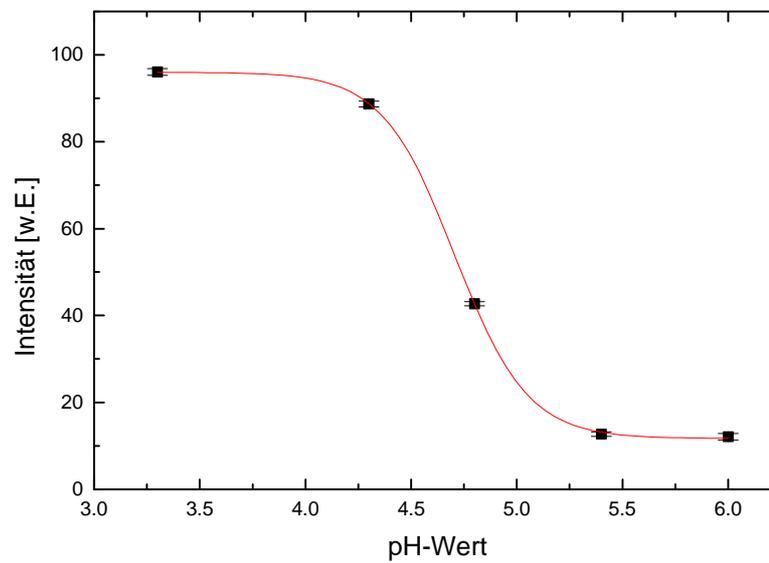


Abbildung 6-19 Intensität der 1. Beugungsordnung als Funktion des pH-Werts. Hier konnte der pH-Wert der Natriumchloridlösung in die Messreihe mit eingebracht werden.

In der folgenden Messung (Abbildung 6-20) wurde das Quellungsverhalten des pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels nur in Abhängigkeit von der Natriumchloridkonzentration in einem Bereich von 1×10^{-3} mol/l bis 2×10^{-1} mol/l untersucht. Durch eine differenzierte Konzentrationsabstufung sollte der Empfindlichkeitsbereich und damit das Quellungsverhalten des Hydrogels genauer untersucht werden. Diese Probe wurde in der Glovebox komplett unter Argon präpariert und anschließend unter Schutzgas im Schlenk-Rohr für eine Stunde mit einer Wellenlänge von 350 nm bestrahlt.

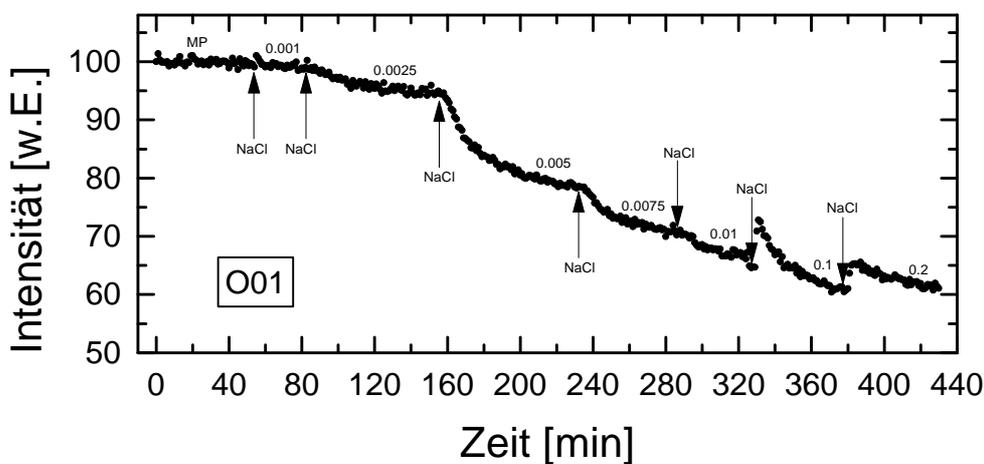


Abbildung 6-20 Differenzierte Abstufungen in der Natriumchloridkonzentration erlauben eine genauere Untersuchung des P(MAA-g-EG)-Hydrogels.

Die Geschwindigkeit, mit der das System auf eine Konzentrationsänderung reagiert, lässt sich aus Abbildung 6-20 ablesen. Eine Intensitätsänderung ist ca. 3-5 Minuten nach einer Konzentrationsänderung messbar. Nach ca. 20-30 Minuten wurde ein konstanter Wert erreicht. Die Zeit, die die Schlauchpumpe für den kompletten Austausch der in der Messkammer befindlichen Lösung benötigt, beläuft sich auf ca. 5 Minuten. Das Hydrogel reagiert also unmittelbar auf eine Konzentrationsänderung.

Diese Messung bestätigt noch einmal, dass ab einer Ionenstärke von 0.1 mol/l keine wesentlichen Änderungen der Intensität – m.a.W. des Quellungszustandes des Hydrogels – mehr zu beobachten sind. Für diese Messung ergibt sich ein Abklingkonstante z von $(6.24 \pm 1.19) \times 10^{-3}$ mol/l (Abbildung 6-21).

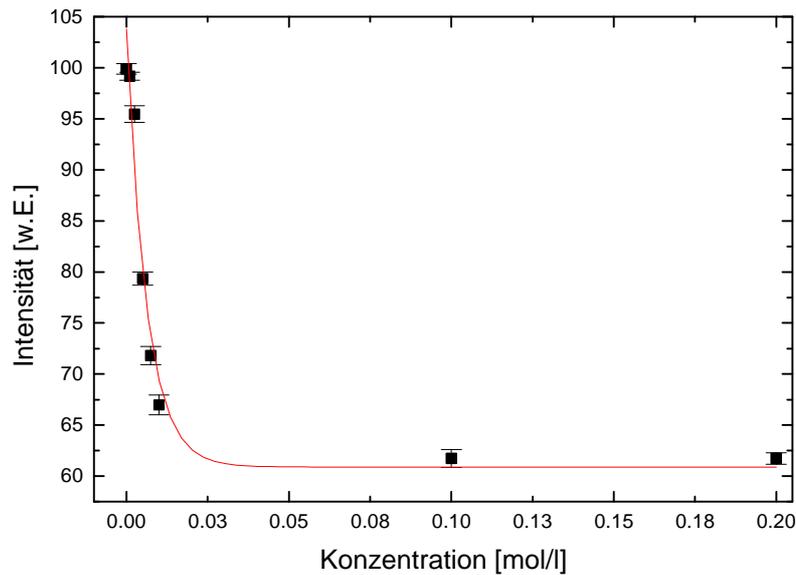


Abbildung 6-21 Der Intensitätsverlauf der 1. Beugungsordnung während der Natriumchlorid-Messreihe. Der Messwert für MP-Wasser wurde ebenfalls aufgenommen.

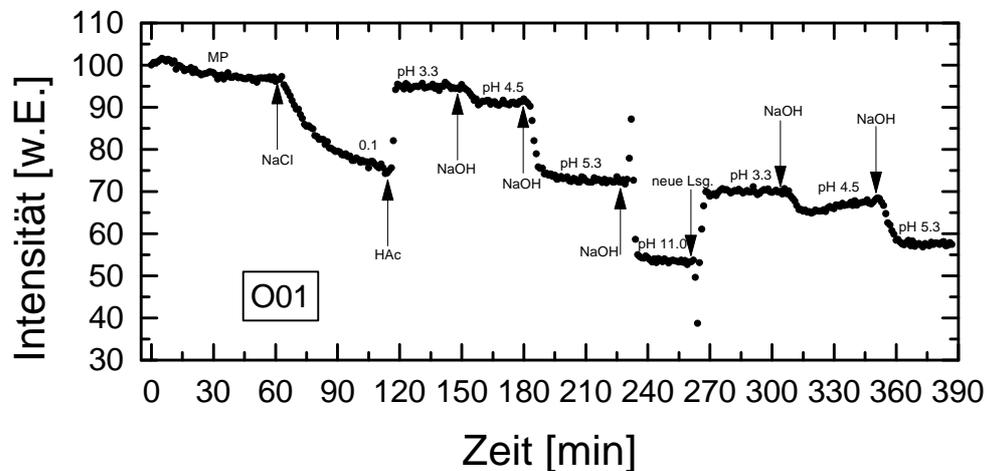


Abbildung 6-22 Im Vergleich zu anderen Messungen sind die Intensitätsänderungen deutlich weniger stark ausgeprägt. Diese Messung wurde einen Tag nach der großen Natriumchlorid-Messreihe (Abbildung 6-20) mit der gleichen Probe durchgeführt. Die Probe wurde über Nacht mit MP-Wasser ausgewaschen.

Die Probe aus der vorherigen Natriumchlorid-Messreihe (Abbildung 6-20) wurde über Nacht (ca. 16 Stunden) mit MP-Wasser ausgewaschen. Am nächsten Tag wurde sie erneut vermessen. Es zeigte sich eine deutlich geringere Empfindlichkeit auf Natri-

umchloridlösungen und Lösungen mit verschiedenen pH-Werten (Abbildung 6-22). Eine Verminderung der Empfindlichkeit gegenüber Natriumchlorid als auch gegenüber Lösungen mit verschiedenen pH-Werten konnte im Verlauf mehrerer Messungen an verschiedenen Proben beobachtet werden. Anschaulich bedeutet dies eine Verminderung der Quellungsdynamik des Hydrogels und ist auf die Ansammlung von Salz im Gelinneren zurückzuführen.

Nach der Änderung des pH-Werts der Messlösung auf pH 11 kommt die Intensität nach einem Wechsel auf pH 3.3 nicht mehr auf den ursprünglichen Wert zurück. Dies könnte auf das besonders starke Aufquellen des Gels bei pH 11 zurückzuführen sein. Dadurch wird die Salzaufnahme ins Gel beschleunigt, wodurch wiederum die Empfindlichkeit herabgesetzt wird.

Diese Messung zeigt die Möglichkeiten und Grenzen des Systems bezüglich der Reversibilität. Obwohl das System – innerhalb eines gewissen Rahmens – reversibel reagiert, muss der *Salzeffekt*, also die Kumulation des Salzes im Gel, berücksichtigt werden. Für die pH-Messreihe (Abbildung 6-23) ergibt sich ein x_0 -Wert von 5.25 und ein z -Wert von 0.33. Die Fehler waren vernachlässigbar klein.

