Polymere und molekular geprägte Polymere für den Einsatz auf Oberflächen und deren Anwendung in der Oberflächenplasmonenresonanz

Dissertation

der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

2006

vorgelegt von

Stefan Busche

Tag der mündlichen Prüfung:	08.12.2005
Dekan:	Prof. Dr. S. Laufer
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. G. Gauglitz
2. Berichterstatter:	PD Dr. U. Weimar

meinen Eltern

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Günter Gauglitz für die Überlassung des interessanten Themas, das ich mit großem Vertrauen und großer Freiheit bearbeiten durfte. Ich danke ihm außerdem für die Möglichkeit, meine Arbeit bei vielen Gelegenheiten auf nationalen und internationalen Tagungen und Konferenzen präsentieren zu dürfen.

Bei Herrn PD Dr. Udo Weimar möchte ich mich für die freundliche Übernahme des Koreferats und die gute Zusammenarbeit im VG bedanken.

Mein Dank gilt allen Kollegen der Arbeitsgruppe für ständige Hilfsbereitschaft und gute Arbeitsatmosphäre. Inbesondere möchte ich mich bei Frau Dipl.-Chem. Maura Kasper, Herrn Dr. Frank Dieterle, Frau Dipl.-Chem. Stefanie Jäger, Herrn Dr. Nicolae Leopold, Frau Dr. Tina Mutschler und Herrn Cand.-Chem. Frank Mayer für die hervorragende Zusammenarbeit im Rahmen dieser Arbeit bedanken. Bei den Kollegen aus dem VG, Herrn Dipl.-Phys. Rüdiger Frank, Herrn Dr. Matthias Vollprecht, Frau Dipl.-Chem. Karin Wöllner, Herrn Dipl.-Phys. Thorsten Laib, Herrn Dipl.-Chem. Lutz Steinle, Herrn Dipl.-Chem. Gregor Wernet und Herrn Dr. Martin Herold, möchte ich mich ebenfalls bedanken.

Für die vielen konstruktiven Ideen bei der Erstellung und Korrektur dieser Arbeit sowie dem Auffinden der Fehler möchte ich mich besonders bei Frau Dipl.-Chem. Maura Kasper und Herrn Dipl.-Chem. Tino Gimon bedanken.

Ich möchte mich bei allen Projektpartnern im Rahmen des EU-Projekts MENDOS, besonders bei Herrn Dr. Karsten Haupt und Herrn PD Dr. Dietmar Knopp, bedanken.

Für die gute Zusammenarbeit bei der Charakterisierung der Oberflächenkonformationen möchte ich Herrn Dr. Christoph Meyer, Herrn Dr. Norbert Welsch und Herrn Prof. Dr. Klaus Albert danken.

Für die Bereitstellung des Chirasil-Calix-Selektors möchte ich Herrn Dr. Alexander Ruderisch und Herrn Prof. Dr. Volker Schurig danken.

Für die Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit möchte ich mich bei allen bedanken, die mir in den letzten Jahren durch aufmunternde Worte und motivierende Gespräche bei der Erstellung dieses Werkes geholfen haben.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Motivation **1**

