

### **pH-Messung mit hoher lateraler Auflösung zur Visualisierung von pH-Modulationen auf Sensoroberflächen mittels SECM**

Sascha Belger, Albert Schulte, Wolfgang Schuhmann

Analytische Chemie – Elektroanalytik & Sensorik,

Ruhr-Universität Bochum, Universitätsstr. 150, D-44780 Bochum

Tel. (0234) 32-28202

[sascha.belger@ruhr-uni-bochum.de](mailto:sascha.belger@ruhr-uni-bochum.de)

Registriernummer der Online-Anmeldung: 145

#### **Poster**

---

Neben amperometrischen Biosensoren wurden insbesondere Sensoren beschrieben, bei denen eine als Folge einer biologischen Erkennungsreaktion erfolgende lokale Änderung des pH-Wertes als Meßsignal genutzt wird, wobei entweder konventionelle pH-Glaselektroden oder ISFETs als Transducer Anwendung finden<sup>[1]</sup>. Allerdings erhält man so lediglich ein integrales Signal, das über die gesamten immobilisierten aktiven biologischen Erkennungselemente mittelt und nach geeigneter Kalibrierung Auskunft über die Konzentration des entsprechenden Substrates liefert. Die Detektion lokaler Modulationen des pH-Wertes kann demgegenüber zum einen Einblicke in die Homogenität des Immobilisates bzw. die lokale Verteilung der biologischen Aktivität bieten oder zum anderen zum Auslesen der Information von Multisensorarrays dienen.

Um nun eine Ortsinformation von biokatalytisch induzierten pH-Modulationen zu erhalten, werden miniaturisierte pH-Sonden benötigt, wobei die erzielbare Ortsauflösung direkt mit der Sondengröße korreliert. Darüber hinaus müssen apparative Möglichkeiten geschaffen werden, solche pH-Sonden mit hoher Reproduzierbarkeit in einem definierten Abstand zu der zu untersuchenden Probenoberfläche zu positionieren, da als Folge von Diffusionsprozessen und Abfangreaktionen im Elektrolyt die  $H^+$ -Aktivität vom Abstand zur Probe abhängig ist<sup>[2]</sup>. Somit ergeben pH-Messungen bei nicht konstantem Abstand eine Faltung zwischen tatsächlicher  $H^+$ -Aktivität und dem Abstand zwischen Probe und Sonde wieder, so daß eine eindeutige Messung nicht möglich ist.

In früheren Arbeiten wurde die Positionierung nadelförmiger Sondenspitzen über Oberflächen mittels eines Scherkraft-abhängigen Regelkreises in einem elektrochemischen Rastermikroskop (SECM) etabliert<sup>[3]</sup> und für die lokale Abscheidung leitender Polymermikrostrukturen<sup>[4]</sup>, der Positionierung von Enzymkapillaren<sup>[5]</sup> sowie von Carbonfaserelektroden über Nervenzellen<sup>[6]</sup> angewandt. Als Voraus-

setzung für die Verwendung dieses Scherkraft-abhängigen Positioniermodus, in dem die Sonde zur Resonanzschwingung mittels eines Piezoaktors angeregt wird, muß die nadelförmige Sonde über ein speziell angepaßtes Design hinsichtlich der Vibrationseigenschaften und Steifigkeit verfügen.

Miniaturisierbare pH-Sonden auf der Basis von Metall/Metalloxid- und Metalloxid-Elektroden einiger Übergangsmetalle sind schon seit längerem bekannt<sup>[7]</sup>. Einige von diesen zeigen infolge eines "Super-Nernst-Verhalten" eine erhöhte Sensitivität und sind somit besonders zur Detektion kleiner pH-Wert Veränderungen von großem Vorteil. Kürzlich wurden pH-Mikrosensoren beschrieben, die durch Deposition von Übergangsmetalloxiden (wie z.B. Iridiumoxid) auf Carbonfasern hergestellt wurden<sup>[8]</sup>. Auf der Basis dieser Technologie wurden nun Carbonfasern mit einem Durchmesser von 7.5 µm mit Iridiumoxid beschichtet, durch Integration in eine ausgezogene Glaskapillare hinsichtlich der Schwingfähigkeit optimiert und im SECM mit Scherkraft-abhängiger Höhenkontrolle eingesetzt. Eine solche pH-sensitive Elektrode ist in Abbildung 1 dargestellt.



Abb. 1: 7,5 µm Carbonfaser in einer ausgezogenen Glaskapillare; die Spitze ist mit anodischem Elektrotauchlack isoliert.

Die Carbonfaser wird mit einem Elektrotauchlack isoliert, und mittels eines Skalpell wird die aktive Scheibenoberfläche freigelegt, die dann mit Iridiumoxid modifiziert wird. Die Carbonfaser ragt aus der Glasummantelung heraus, so daß die Eigenfrequenz der Faser eingestellt werden kann. Eine Kalibrierkurve eines solchen Sensors zeigt Abbildung 2.

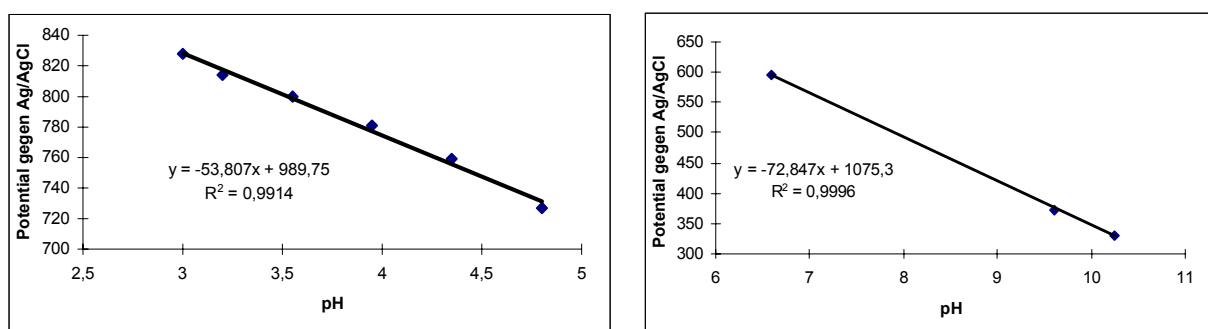


Abb. 2: Abhängigkeit des Elektrodenpotentials von pH-Wert einer IrO-modifizierten Carbonfaserspitze.