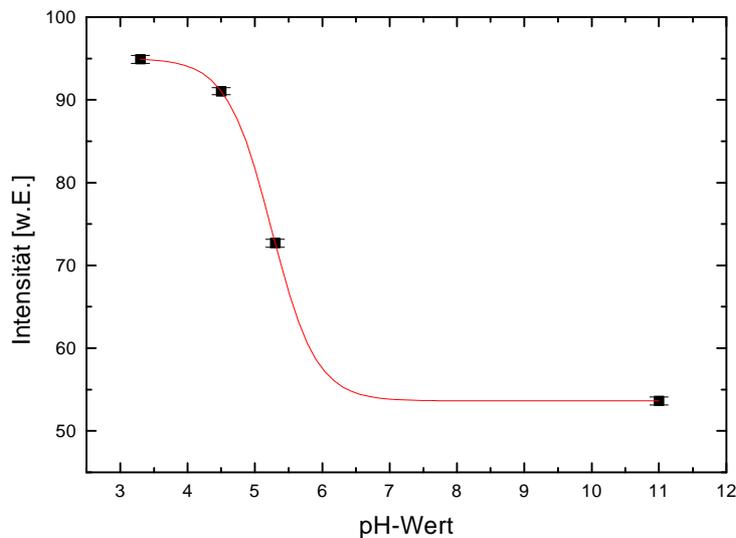


Abbildung 6-23 Intensitätsverlauf der pH-Messreihe.

Die nachfolgende Messung (Abbildung 6-24) wurde mit der Probe aus der vorherigen Messung (Abbildung 6-22) durchgeführt, nachdem diese über Nacht mit MP-Wasser gründlich gespült wurde.

Bei dieser Messung waren die deutlichsten Intensitätsänderungen in der 2. Beugungsordnung zu beobachten. Daher werden die Ergebnisse hier anhand der 2. Beugungsordnung dargestellt.

Diese Messung wurde mit zwei verschiedenen Lösungen mit pH 3.3 und pH 4.8 durchgeführt, die mit Natriumchlorid auf eine konstante Ionenstärke von 0.1 mol/l eingestellt waren. Es zeigt sich, dass die Reversibilität des Systems nach gründlichem Auswaschen der Sensormatrix wiederhergestellt werden kann.

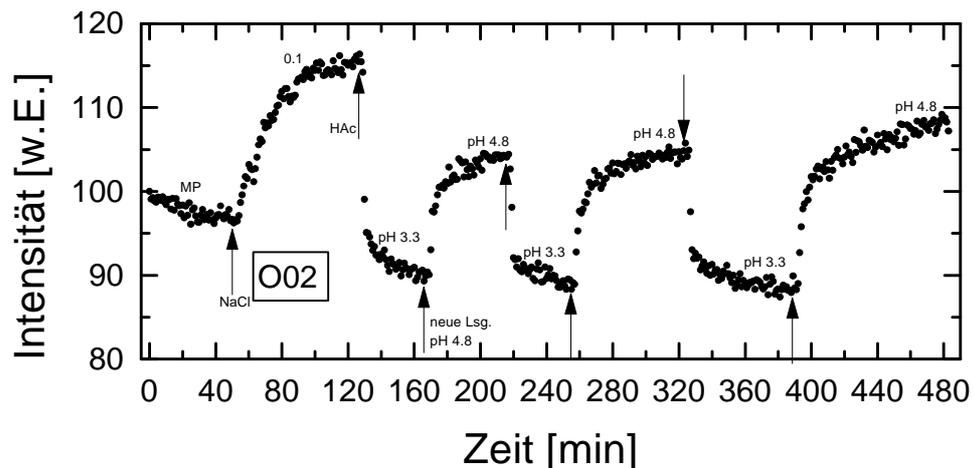


Abbildung 6-24 Messung zur Reversibilität. Abwechselnd wurden Lösungen mit pH 3.3 und pH 4.8 durch die Messkammer gepumpt.

6.6 Glucose-Messungen

Nachfolgend werden die Messungen mit Glucoselösungen an pH-sensitiven und glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogelen gezeigt. Die Glucose-Messungen an pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogelen wurden durchgeführt, um den Einfluss, den die Glucose auf das Quellungsverhalten dieses Gels hat, abschätzen zu können. Das Quellungsverhalten des pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels gegenüber Glucose ist auf osmotische Effekte zurückzuführen.

6.6.1 Messungen an glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogelen

Die Zusammensetzung der einzelnen Monomerlösungen des glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels wurde kontinuierlich verbessert. Bei den Messungen werden daher neben den Polymerisationsbedingungen auch die Zusammensetzung der Monomerlösung angegeben.

Das in der folgenden Messung (Abbildung 6-25) eingesetzte glucose-sensitive P(MAA-g-EG)-Hydrogel orientiert sich in seiner Zusammensetzung im Wesentlichen an [7]. Es wurden 100 mg Glucoseoxidase (~ 200 U/mg⁴, MW 186 000, 5.38×10^{-7} mol) und 207 mg Katalase (~ 170 U/mg, MW 385 000, 5.38×10^{-7} mol) eingesetzt. Als Lösungsmittel wurde ein Gemisch aus 5 ml MP-Wasser und 5 ml Ethanol verwendet. Zur Polymerisation, die mit UV-Bestrahlung für drei Stunden unter Argon durchgeführt wurde, wurden 108 mg 4,4'-Azobis-(4-cyanopentansäure) zugegeben.

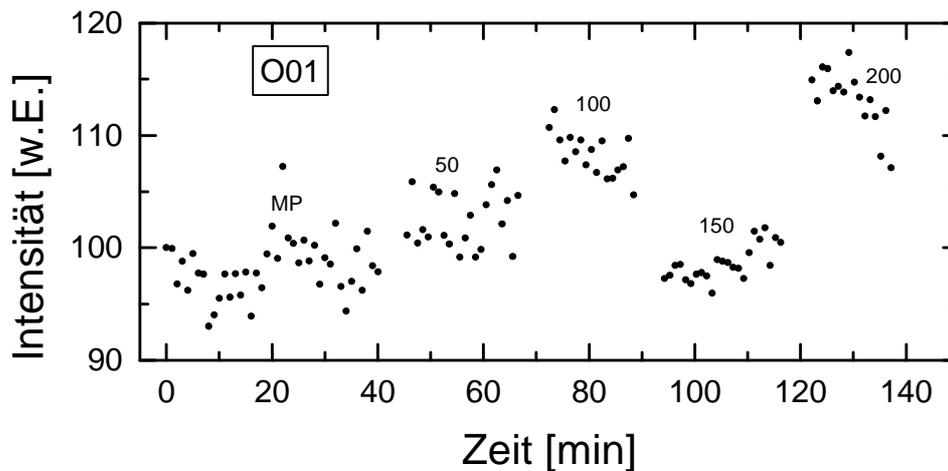


Abbildung 6-25 Messung verschiedener Glucose-Konzentrationen mit einem glucose-sensitiven Gel. Die Zahlenwerte geben mg Glucose / 100 ml Wasser an.

Zur statischen Messung (Abbildung 6-25) wurden Glucose-Lösungen zugegeben, die jeweils x mg Glucose in 100 ml MP-Wasser gelöst hatten ($x = 50, 100, 150, 200$). Diese Glucosemengen orientieren sich an der im menschlichen Organismus üblichen Spanne. Bei gesunden Menschen liegt die Glucose-Konzentration im Blut bei 60-110 mg/100 ml. Bei Menschen mit einer verminderten Insulinproduktion kommt es im Blut zu einer Erhöhung der Glucose-Konzentration auf Werte von 120 mg/100 ml und darüber hinaus.

Nach Zugabe der Glucose-Lösungen treten messbare Intensitätsänderungen auf. Der Verlauf dieser Intensitätsänderungen ist in Abbildung 6-26 nochmals dargestellt. Die Mikrostruktur dieser Probe war jedoch derart inhomogen, dass im Beugungsbild nur zwei Beugungsordnungen gemessen werden konnten. Der uneinheitliche Intensitätsverlauf der Messung (Abbildung 6-26) ist vermutlich ebenfalls auf die inhomogene Struktur des Hydrogelgitters zurückzuführen. Die Ursache für die schlechten Strukturierungseigenschaften liegt in der grobdispersen Zusammensetzung der Monomerlösung,

⁴ 1 U entspricht der Enzymmenge, die 1 μ mol Substanz bei pH 7 und 25 °C umsetzt.

die auf den großen Anteil der Enzyme – und hier insbesondere auf den Anteil der Katalase – zurückzuführen ist. Die Strukturen, die aus dieser Lösung hergestellt werden konnten, waren alle sehr inhomogen. Diese Monomerlösung ist aufgrund der schlechten Strukturierungseigenschaften für die Sensoranwendung ungeeignet. Mit Proben aus dieser Monomerlösung wurden keine weiteren Messungen durchgeführt.

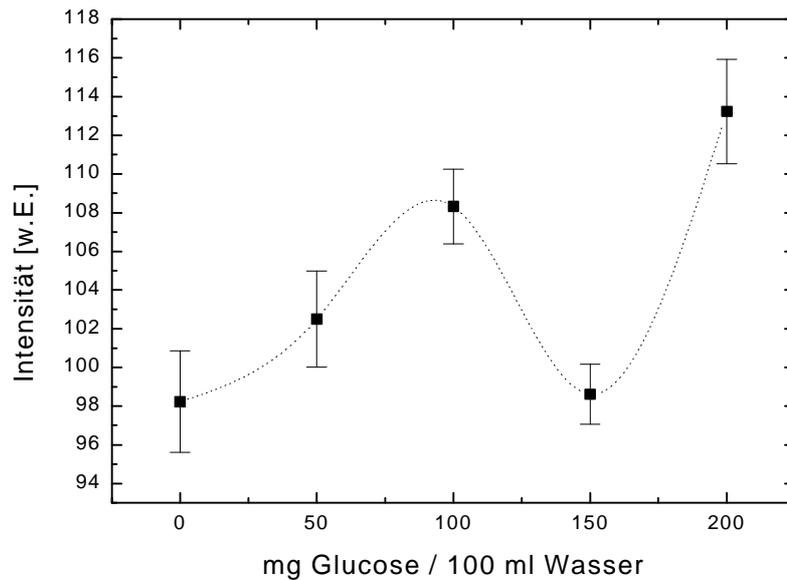


Abbildung 6-26 Der Intensitätsverlauf der 1. Beugungsordnung in Abhängigkeit verschiedener Glucosekonzentrationen.