1.1. Einleitung und Motivation 1

1.2. Zielsetzung und Gliederung 2

2. Theoretische Grundlagen **4**

2.1. Oberflächenplasmonenresonanz 4

2.1.1. Kretschmannaufbau 5

2.1.2. Anregung nichtstrahlender Oberflächenplasmonen 5

2.1.3. Bestimmung der Resonanzwellenlänge 7

2.1.4. Eindringtiefe, Testtiefe und laterale Dämpfung 7

2.1.5. Berechnung der Reflektivitäten eines Mehrschichtsystems . . . 9

2.1.6. Anregungs- und Detektionsmöglichkeiten 10

2.2. Multivariate Datenanalyse 10

2.2.1. Experimentelles Design 11

2.2.2. Datenvorbehandlung und Validierung 11

2.2.3. Kalibrierung linearer Probleme 12

2.2.4. Kalibrierung nicht-linearer Probleme 14

2.2.5. Künstliche neuronale Netze 15

2.3. Reflektometrische Interferenzspektroskopie 18

2.4. Ellipsometrie 19

2.5. Atomkraftmikroskopie 19

2.6. Sensitive Polymerschichten 20

2.6.1. Polymere 20

2.6.2. Glastemperatur, freies Volumen und Transportmechanismen . 20

2.6.3. Poröse Polymere 24

2.6.4. Polymere zur chiralen Erkennung 26

2.6.5. Molekulargeprägte Polymere 28

2.6.6. Poly-(ethylen-co-acrylsäure)-copolymere 34

3. Experimenteller Teil **35**
3.1. Geräte . . . 35
3.1.1. SPR-Aufbau . . . 35
3.1.2. RIfS-Aufbau . . . 36
3.1.3. Gasmischanlage . . . 36
3.1.4. Flüssigaufbau . . . 38
3.1.5. Kommerzielle Geräte . . . 38
3.2. Materialien . . . 39
3.2.1. Glasprismen, Glassubstrate und Siliziumwafer . . . 39
3.2.2. Sensitive Polymerschichten . . . 39
3.2.3. Verwendete Chemikalien . . . 42
3.3. Schichtpräparation . . . 45
3.3.1. Vorbehandlung der Substrate . . . 45
3.3.2. Aufdampfen der Gold- und Silberschichten . . . 45
3.3.3. Präparation der Makrolonschichten . . . 45
3.3.4. Präparation der PBMA-Schichten . . . 46
3.3.5. Präparation der Chirasil-Calix-Schichten . . . 46
3.3.6. Präparation der MIP-Schichten . . . 46
3.3.7. Präparation der kovalent gebundenen Co-Acrylsäure-Schichten 47

4. Ergebnisse **48**
4.1. Ultramikroporöse Polymere . . . 48
4.1.1. Untersuchung des Wechselwirkungsverhaltens . . . 49
4.1.2. Quartäre Alkoholgemische . . . 54
4.1.3. Einfluss von Verunreinigungen . . . 64
4.2. Poly-(n-butyl-methacrylat) . . . 75
4.2.1. Einleitung . . . 75
4.2.2. Messungen von Ethanol und Toluol . . . 76
4.2.3. Zusammenfassung . . . 80
4.3. L-Chirasil-Calix . . . 80
4.3.1. Einleitung . . . 80
4.3.2. Lactatester . . . 81
4.3.3. Aminosäurederivate . . . 83
4.3.4. Zusammenfassung . . . 86
4.4. Molekulargeprägte Polymere . . . 87
4.4.1. Einleitung . . . 87
4.4.2. Immobilisierung auf Oberflächen . . . 87

4.4.3. Regenerierung der Nanopartikel 92
4.4.4. Messungen von Benzo-[a]-Pyren 94
4.4.5. Zusammenfassung 96
4.5. Poly-(ethylen-co-acrylsäure)-Copolymere 96
4.5.1. Modifizierung der SiO_2-Oberflächen 97
4.5.2. Charakterisierung der SiO_2-Oberflächen 98
4.5.3. Zusammenfassung 103

5. Zusammenfassung **104**

6. Abkürzungverzeichnis **106**

7. Literaturverzeichnis **108**

A. Anhang **120**
A.1. Publikationen 120
A.2. Buchbeitrag 121
A.3. Patent 121
A.4. Vorträge 121
A.5. Poster 122
A.6. Akademische Lehrer 124
A.7. Lebenslauf 125

1. Einleitung und Motivation

1.1. Einleitung und Motivation

Die Modifikation von Oberflächen für den Einsatz in der Sensorik ist ein Gebiet, dem in den letzten Jahren große Aufmerksamkeit in der Chemie entgegengebracht wurde [1, 2]. Neben hochselektiven Rezeptoren, wie sie für Biosensoren eingesetzt werden, werden für Chemosensoren häufig weniger selektive Erkennungsstrukturen verwendet. Allerdings gibt es auch hier deutliche Unterschiede in der Selektivität der Rezeptoren. Molekulargeprägte Polymere sind wesentlich selektiver als Polymere, die beispielsweise nur einen Molekularsiebeffekt aufweisen. Für diese sehr unspezifischen Polymere sind chemometrische Datenauswertungsstrategien für die Quantifizierung von Analyten und Multianalytmischungen unbedingt notwendig, um Zusammenhänge zwischen Sensorsignalen und Konzentrationen herstellen zu können [3].