Es gelang nun, diese Elektroden mit Hilfe des Scherkraft-abhängigen Positioniermodus an eine Probenoberfläche anzunähern und die Oberfläche abzurastern. Dabei folgt die Elektrodenspitze der Topographie der Struktur (Abb. 3).

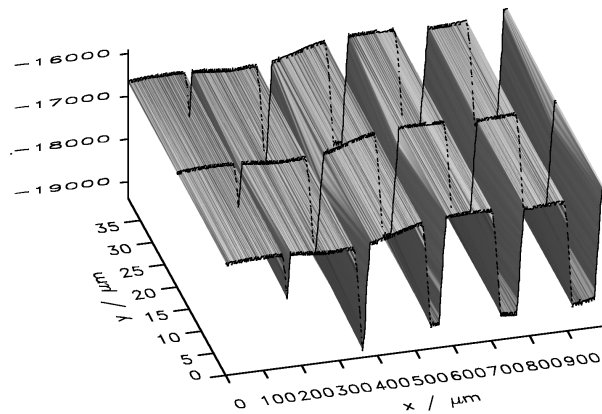


Abb. 3: Topographisches Bild einer Si-Teststruktur durch Scherkraft-abhängige rückgekoppelte Repositionierung einer IrO-modifizierte Mikro-pH-Sonde.

Damit ist es möglich, pH-Modulationen mit guter Auflösung sowohl an planaren wie dreidimensional strukturierten Oberflächen zu detektieren. In Abbildung 4 ist beispielhaft das pH-Abbild eine Pt-Mikroelektrode gezeigt, an der elektrochemisch durch Wasserzersetzung der pH-Wert geändert wird. Das Diffusionsfeld der generierten OH<sup>-</sup>-Ionen wird abgebildet.

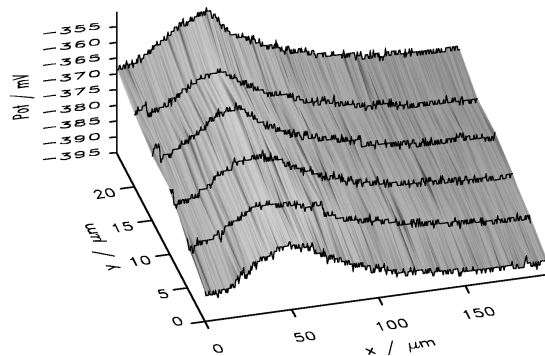
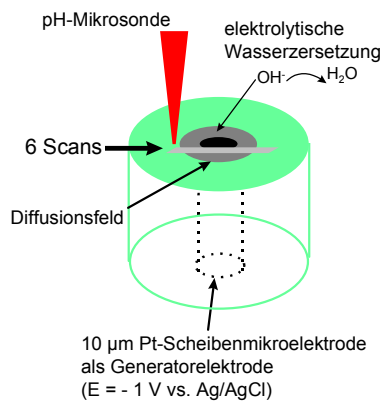


Abb. 3: Links: Schematische Darstellung des Abrastern einer 10 µm Pt-Elektrode unter elektrochemischer Reduktion von H<sub>2</sub>O. Rechts: Potential an der pH-Sonde aufgetragen über die Sondenposition.

Auf dem Poster werden neben den vorstehenden Ergebnissen zur Herstellung und Positionierung von nadelförmigen pH-Mikrosonden im SECM die lokale Abbildung von Enzymmikrostrukturen vorgestellt. Am Beispiel von mittels eines Nanodispensers abgeschiedenen Polymerstrukturen mit eingeschlossener Glucoseoxidase wird das Potential der lokalen Abbildung von pH-Wertänderungen für die Untersuchung von Biosensoren und Sensorarrays diskutiert.

### Literatur

- [1] Koncki, R., Leszczynska, E., Cybulska, A. Glab, S., *Anal. Chim. Acta* **321** (1996) 27-34
- [2] Klusmann, E., Schultze, J. W., *Electrochim. Acta* **42** (1997) 20-22
- [3] Ludwig, M., Kranz, C., Schuhmann, W., Gaub, H.E., *Rev. Sci. Instr.* **66** (1995) 2857-2860.
- [4] Kranz, C., Gaub, H.E., Schuhmann, W., *Adv. Mater.* **8** (1996) 634-637.

- [5] Hengstenberg, A., Kranz, C., Schuhmann, W., *Chemistry - A European Journal* **6** (2000) 1547-1554.
- [6] a) Hengstenberg, A., Dietzel, I. D., Blöchl, A. and Schuhmann, W., *BIOforum Forschung und Entwicklung*, **22** (1999) 595-599. b) Hengstenberg, A., Dietzel, I. D., Blöchl, A. Schuhmann, W., *Angew. Chem.* (2001) im Druck.
- [7] Glab, S., Hulanicki, A., Edwall, G. and Ingman, F., *Anal. Chem.* **21** (1989) 29-47
- [8] Spaine, T. W. and Baur, J. E., *Electroanal. Chem.* **443** (1998) 208-216

**Dank**

Die Arbeiten wurden im Rahmen des SFB 459 von der DFG gefördert.