Da die große Menge der zu der Monomerlösung zugegebenen Katalase im Wesentlichen für den dispersen Charakter der Monomerlösung verantwortlich war, wurde ihr Anteil um die Hälfte reduziert, damit sich eine homogenere Monomerlösung ergab, die sich besser strukturieren lässt.

Die Probe der folgenden Messung (Abbildung 6-27) wurde aus dieser neuen Monomerlösung hergestellt. Sie wurde an Raumluft präpariert und anschließend unter Schutzgas im Schlenk-Rohr für drei Stunden mit einer Wellenlänge von 350 nm bestrahlt. Wiederum lassen sich Intensitätsänderungen messen, die aber deutlich geringer ausfallen als in der Messung zuvor (Abbildung 6-25). Die deutlich geringeren Intensitätsänderungen können auf den verminderten Anteil Katalase zurückzuführen sein.

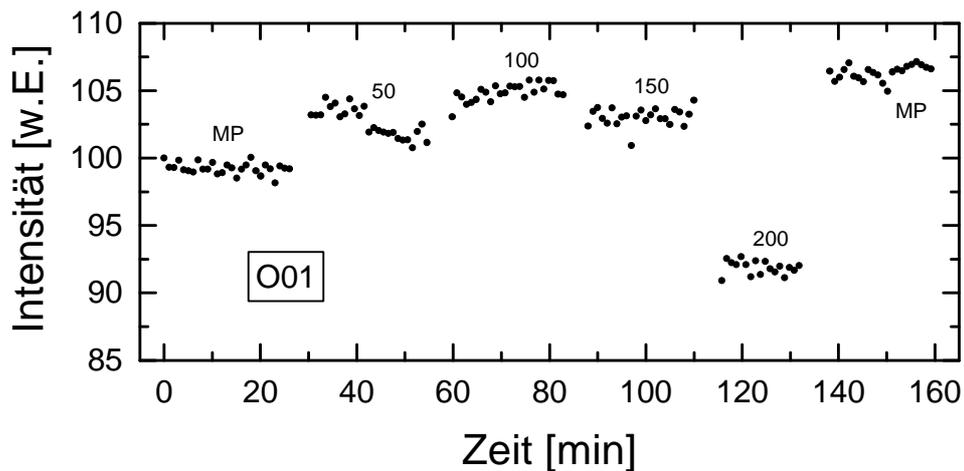


Abbildung 6-27 Messung verschiedener Glucoselösungen mit einem glucose-sensitiven Gel. Der Anteil der Katalase in der Monomerlösung wurde auf die Hälfte reduziert.

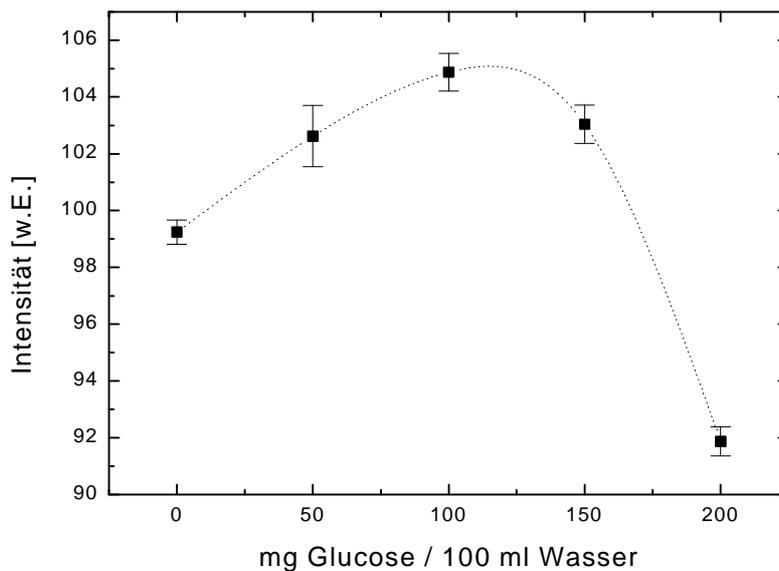


Abbildung 6-28 Der Intensitätsverlauf der 1. Beugungsordnung in Abhängigkeit verschiedener Glucosekonzentrationen.

Vergleicht man den Intensitätsverlauf der Abbildungen 6-26 und 6-28 miteinander, so fällt ein deutlicher Unterschied auf, der nicht eindeutig erklärt werden kann. Des Weiteren würde man – wenn man die bisherigen Messungen an pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogelen zu Grunde legt – ein monotonen Verhalten des Intensitätsverlaufes erwarten. Möglicherweise sind für dieses Verhalten spezielle Formänderungen der inhomogenen Gelstruktur des glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels verantwortlich.

6.6.2 Messung an einem pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogel

Um zu klären, ob die bisherigen Intensitätsänderungen auf einer pH-Wert Änderung beruhen, die durch eine enzymatische Reaktion hervorgerufen wurde, wurde eine Glucose-Messung an einem pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogel durchgeführt (Abbildung 6-29). Diese Probe wurde bereits vermessen (Abbildung 6-13) und seither in MP-Wasser gelagert, das von Zeit zu Zeit erneuert wurde.

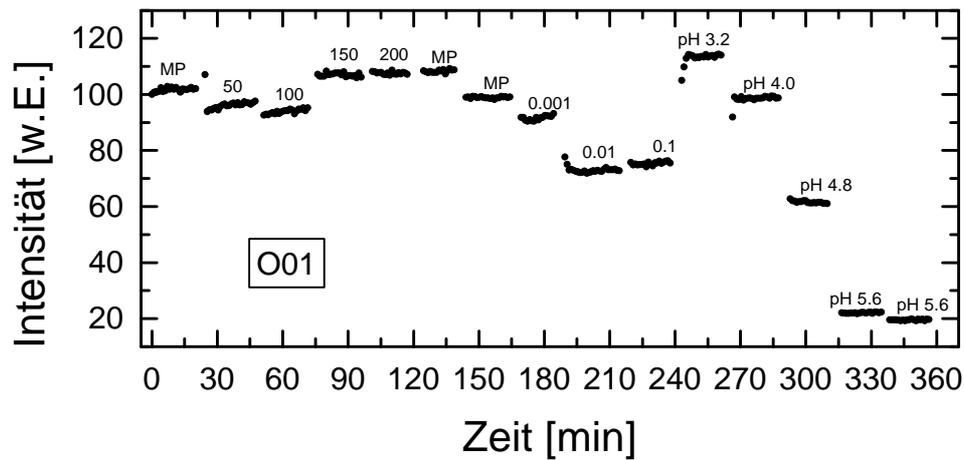


Abbildung 6-29 pH- und Glucosemessung mit einem pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogel.

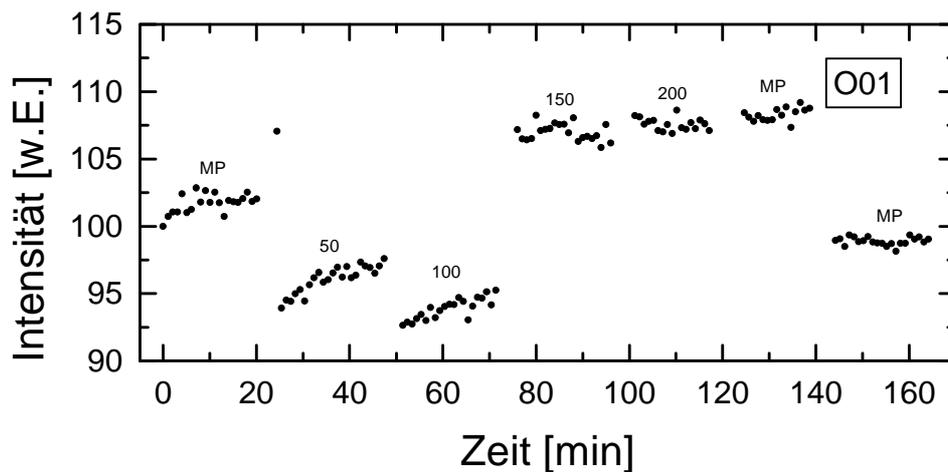


Abbildung 6-30 Hier sind die Messwerte für die verschiedenen Glucose-Lösungen dargestellt.

Diese Probe zeigt messbare Intensitätsänderungen auf Zugabe von Glucose-Lösungen unterschiedlicher Konzentrationen. In Abbildung 6-30 ist die Glucosemessreihe noch einmal dargestellt. Der Intensitätsverlauf der Glucose-Messung ist in Abbildung 6-31 zu sehen.

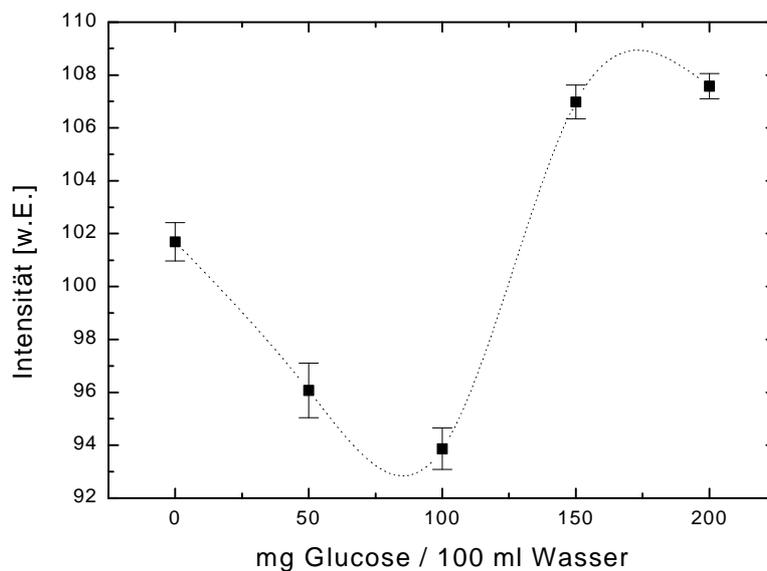


Abbildung 6-31 Glucosemessung mit einem pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogel.