Das ultramikroporöse Polymer Makrolon wird industriell im Tonnenmaßstab hergestellt und beispielsweise für Brillengläser, Speichermedien und Wasserflaschen verwendet [4]. Auf Grund seiner definierten Porenstruktur eignet es sich aber ebenfalls für den Einsatz bei optischen Sensoren [5, 6]. Eine weitere interessante Klasse von Polymeren sind die Methacrylate; auch sie werden in großen Maßstäben industriell hergestellt und verwendet. Durch Einführung von bestimmten Seitengruppen kann die Glastemperatur dieser Polymerklasse in einem großen Bereich variiert werden, wodurch es möglich ist, die Glasübergangstemperatur dieser Polymere in die Nähe der Raumtemperatur zu verschieben. Hierdurch werden Messungen ober- und unterhalb dieses Phasenüberganges möglich. Untersuchungen dieser beiden Polymere sowohl hinsichtlich ihrer grundlegenden Wechselwirkungsprinzipien als auch die Quantifizierung von Analytgemischen mit Hilfe von Makrolon waren Teil dieser Arbeit.

Calixarene und molekulargeprägte Polymere besitzen eine im Vergleich zu den nicht funktionalisierten Polymeren deutlich erhöhte Selektivität. Ihre Immobilisierung auf einer Sensoroberfläche und ihre Anwendung zur Detektion von chiralen bzw. endo-

krinen Substanzen mit Hilfe der Oberflächenplasmonenresonanz eröffnet für beide Rezeptorklassen interessante neue Einsatzmöglichkeiten. Die vorgestellten molekulargeprägten Polymere wurden im Rahmen des EU-Projekts „MENDOS“ (BioMimetic Optical Sensors for Environmental Endocrine Disruptor Screening) entwickelt. Ihre Immobilisierung auf Oberflächen und ihre Anwendung auf optische Sensorsysteme wurden untersucht.

Polymerbasierte Trennmaterialien werden in den letzten Jahren immer wichtiger in der Flüssigchromatographie [7]. Co-Acrylsäure-Copolymere sind besonders interessant, da sie zum einen bei der Trennung sehr hoch beladen werden können und zum anderen in der Lage sind, Stoffe, die sich nicht in ihrer Polarität unterscheiden, wie z.B. cis/trans Provitamin A und Tocopherolhomologe, zu trennen.

1.2. Zielsetzung und Gliederung

In der vorliegenden Arbeit wurden vor allem Untersuchungen mit Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie (SPR) in der Gasphase und in der flüssigen Phase durchgeführt. Ergänzend zu den Messungen der Oberflächenplasmonenresonanz wurden zur Charakterisierung von Schichtsystemen die Methoden der Ellipsometrie und der Atomkraftmikroskopie (AFM) herangezogen.

Ein Vergleich des Wechselwirkungsverhaltens von Makrolon mit den homologen Alkoholen Methanol bis 1-Propanol wurden unter Verwendung von SPR, Reflektometrischer Interferenzspektroskopie (RIfS) und Ellipsometrie in enger Zusammenarbeit mit Frau Dr. Tina Mutschler und Frau Dipl.-Chem. Maura Kasper realisiert. Durch Kombination dieser drei Methoden konnten komplementäre Informationen über die Wechselwirkungen zwischen Polymer und Analytmolekülen gewonnen werden. Im Rahmen dieser Arbeit werden die SPR-Ergebnisse vorgestellt. Zur Quantifizierung von Gemischen in der Gasphase wurden Untersuchungen der Sorptions- und Desorptionskinetiken von Analyten verschiedener Molekülgröße mit ultramikroporösen Polymeren vorgenommen.