Diese Intensitätsänderungen können auf osmotische Effekte zurückgeführt werden und liegen in der selben Größenordnung wie die Messung mit dem glucose-sensitiven Gel (Abbildung 6-27), das einen verminderten Anteil Katalase besitzt. Vorläufig muss also festgehalten werden, dass in den Messungen mit dem glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogel keine enzymatische Aktivität nachgewiesen werden kann.

Unabhängig von den Glucose-Messungen zeigt die Probe ein gutes pH-abhängiges Verhalten (Abbildung 6-32). Für diese Messung ergibt sich ein x_0 -Wert von 4.72 ± 0.09 und ein z -Wert von 0.29 ± 0.09 .

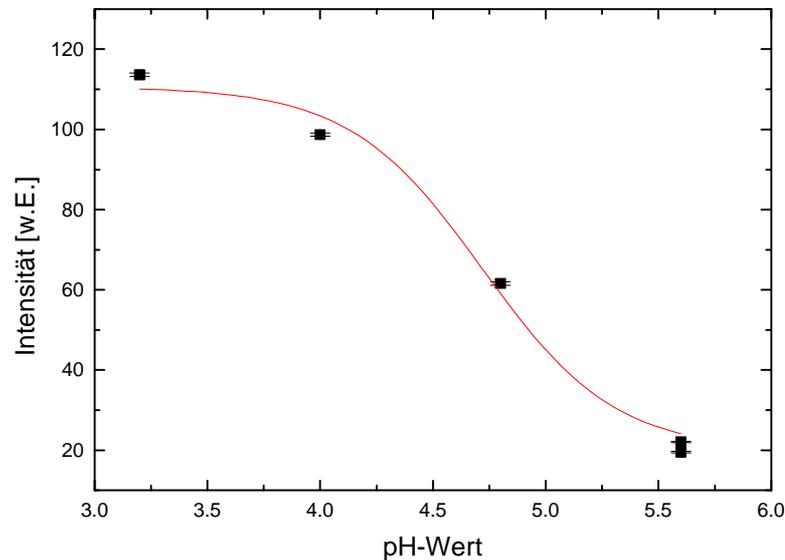


Abbildung 6-32 Intensitätsverlauf der pH-Messung mit dem pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogel, die im Anschluss an die Glucosemessung durchgeführt wurde.

6.6.3 Messung mit einem optimierten glucose-sensitiven Gel

Nach diesen Messungen wurde die Enzym-Monomerlösung gründlich überarbeitet und auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Glucose und ihre Strukturierungseigenschaften hin optimiert. Weiterhin wurden die Präparationsbedingungen an die Bedürfnisse der Enzyme angepasst, um sie mit einer möglichst großen Reaktivität im Gel zu immobilisieren. Die Zusammensetzung der Monomerlösung, die für die folgende Messung (Abbildung 6-33) eingesetzt wurde, ist in Kapitel 3 angegeben. Die Probe wurde vollständig unter Schutzgas präpariert und polymerisiert. Im Vergleich zu anderen Proben konnte die Polymerisationszeit auf eine Stunde mit einer Wellenlänge von 350 nm herabgesetzt werden.

Die Konzentration der Glucose-Lösungen wurde für die folgenden Messungen erhöht, um deutlichere Intensitätsänderungen messen zu können. Mit dieser verbesserten Monomerlösung konnte eine deutliche Reaktion des glucose-sensitiven Gels durch die Änderung der Intensität des gebeugten Laserlichts nachgewiesen werden (Abbildung 6-34).

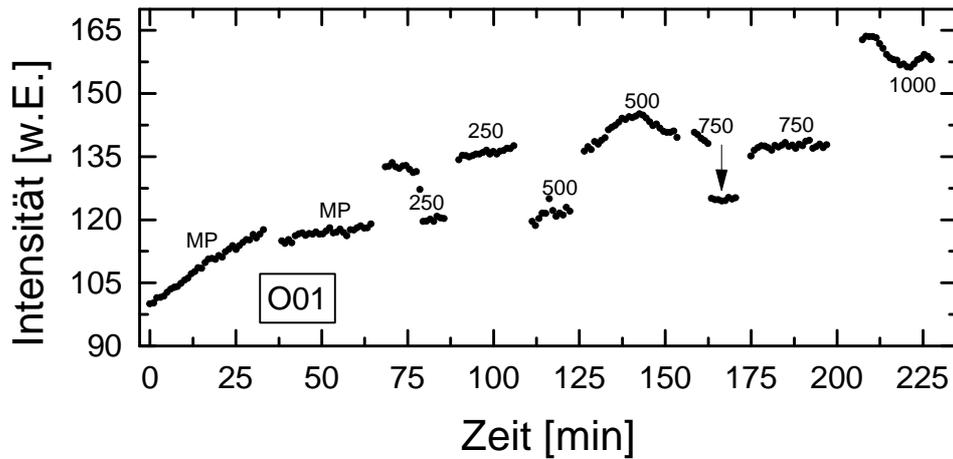


Abbildung 6-33 Messung mit dem optimierten glucose-sensitiven Hydrogel. Die Zahlen geben mg Glucose / 100 ml Wasser an.

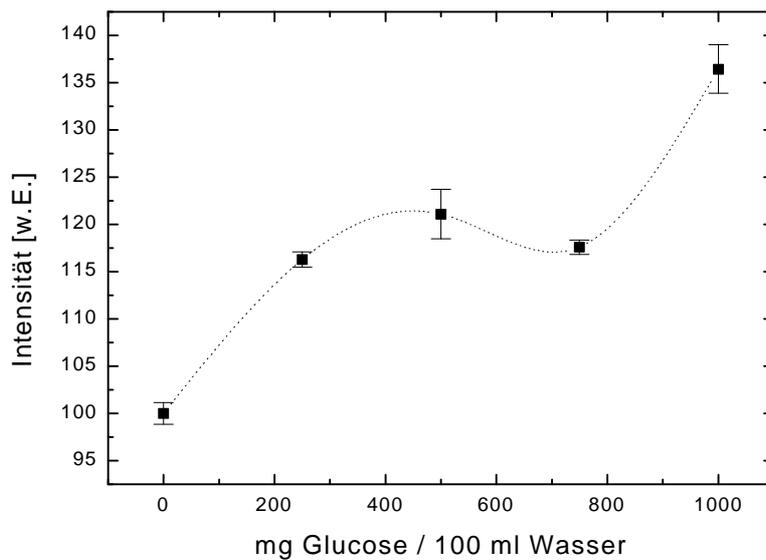


Abbildung 6-34 Glucosemessung mit dem optimierten glucose-sensitiven-Gel. In dieser Messung ist eine deutliche Abhängigkeit der Intensität von der Glucose-Konzentration zu beobachten.

6.6.4 Messung an einem pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogel

Durch die veränderte Glucose-Konzentration musste nun auch die Messung mit einem pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogel wiederholt werden (Abbildung 6-35), um dessen Empfindlichkeit gegenüber Glucose erneut zu untersuchen.

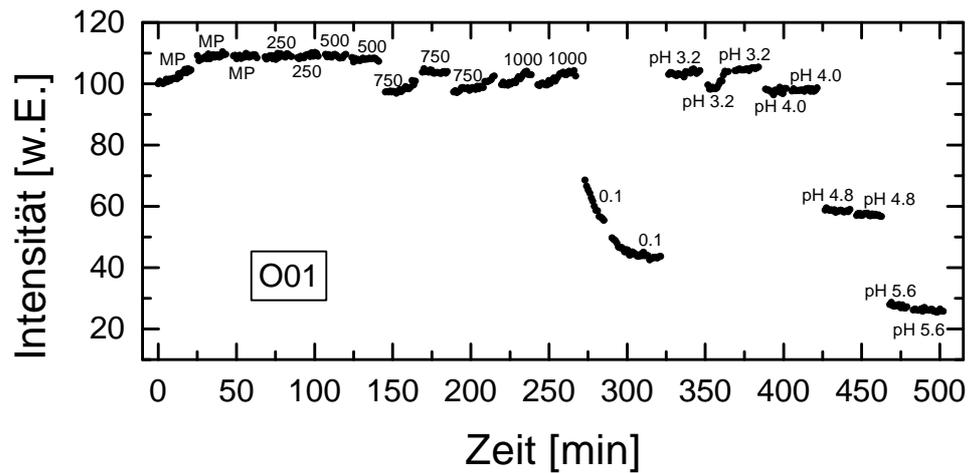


Abbildung 6-35 Übersicht über die Glucose- und pH-Messung mit einem pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogel.

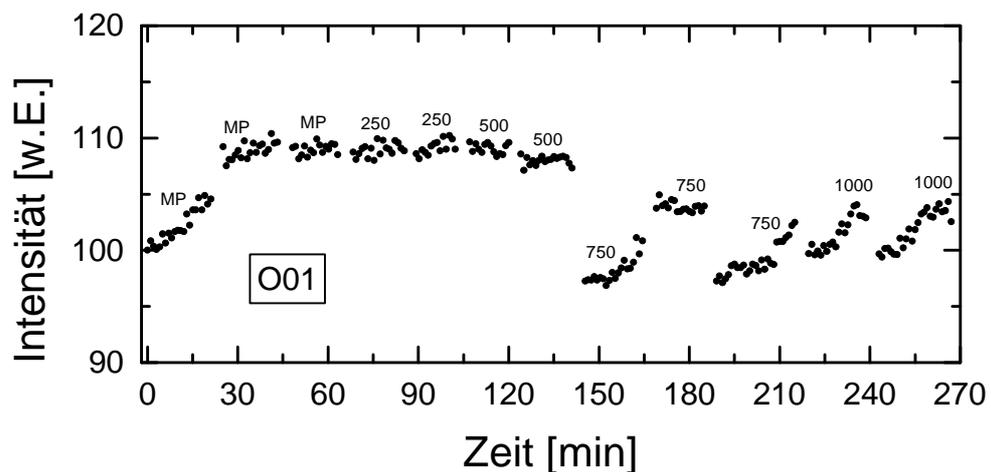


Abbildung 6-36 Ausschnitt aus der Messung. Zu sehen sind die Intensitätsänderungen der 1. Beugungsordnung gegenüber Glucoselösungen verschiedener Konzentrationen (mg Glucose / 100 ml Wasser). Diese pH-sensitive Probe zeigte nur eine geringe Abhängigkeit der Intensität von der Glucosekonzentration.

Die hier verwendete Probe basiert auf der Standard-Monomerlösung (Kapitel 3) und wurde komplett in der Glovebox unter Argon präpariert. Die anschließende Polymerisation wurde ebenfalls unter Argon im Schlenk-Rohr für eine Stunde mit einer Wellenlänge von 350 nm durchgeführt.

Im Verlauf der Präparation einiger Proben aus Monomerlösungen von pH- und glucose-sensitiven Hydrogelen zeigte sich, dass bei einer Präparation, die komplett unter Schutzgas durchgeführt wurde, die anschließende Polymerisation mit UV-Licht innerhalb einer Stunde erfolgen kann. Diese relativ kurze Polymerisationszeit kommt besonders den Enzymen entgegen.

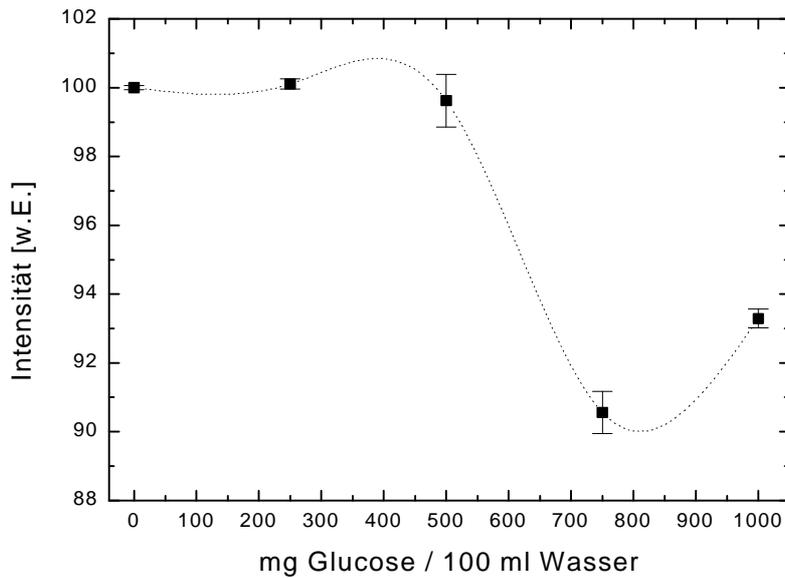


Abbildung 6-37 Dargestellt sind die Mittelwerte der Intensitäten aus den Glucose-Messwerten.

Diese Probe zeigt nur eine sehr geringe Empfindlichkeit gegenüber Glucose (Abbildung 6-36, Abbildung 6-37). Die Reaktion auf die anschließende pH-Messung (Abbildung 6-38) entspricht dagegen den bisherigen Messungen. Für diese Messung ergibt sich ein x_0 -Wert von 4.72 und ein z -Wert von 0.28 (Abbildung 6-39). Die Fehler waren vernachlässigbar klein.

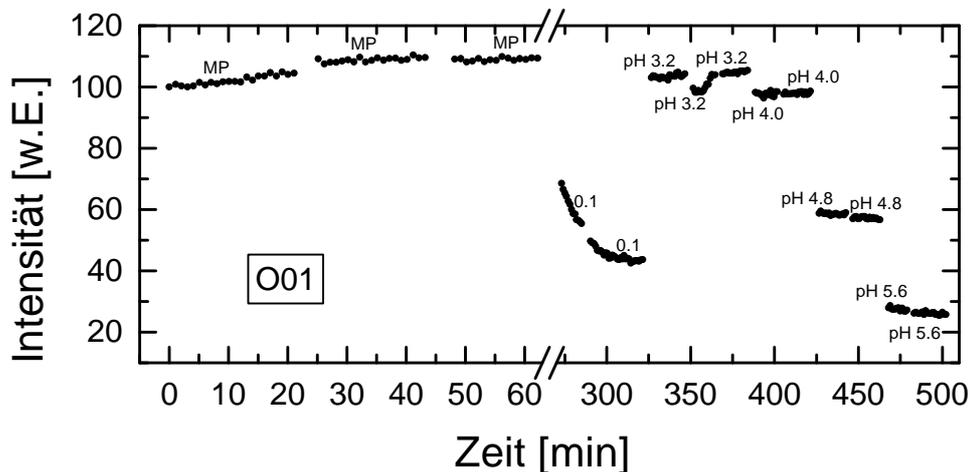


Abbildung 6-38 Dargestellt ist die Messung mit Lösungen verschiedener pH-Werte und konstanter Ionenstärke von 0.1 mol/l.

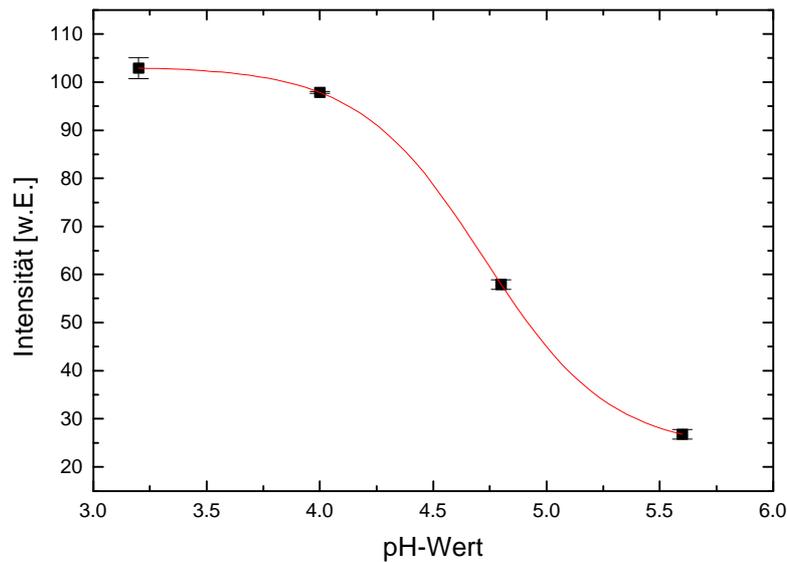


Abbildung 6-39 Intensitätsverlauf der pH-Messung, die im Anschluss an die Glucosemessung durchgeführt wurde.

6.7 Diskussion der Ergebnisse

Grundsätzlich muss zwischen den Messungen mit einem pH-sensitiven und einem glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogel unterschieden werden, da diese Gele aufgrund der unterschiedlichen Zusammensetzung der Monomerlösungen ein voneinander abweichendes Quellungsverhalten zeigen (Kapitel 5). So ist der maximal erreichbare Quellgrad eines mit Enzymen funktionalisierten P(MAA-g-EG)-Hydrogels größer als der eines reinen P(MAA-g-EG)-Hydrogels [7], was auf die verminderte Wechselwirkungen der einzelnen Kettensegmente zurückzuführen ist. Durch den Einbau der Enzyme wird die Ausbildung der Wasserstoffbrücken behindert, und der Grad der Komplexierung ist geringer.

Weiterhin unterscheiden sich die Strukturen eines pH-sensitiven und eines glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels qualitativ sehr deutlich. Dies ist ebenfalls auf die unterschiedliche Zusammensetzung der Monomerlösungen zurückzuführen. Durch die zugefügten Enzyme besitzt die Monomerlösung des glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels mehr den Charakter einer Suspension. Dies führt zu einer inhomogenen Verteilung der Struktur auf dem Substrat, was direkt in einer Verschlechterung des Beugungsbildes zu beobachten ist. Besonders deutlich wird die unterschiedliche Qualität der Strukturen im direkten Vergleich (Abbildung 6-40). Die verminderte Qualität der Strukturen des glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels führt insgesamt zur Abnahme der Anzahl der Beugungsreflexe.

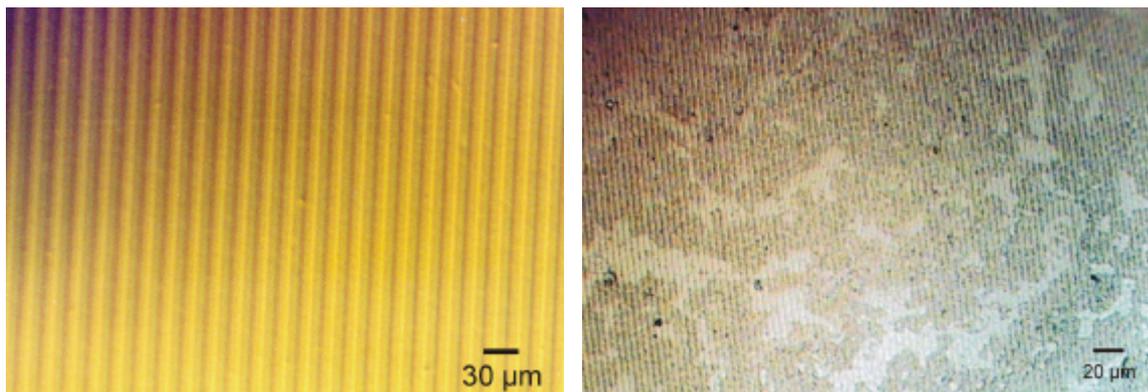


Abbildung 6-40 Die Strukturen eines pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels (links) und eines glucose-sensitiven Gels (rechts) im direkten Vergleich. Deutlich sind die Inhomogenitäten in der Struktur des enzymhaltigen Gels zu erkennen, die durch die grobdisperse Zusammensetzung der Monomerlösung verursacht werden. Derartige Unregelmäßigkeiten konnten bei Strukturen des pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels nicht beobachtet werden.