Ein weiterer wichtiger Teil dieser Arbeit bildet die multivariate Datenauswertung, die in einigen Fällen freundlicherweise von Herrn Dr. Frank Dieterle durchgeführt wurde. Hierbei wurden modellbehaftete Methoden (Hauptkomponentenregression) und modellfreie Methoden, wie künstliche neuronale Netze, verwendet. Die temperatursensitiven Messungen zur Untersuchung der Wechselwirkungsmechanismen mit Poly-(n-Butylmethacrylat) wurden ebenfalls in der Gasphase durchgeführt und die Änderungen in den Wechselwirkungen beobachtet.

Die Arbeiten mit L-Chirasil-Calix als chiraler Selektor, wurden in Kooperation mit Herrn Dr. Alexander Ruderisch und Herrn Dipl.-Chem. Pavel Levkin aus der Arbeitsgruppe von Professor Schurig durchgeführt. Die Zusammenarbeit mit Frau Dipl.-Chem. Maura Kasper ermöglichte den Vergleich zwischen SPR und RIfS in der Gasphase, wobei RIfS auch als Referenzmethode für die hier vorgestellten Messungen verwendet wurde, da mit dem verwendeten Aufbau mit mehreren sensitiven Schichten parallel gemessen werden kann.

Messungen in der flüssigen Phase mittels SPR wurden zur Charakterisierung von molekulargeprägten Polymeren und zum Nachweis endokriner Disruptoren verwendet. Mit Hilfe von Ellipsometrie wurden Schichtdicken von unterschiedlichen Co-Acrylsäure-Copolymere sowie von molekulargeprägten Polymeren bestimmt. Die Belegung der Oberflächen mit den sensitiven Strukturen wurde mit Hilfe der Atomkraftmikroskopie realisiert. Die Arbeiten mit den Co-Acrylsäure-Copolymere wurden in enger Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Christoph Meyer aus dem Arbeitskreis von Professor Albert durchgeführt.

In Kapitel 2 dieser Arbeit werden theoretische Einführungen in die verwendeten Sensor-, Charakterisierungs- und Auswertungsmethoden gegeben. Die eingesezten Materialien und Geräte werden in Kapitel 3 beschrieben. In Kapitel 4 werden die Untersuchungen der Wechselwirkungskinetiken, die Ergebnisse der Multianalytmessungen, Messungen mit dem Poly-(n-Butylmethacrylat) sowie die Untersuchungen chiraler Systeme und die Immobilisierung von Poly-(ethylen-co-acrylsäure) vorgestellt. Eine Zusammenfassung der vorgestellten Ergebnisse wird in Kapitel 5 gegeben.

2. Theoretische Grundlagen

Neben der Oberflächenplasmonenresonanz, die die Hauptmethode in dieser Arbeit darstellt, wurden weitere spektroskopische Methoden als Vergleich bzw. zur Gewinnung komplementärer Informationen herangezogen. Die Reflektometrische Interferenzspektroskopie wurde als Referenzmethode bei der chiralen Detektion benutzt. Spektral- und Null-Ellipsometrie wurden zur Charakterisierung von Schichtsystemen verwendet. Unterstützend wurden Informationen über die sensitiven Oberflächen durch Atomkraftmikroskopie erhalten. Die multivariate Datenauswertung spielt eine zentrale Rolle bei der Quantifizierung der Multianalytgemische in der Gasphase, weshalb sie in diesem Kapitel ebenfalls behandelt wird. Zum Verständnis der Wechselwirkungen der untersuchten Analytmoleküle mit den verwendeten Polymersystemen wird eine Einführung in die Eigenschaften dieser Polymere zum Abschluss dieses Kapitels gegeben.

2.1. Oberflächenplasmonenresonanz

Das Phänomen der Oberflächenplasmonen lässt sich bereits mit den Theorien von Fresnel [8] und Maxwell [9] erklären, es wurde aber erst 1957 durch Ritchie theoretisch beschrieben [10]. Nichtstrahlende Oberflächenplasmonen sind die Quanten der kollektiven Schwingung von Oberflächenladungen an der Grenzfläche eines Metalls zu einem Dielektrikum. Die hiermit verbundenen elektromagnetischen Felder fallen von der Grenzfläche zwischen Metall und Dielektrikum exponentiell ab und werden als evaneszente Felder bezeichnet.