Messungen an pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogelen mit Natriumchloridlösungen unterschiedlicher Konzentration und Lösungen mit verschiedenen pH-Werten bei konstanter Ionenstärke liefern gut reproduzierbare Ergebnisse. Der Einfluss unterschiedlicher Polymerisationsbedingungen auf das Quellungsverhalten des Gels konnte mit der Beugungsapparatur nicht nachgewiesen werden.

Das eingesetzte pH-sensitive P(MAA-g-EG)-Hydrogel zeigt die größte Empfindlichkeit gegenüber Natriumchlorid im Konzentrationsbereich von 1×10^{-3} mol/l bis 1×10^{-2} mol/l. Ab einer Konzentration von 1×10^{-1} mol/l ist der Einfluss auf das Quellungsverhalten des Hydrogels vernachlässigbar gering. Dieses Ergebnis konnte durch Gleichgewichtsquellungsstudien an makroskopischen Gelproben bestätigt werden. Dies ist ein besonders wichtiges Ergebnis im Hinblick auf die Anwendung des Systems zum Nachweis von pH-Werten. Durch die Zugabe einer hinreichenden Menge Natriumchlorid wurde die Ionenstärke in den verschiedenen pH-Lösungen konstant auf 1×10^{-1} mol/l eingestellt. Dadurch kann ein durch Salz bedingter Einfluss auf das Quellungsverhalten vernachlässigt werden.

Der empfindlichste Bereich des Systems beim Nachweis verschiedener pH-Werte ergibt sich aus den pH-Messkurven und liegt in einem pH-Bereich von pH 4.0 bis pH 5.5. Innerhalb dieses Bereichs liegen auch die Wendepunkte der pH-Messkurven. Dies ist durch Gleichgewichtsquellungsstudien bestätigt worden [7, Kapitel 5]. Ein Sensorsystem, das seine größte Empfindlichkeit in einem anderen pH-Bereich besitzt, müsste aus Monomeren mit einem von der Methacrylsäure abweichenden pK_a -Wert hergestellt werden. Die Nachweisgrenze des Systems lässt sich aus den Messungen mit ca. 0.1 pH-Einheiten abschätzen. Somit reicht das System an gängige pH-Streifen heran,

auch wenn es diese Empfindlichkeit nicht über den gesamten pH-Bereich von 1-14 erbringt.

Der Nachweis der Glucose konnte mit dem hier vorgestellten System ebenfalls erbracht werden, auch wenn noch deutliche Abstriche bezüglich der Empfindlichkeit und Reproduzierbarkeit zu machen sind. Bei allen Glucose-Messungen konnte ein uneinheitlicher Intensitätsverlauf beobachtet werden, der bisher nicht reproduziert werden konnte. Die Ursache für diesen uneinheitlichen Verlauf der Intensität kann in der – im Vergleich zu den pH-sensitiven Gelen – schlechteren Qualität der Struktur des glucose-sensitiven Hydrogelgitters liegen (Abbildung 6-40).

Aus den bisher vorliegenden Daten lässt sich nur eine vorläufige Schlussfolgerung ziehen. Die Reaktion des pH-sensitiven Gels auf Glucose lässt sich durch osmotische Effekte erklären, die durch einen Konzentrationsgradienten zwischen der umgebenden glucosehaltigen Lösung und dem Gelinneren hervorgerufen werden. Wenngleich man erwarten sollte, dass diese Reaktion in allen Messungen zu beobachten sein sollte. Dies konnte hier jedoch nicht bestätigt werden. Weitere Untersuchungen sind dazu notwendig. Das glucose-sensitive Gel zeigte in der Regel eine stärkere Reaktion auf die Glucose als das pH-sensitive Gel. Diesen Effekt erwartet man aufgrund der Reaktion der Enzyme. Hinzu kommen die unterschiedlichen Quellungseigenschaften der beiden Gele. Ein Nachweis der Funktionsfähigkeit der im Gel immobilisierten Enzyme lieferte die Messung einer pH-Wert Änderung an einer Glucoselösung, in die ein Gelstück eines glucose-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels eingelegt wurde. Über einen Zeitraum von 20 Minuten änderte sich der pH-Wert der Glucoselösung von pH 7.0 auf pH 4.4. Diese pH-Wert Änderung konnte mit Gelstücken des pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels nicht beobachtet werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass durch alle Messungen hindurch Gemeinsamkeiten zu erkennen sind:

1. Die Reaktion und Gleichgewichtseinstellung eines mikrostrukturierten Hydrogels auf die Änderung der Natriumchloridkonzentration oder des pH-Werts erfolgt deutlich schneller als die von makroskopischen Gelproben.
2. Die deutlichsten Intensitätsänderungen ergeben sich in der Regel in der 1., 2. und 3. Beugungsordnung.
3. Die Änderungen, die ein auf einem Substrat immobilisiertes, mikrostrukturiertes Hydrogel in seinem Quellungsverhalten zeigt, sind vergleichbar mit denen makroskopischer Gelproben gleicher Zusammensetzung.
4. Im Verlauf aufeinanderfolgender Messungen zeigen die P(MAA-g-EG)-Hydrogele eine abnehmende Quellungsdynamik. Dieses Verhalten ist reversibel und lässt sich durch das gründliche Spülen mit MP-Wasser rückgängig machen. Zurückzuführen kann dieses Verhalten möglicherweise auf eine Kumulation von Salz im Gelinneren sein. Von der verminderten Quellungsdynamik ist die Empfindlichkeit auf Natriumchlorid und den pH-Wert betroffen.

5. Die Reversibilität des Systems konnte in vielen Messungen reproduziert werden. Lediglich der bereits erwähnte Salzeffekt vermindert die Empfindlichkeit des Systems.
6. Drastische pH-Änderungen in den basischen Bereich (bis pH 11) führen bei dem P(MAA-*g*-EG)-Hydrogel zu einem besonders starken Aufquellen. Dadurch wird die Geschwindigkeit, mit der Salz ins Gel aufgenommen wird, drastisch erhöht. Außerdem wird durch dieses „Superquellen“ das Gel in seiner peripheren Form zerstört. Dieser Effekt konnte in den Gleichgewichtsquellstudien schon bei einem pH-Wert von 7 beobachtet werden.
7. Die Ergebnisse von dynamischen und statischen Messungen entsprechen sich. Nach Möglichkeit sind die dynamischen Messungen den statischen Messungen aber vorzuziehen, da durch den Wechsel der Messlösungen immer Luftblasen in das System eingebracht werden können, durch die Messungen unbrauchbar werden.
8. Die in den Gelen immobilisierten Enzyme neigen dazu, nach wenigen Tagen ihre Aktivität zu verlieren. Um gute und reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen, sollten daher die Enzym-Monomerlösungen nach der Herstellung unmittelbar eingesetzt werden.

6.8 Literaturverzeichnis

- [1] J. SCHUMACHER, *Dissertation*, Universität Heidelberg (2001).
- [2] F. MORHARD, *Dissertation*, Universität Heidelberg (1999).
- [3] T. WILHELM, *Diplomarbeit*, Universität Heidelberg (1997).
- [4] E. HECHT, *Optik*, Addison-Wesley, 3. korr. Nachdruck, Bonn (1994).
- [5] BERGMANN UND SCHÄFER, *Optik III*, Walter de Gruyter, Berlin (1997).
- [6] H. VOGEL, *Gerthsen Physik*, Springer-Verlag, 18. Auflage, Berlin (1995).
- [7] C. M. HASSAN, F. J. DOYLE III, AND N. A. PEPPAS, *Macromolecules* **30**, 6166-6173 (1997).
- [8] M. TORRES-LUGO AND N. A. PEPPAS, *Macromolecules* **32**, 6646-6651 (1999).

7 Zusammenfassung und Ausblick

Die vorliegende Arbeit beschreibt die Entwicklung eines pH- und Glucose-Sensors auf der Basis mikrostrukturierter Hydrogele und beugungsoptischer Methoden.

Das beugungsoptische Sensorprinzip wurde bereits vorgestellt [1-3]. Die technische Weiterentwicklung der Beugungsapparatur sowie deren Anwendbarkeit in der Flüssigkeitsanalytik und als Gasphasensensor zum Nachweis von Lösungsmitteldämpfen stellte SCHUMACHER [4] vor. Die Anwendung des Prinzips zum Nachweis von Mikroorganismen konnte ebenfalls bereits demonstriert werden [5, 6].

Die Funktionsweise des beugungsoptischen Sensors beruht auf der Wechselwirkung eines einfallenden Laserstrahls mit der im Mikrometermaßstab strukturierten Hydrogelmatrix. Durch die Beugung des Laserlichts an dem mikrostrukturierten Hydrogel entstehen mehrere Beugungsreflexe (Abbildung 7-1). Gemessen wird jeweils die Änderung der Intensitätsverteilung des gebeugten Laserlichts, die durch die Änderung des Quellungszustandes der Hydrogelmatrix hervorgerufen wird.



Abbildung 7-1 Beugungsreflexe, die durch die Wechselwirkung eines Laserstrahls mit einer in Linien strukturierten Hydrogelmatrix entstehen. Das Beugungsbild ist spiegelsymmetrisch zur 0. Beugungsordnung (0. BO). Die Intensitätsänderung des gebeugten Laserlichts wird nur in den abgebildeten Beugungsordnungen verfolgt.

Das Hauptaugenmerk bei der Entwicklung des pH- und Glucose-Sensors lag auf der Strukturierung und Immobilisierung einer geeigneten Hydrogelsensormatrix. Im hier vorgestellten beugungsoptischen Sensor wurde ein Copolymernetzwerk aus Poly(methacrylsäure) und Poly(ethylenglykol) verwendet [7]. Dieses P(MAA-g-EG)-Hydrogel reagiert reversibel mit einer Änderung seines Quellungszustandes auf die Änderung des pH-Werts und die Salzkonzentration des umgebenden Mediums.

Durch die Funktionalisierung des pH-sensitiven Hydrogels mit den Enzymen Glucoseoxidase und Katalase wird eine Selektivität gegenüber Glucose erreicht, die letzt-

lich auf eine Änderung des pH-Werts zurückzuführen ist. Diese Änderung des pH-Werts ist auf die Oxidation der Glucose durch die Glucoseoxidase zur Gluconsäure zurückzuführen (7.1). Der Sauerstoff, der dazu notwendig ist, wird durch das zweite Enzym, die Katalase, aus dem Abbau des Wasserstoffperoxids zur Verfügung gestellt (7.2).



Zur Charakterisierung des P(MAA-g-EG)-Hydrogels wurden umfangreiche Gleichgewichtsquellungsexperimente durchgeführt. Das Quellungsverhalten wurde in Natriumchloridlösungen im Konzentrationsbereich 1×10^{-3} mol/l bis 1×10^{-1} mol/l und mit Lösungen konstanter Ionenstärke bei sechs verschiedenen pH-Werten im Bereich pH 3.2 bis pH 7.3 untersucht.

Zur Anwendung im beugungsoptischen Sensor muss das Hydrogel im Mikrometermaßstab strukturiert werden (Abbildung 7-2). Dazu wird die Methode des Mikroformen in Kapillaren (micromolding in capillaries, MIMIC) [8] verwendet.

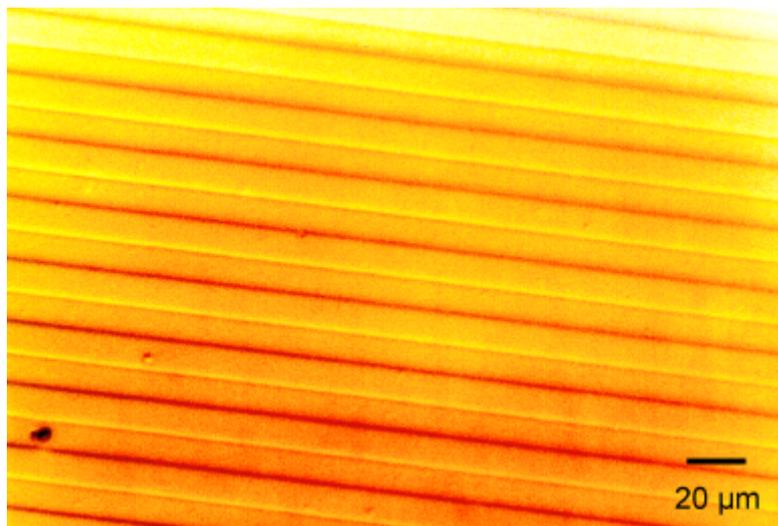


Abbildung 7-2 Dies ist die Mikrostruktur eines pH-sensitiven P(MAA-g-EG)-Hydrogels, die im Sensor eingesetzt wurde. Die Dicke der Gelbalken beträgt $10 \mu\text{m}$, der Mittenabstand ist $20 \mu\text{m}$.

Durch Funktionalisierung der Substratoberfläche mit einem Silan, das eine terminale Doppelbindung trägt [4], oder durch die Ankopplung eines geeigneten Azoinitiators [9-12] wurden die mikrostrukturierten Hydrogele im Verlauf des Polymerisationsprozesses kovalent mit der Substratoberfläche verbunden. Dies war notwendig, da die Hydrogele sich beim ersten Kontakt mit einer Flüssigkeit sofort von einem unbehandelten Substrat ablösten. Nachdem das Hydrogel auf einem Substrat immobilisiert war, konnte die Probe über einen Zeitraum von mehreren Wochen bis hin zu einigen Monaten in Wasser gelagert werden, ohne dass sich die Strukturen ablösten (Abbildung 7-3).

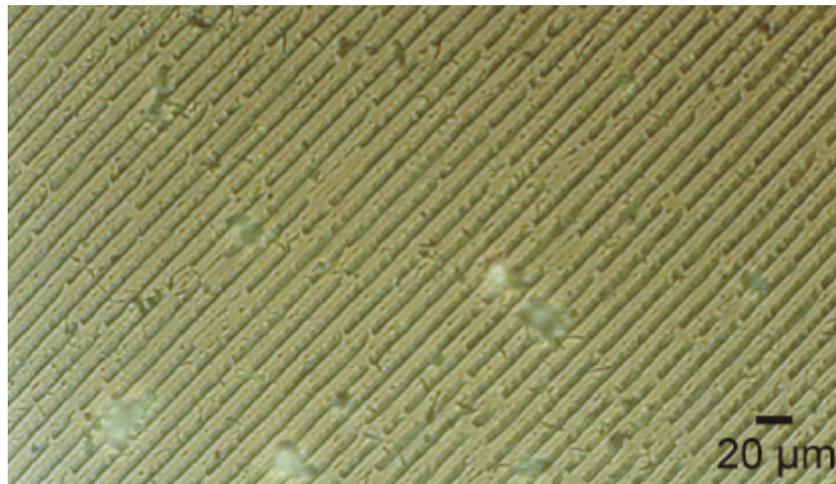


Abbildung 7-3 Dies ist die Mikrostruktur eines Hydrogels, das über einen Zeitraum von sechs Monaten in MP-Wasser eingelegt war. Das Substrat wurde zuvor mit 3-(Trimethoxysilyl)propyl methacrylat beschichtet. Die Struktur ist auch nach dieser langen Zeit noch überwiegend intakt.

Die Methode von PRUCKER UND RÜHE [11, 12] zum kovalenten Ankoppeln von Polymeren im *grafting from* Prozess wurde auf die Hydrogele mit Erfolg angewendet. Zur Untersuchung des Haftverhaltens von P(MAA-g-EG)-Hydrogelen, die nach dieser Methode kovalent mit Glassubstraten verbunden waren, wurden Schermessungen durchgeführt.

Die größten Schwierigkeiten im Verlauf der Präparation bereitet die Strukturierung der Proben. Diesbezüglich wurde die Zusammensetzung der Monomerlösung des pH-sensitiven Gels, die bei HASSAN *et al.* [7] angegeben ist, an die Bedürfnisse der Strukturierungsmethode angepasst, indem der Ethanolanteil in der Monomerlösung verringert wurde. Bei der Monomerlösung des glucose-sensitiven Gels stand die Optimierung bezüglich der Empfindlichkeit gegenüber Glucose im Vordergrund. Aus diesem Grund wurde der Ethanolanteil in der Monomerlösung verringert und die Menge der hinzugefügten Enzyme erhöht. Dies führte insgesamt zu einer Monomerlösung, die sich mit der

Methode des Mikroformen in Kapillaren mit unmodifizierten Stempeln nur schlecht strukturieren ließ. Für zukünftige Arbeiten steht in diesem Zusammenhang eine Optimierung des Stempelmaterials an. Durch Modifikation der Zusammensetzung des Stempelmaterials oder mit einer Oberflächenmodifikation durch eine Plasma-Behandlung [13] können die Eigenschaften des Stempels verändert werden.

Die Ergebnisse aus Gleichgewichtsquellungsstudien an makroskopischen Gelproben und aus den beugungsoptischen Messungen an pH-sensitiven P(MAA-*g*-EG)-Hydrogelen, die mit verschiedenen Natriumchloridlösungen im Konzentrationsbereich von 1×10^{-3} mol/l bis 1×10^{-1} mol/l durchgeführt wurden, zeigen, dass der Einfluss auf das Quellungsverhalten des Hydrogels bei einer Salzkonzentration von 1×10^{-1} mol/l vernachlässigbar gering ist. Demzufolge wurde durch die Zugabe von einer hinreichenden Menge Natriumchlorid die Ionenstärke aller pH-Messlösungen auf 1×10^{-1} mol/l eingestellt, um den Einfluss verschiedener pH-Werte auf das Quellungsverhalten unabhängig von der Ionenstärke untersuchen zu können.

Gleichgewichtsquellungsexperimente an makroskopischen Gelproben und beugungsoptische Messungen an pH-sensitiven P(MAA-*g*-EG)-Hydrogelen ergeben auch bei den Messungen mit Lösungen verschiedener pH-Werte miteinander vergleichbare Ergebnisse. Der pH-Bereich, in dem die Gele am empfindlichsten auf minimale pH-Wert Änderungen reagieren, ist gekennzeichnet durch die ausgeprägtesten Änderungen ihres Quellungszustandes. Dieser Bereich erstreckt sich von pH 4.0 bis pH 5.5.

Der Nachweis der Glucose konnte mit dem hier vorgestellten System ebenfalls erbracht werden, auch wenn noch deutliche Abstriche bezüglich der Empfindlichkeit und Reproduzierbarkeit zu machen sind.

Eine Steigerung der Empfindlichkeit des Systems beim Glucosenachweis kann durch die Anpassung der pH-sensitiven Hydrogelmatrix erreicht werden. Das pH-sensitive P(MAA-*g*-EG)-Hydrogel reagiert am empfindlichsten in einem pH-Bereich zwischen pH 4.0 bis pH 5.5. Somit ist diese Gelmatrix zum Nachweis minimaler pH-Wert Änderungen, die durch die enzymatische Aktivität des glucose-sensitiven Hydrogels in wässrigen Glucoselösungen hervorgerufen werden, nicht geeignet. Eine Gelmatrix, die ideal an diese Bedürfnisse angepasst wäre, würde im neutralen Bereich (um pH 7) am empfindlichsten auf pH-Wert Änderungen reagieren.

Ein solches pH-sensitives Hydrogel wurde von PODUAL *et al.* [14] vorgestellt. Es handelt sich um ein Copolymer aus Poly(diethylaminoethylmethacrylat) und Poly(ethylenglykol), welches ein pH-abhängiges Quellungsverhalten zeigt. Dieses P(DEAEM-*g*-EG)-Hydrogel reagiert im pH-Bereich um pH 7 mit einer starken Änderung seines Quellungsgrades auf pH-Wert Änderungen.

Ein weiteres wichtiges Kriterium, das zur Steigerung der Empfindlichkeit beim Glucosenachweis beitragen kann, ist die Verminderung der Flüssigkeitsmenge, die sich auf der Sensormatrix befindet. Wenn durch die enzymatische Aktivität des glucose-sensitiven Hydrogels der pH-Wert in der Messlösung verändert wird, so wird diese umso deutlicher ausfallen, je weniger Flüssigkeit sich im System befindet.