Die Oberflächenplasmonenresonanz wurde 1968 von Otto [11] sowie von Kretschmann und Raether [12] zur Bestimmung des Brechungsindexes in der Nähe der Metalloberfläche verwendet. Vor allem die Messanordnung nach Kretschmann ist von praktischer Bedeutung, da bei ihr die Schichtdicke des Dielektrikums nicht begrenzt ist. Nylander und Liedberg beschrieben 1982 und 1983 den Einsatz der Oberflächenplasmonenresonanz als Gas- [13] und Biosensor [14]. Heutzutage ist die Oberflächenplasmonenresonanz eine weit verbreitete Methode zur Beobachtung von

biomolekularen Wechselwirkungen und wird in vielen Gebieten als sensorische Methode verwendet [15]. Die Methode wurde in den letzten Jahren von mehreren Firmen kommerzialisiert. Im Folgenden wird der Messaufbau nach Kretschmann beschrieben; die hierbei verwendeten Gleichungen sind [16] entnommen.

2.1.1. Kretschmannaufbau

Der in Abbildung 2.1 dargestellte Kretschmann-Aufbau wurde zur Messung der Oberflächenplasmonenresonanz verwendet. Parallel zur Einfallsebene polarisiertes Licht wird unter einem konstanten Winkel der Totalreflexion auf ein mit Gold oder Silber bedampftes Prisma mit hohem Brechungsindex eingestrahlt. Die Oberflächenplasmonen werden durch das evaneszente Feld des totalreflektierten Lichtes auf der dem Prisma abgewandten Seite der Metallschicht angeregt. Da das Evaneszentfeld der Oberflächenplasmonen in das Dielektrikum eindringt, hängt die Resonanzwellenlänge der Oberflächenplasmonen unter anderem von der Dielektrizitätskonstanten des Dielektrikums ab und ist somit sensitiv gegenüber Änderungen in der Dielektrizitätskonstanten. Die Resonanzwellenlänge wird mit Hilfe eines Spektrometers im reflektierten Licht detektiert. Der hier verwendete Aufbau ist in Kapitel 3.1.1 im Detail beschrieben.

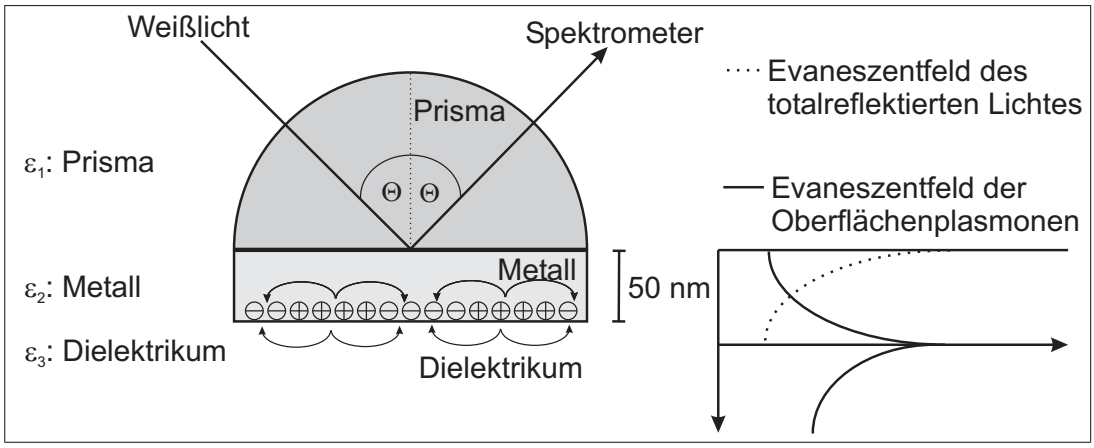

Abbildung 2.1: Schematische Darstellung eines SPR-Aufbaus nach der Kretschmann-Konfiguration.