Des Weiteren kann auch die Ansprechzeit und Empfindlichkeit des Sensors, beispielsweise durch eine Vergrößerung der Oberfläche der Sensormatrix, noch verbessert werden. Dies kann durch eine Abänderung der Strukturierungsmethode erfolgen. Anstelle einer Monomerlösung kann eine Suspension von Gel-Mikrokügelchen mit der Methode des Mikroformen in Kapillaren [8, 15] strukturiert werden. Nach erfolgter Strukturierung können diese Gel-Mikropartikel durch Nachpolymerisieren untereinander und mit dem Substrat verbunden werden. Damit ergibt sich eine größere Oberfläche und damit eine schnellere und empfindlichere Sensormatrix.

Ein anderer Weg, bei dem die Optimierung der Monomerlösung zur Verbesserung der Ergebnisse des Strukturierens nicht notwendig ist, kann mit der Anwendung eines Tintenstrahldruckers beschriftet werden. Die Durchführbarkeit dieser Methode wurde bereits demonstriert [16]. Durch die Anwendung moderner Tintenstrahl-drucktechnologie mit einer Auflösung von bis zu 2880 Punkten pro inch (das entspricht einem Durchmesser von 8.82 μm pro Tropfen) und einem Tropfenvolumen von 3 pl [17] sollte es möglich sein, Strukturen herzustellen, die in der Beugungsapparatur verwendet werden können. Mit dieser Methode lassen sich schnell und flexibel beliebige Formen und Strukturen erzeugen, ohne vorher die entsprechenden Masken und Stempel anfertigen zu müssen. Damit ließen sich bei Bedarf auch größere Flächen strukturieren, als dies mit anderen Methoden möglich ist. Diese neue und flexiblere Art der Strukturierung einer Polymermatrix kann im Zusammenhang mit der Beugungsapparatur als Methode zur Charakterisierung von Hydrogelen und anderen Polymernetzwerken eingesetzt werden.

In diesem Zusammenhang wird das Potenzial der Beugungsapparatur nicht nur zur Anwendung als Sensorsystem, sondern vielmehr zur schnellen und einfachen Charakterisierung und Untersuchung des Reaktionsvermögens von Hydrogelen und anderen Polymernetzwerken auf äußere Reize deutlich. In Verbindung mit der Mikrostrukturierung der Polymermatrix zur Anwendung in der Beugungsapparatur ist eine schnelle Reaktion und Gleichgewichtseinstellung möglich. Damit können Polymere, die zur kontrollierten Medikamentenfreisetzung [18] angewendet werden sollen, ebenso untersucht werden wie Materialien, die auf chemische oder elektrische Reize hin reagieren und somit zum Aufbau mechanischer Bauelemente bzw. künstlicher Muskeln verwendet werden sollen [19]. Des Weiteren können Einflüsse auf das Reaktionsvermögen eines Polymers, bei denen Parameter der Zusammensetzung einer Monomerlösung variiert werden, in Abhängigkeit von der Änderung verschiedener äußerer Umgebungsbedingungen, wie z.B. der Salzkonzentration, der Lösungsmittelzusammensetzung, des pH-Werts oder elektri-

scher Felder untersucht werden. Denkbar wäre auch die Untersuchung der Wasseraufnahmekapazität von superabsorbierenden Materialien unter Druck.

7.1 Literaturverzeichnis

- [1] A. LENENBACH, *Diplomarbeit*, Universität Heidelberg (1996).
- [2] T. WILHELM, *Diplomarbeit*, Universität Heidelberg (1997).
- [3] F. MORHARD, J. SCHUMACHER, A. LENENBACH, T. WILHELM, R. DAHINT, M. GRUNZE, AND D. S. EVERHART, *Electrochemical Society Proceedings* **97-19**, 1058-1065 (1997).
- [4] J. SCHUMACHER, *Dissertation*, Universität Heidelberg (2001).
- [5] F. MORHARD, *Dissertation*, Universität Heidelberg (1999).
- [6] F. MORHARD, J. PIPPER, R. DAHINT, AND M. GRUNZE, *Sensors and Actuators B* **70**, 232-242 (2000).
- [7] C. M. HASSAN, F. J. DOYLE III, AND N. A. PEPPAS, *Macromolecules* **30**, 6166-6173 (1997).
- [8] E. KIM, Y. XIA, AND G. M. WHITESIDES, *Nature* **376**, 581-584 (1995).
- [9] O. PRUCKER AND J. RÜHE, *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* **304**, 167-172 (1993).
- [10] O. PRUCKER, *Dissertation*, Universität Bayreuth (1995).
- [11] O. PRUCKER AND J. RÜHE, *Macromolecules* **31**, 592-601 (1998).
- [12] O. PRUCKER AND J. RÜHE, *Macromolecules* **31**, 602-613 (1998).
- [13] M. K. CHAUDHURY AND G. M. WHITESIDES, *Langmuir* **7**, 1013-1025 (1991).
- [14] K. PODUAL, F. J. DOYLE III, AND N. A. PEPPAS, *J. Control. Release* **67**, 9-17 (2000).
- [15] Y. XIA UND G. M. WHITESIDES, *Angew. Chem.* **110**, 568-594 (1998).
- [16] T. R. HEBNER, C. C. WU, D. MARCY, M. H. LU, AND J. C. STURM, *Appl. Phys. Lett.* **72** (5), 519-521 (1998).

- [17] <http://www.epson.de>
- [18] A. M. LOWMAN, M. MORISHITA, M. KAJITA, T. NAGAI, AND N. A. PEPPAS, *J. Pharm. Sci.* **88** (9), 933-937 (1999).
- [19] Y. OSADA UND S. B. ROSS-MURPHY, *Spektr. d. Wiss.* **10**, 84-89 (1993).

8 Anhang

8.1 Abkürzungen

ADS	Azodisilan, 4,4'-Azobis-(4-cyanopentansäure-(3"-chlordimethylsilyl)propylester)
AIBN	2,2'-Azobis-(isobutyronitril)
BO	Beugungsordnung
EG	Ethylenglykol
MAA	Methacrylsäure
MIMIC	Mikroformen in Kapillaren, micromolding in capillaries
μ CP	Mikrokontakt-Drucken, microcontact printing
μ TM	Mikrotransferformen, microtransfer molding,
PAA	Poly(acrylamid)
P(DEAEM- <i>g</i> -EG)	Copolymernetzwerk aus Poly(diethylaminoethylmethacrylat) und aufgepfropften (<i>grafted</i>) Poly(ethylenglykol)-Einheiten
PDMS	Poly(dimethylsiloxan)
PEG	Poly(ethylenglycol)
PMAA	Poly(methacrylsäure)
P(MAA- <i>g</i> -EG)	Copolymernetzwerk aus Poly(methacrylsäure) und aufgepfropften (<i>grafted</i>) Poly(ethylenglykol)-Einheiten
REM	Replikatformen, replica molding
SAMIM	lösungsmittelunterstütztes Mikroformen, solvent-assisted micromolding,

Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei Prof. Dr. MICHAEL GRUNZE für die interessante Themenstellung und die gewährten Freiheiten in der Bearbeitung des Themas bedanken. Des Weiteren gilt mein Dank Priv. Doz. Dr. REINER DAHINT, dessen Ruhe, Geduld und Übersicht wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Für die Übernahme des Zweitgutachtens bedanke ich mich recht herzlich bei Prof. Dr. RÜDIGER N. LICHTENTHALER.

Weiterhin danke ich Dr. JÜRGEN PIPPER, der mir in zahlreichen Diskussionen immer wieder neue Sichtweisen und Optionen dargelegt hat und mit seiner immer wieder gerne benutzten Anmerkung: „Also ich würde das ganz anders machen...“ viele Steine ins Rollen gebracht hat.

Für die Einweisung in die Beugungsapparatur und die Auswerteroutinen danke ich Dipl. Phys. JÜRGEN SCHUMACHER.

Für die hilfreiche Unterstützung bei Fragen und Problemen in allen Bereichen der Polymere möchte ich mich bei Prof. Dr. JÜRGEN RÜHE und Dr. OSWALD PRUCKER vom Institut für Mikrosystemtechnik der Albert Ludwigs Universität in Freiburg und bei Dr. MARKUS BIESALSKI, University of California, Santa Barbara, bedanken. Für die freundliche Aufnahme während meiner beiden Aufenthalte am Max-Planck-Institut für Polymerforschung danke ich der gesamten Mainzer Truppe.

Des Weiteren danke ich Prof. Dr. TADEUSZ PAKULA, CHRISTINE HERRMANN und ANDREAS BEST vom MPI für Polymerforschung in Mainz für die Unterstützung bei den mechanischen Messungen.

Mein Dank gilt auch den Mitarbeitern der Werkstätten am Institut für Angewandte Physikalische Chemie. Besonders Herrn KLAUS ERHARDT und Herrn HANS WOLFBEISZ möchte ich für ihre schnelle und unbürokratische Hilfe danken.

In diesem Zusammenhang danke ich auch Frau EDELTRAUD BOCZEK und Frau INGE CORRE, die mir in Verwaltungsfragen immer hilfreich zur Seite gestanden haben.

Der Sensorikgruppe: FRIEDERIKE MORHARD, CLAUDIA GRIES, EBIL-LUN GELEN, ULRIKE MOCK, JÜRGEN SCHUMACHER, JÜRGEN PIPPER, TOMOHIRO HAYASHI, DIRK SCHWENDEL, JENS ULMER, JULIAN EDLER, PHILIPP HARDER UND REINER DAHINT danke ich für das angenehme Arbeitsklima.

Weiterhin danke ich DIETER, THOMAS, GERHARD, MICHAEL und MARINA für viele schöne Trainingsstunden, die mir wieder einen klaren Kopf verschafften.

Meinem Vater ALBERT RANFT danke ich für die Unterstützung während meiner gesamten Ausbildung . . .

. . . und meiner Frau DANIELA für ihre unermüdliche Unterstützung, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertation selbst verfasst und mich dabei keiner anderen als der von mir bezeichneten Quellen und Hilfsmittel bedient habe. Ich habe an keiner anderen Stelle ein Prüfungsverfahren beantragt oder die Dissertation in dieser oder anderer Form bereits anderweitig als Prüfungsarbeit verwendet oder einer anderen Fakultät als Dissertation vorgelegt.

Heidelberg, den 12. Mai 2001