2.1.2. Anregung nichtstrahlender Oberflächenplasmonen

Bei der Totalreflexion von Licht an der Grenzfläche zwischen Prisma und Metalloberfläche entsteht ein Evaneszentfeld, da die Stetigkeitsbedingung für elektromagnetische Felder erfüllt sein muss. Durch dieses Evaneszentfeld kann es bei bestimm-

ten Bedingungen zur Impulsübertragung vom einfallenden Licht auf die entstehenden Oberflächenplasmonen kommen. Für die Anregung von Oberflächenplasmonen durch Licht im sichtbaren Bereich gelten Impuls- und Energieerhaltung. Daher müssen sich die Dispersionsrelationen, die Abhängigkeit der Energie vom Impuls, für Licht und Oberflächenplasmonen schneiden. Dieser Zusammenhang ist in Abbildung 2.2 dargestellt.

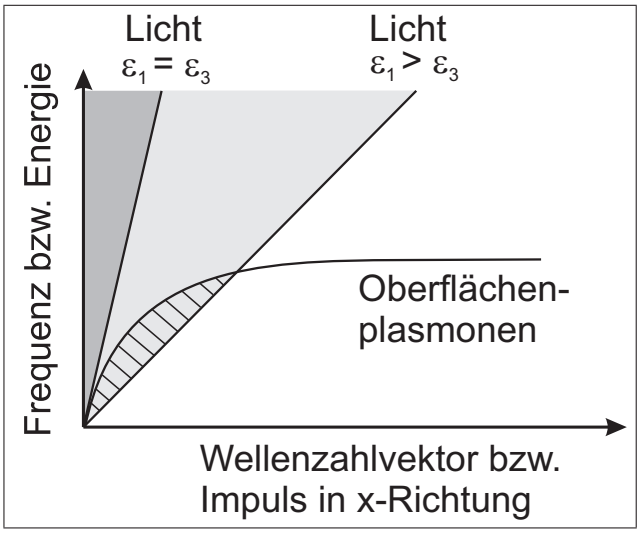

Abbildung 2.2: Dispersionsrelation des Lichts im Prisma (ϵ_1) und der Oberflächenplasmonen an der Grenzfläche Metall (ϵ_2) / Dielektrikum (ϵ_3).

Nach den Maxwellgleichungen gilt für die Ausbreitung von Licht in einem Medium, in diesem Fall dem Prisma, mit ϵ_1:

$$\omega = kc\sqrt{\frac{1}{\epsilon_1}} \quad \text{bzw.} \quad k = \frac{\omega}{c}\sqrt{\epsilon_1} \tag{2.1}$$

Wobei ω die Kreisfrequenz, k der Betrag des Wellenvektors und c die Lichtgeschwindigkeit sind. Nach geometrischen Betrachtungen gilt für den Aufbau nach Kretschmann mit dem Betrag des Wellenvektors k_x in Plasmonenausbreitungsrichtung x und dem Einstrahlwinkel θ:

$$\omega = \frac{k_x c}{\sin\theta}\sqrt{\frac{1}{\epsilon_1}} \quad \text{bzw.} \quad k_x = \frac{\omega}{c}\sqrt{\epsilon_1}\sin\theta \tag{2.2}$$

Die Energie-Impuls-Relation des Lichtes bleibt durch das hochbrechende Prisma im Evaneszentfeld des totalreflektierten Lichtes erhalten [18]. Die angeregten Oberflächenplasmonen sind wiederum mit zwei evaneszenten Feldern verbunden, die exponentiell von der Grenzfläche in z-Richtung in beide Medien abfallen (siehe Abbil-

dung 2.1). In die Dispersionsrelation der Oberflächenplasmonen (ohne Berücksichtigung des Prismas) gehen die dielektrische Funktion ϵ_3 des Dielektrikums und der Realteil der dielektrischen Funktion des Metalls $\epsilon_{2,\mathrm{re}}$ ein, siehe Gleichung 2.3.

$$\omega = k_x c \sqrt{\frac{1}{\epsilon_3} + \frac{1}{\epsilon_{2,re}}} \quad \text{bzw.} \quad k_x = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_{2,re}\epsilon_3}{\epsilon_{2,re} + \epsilon_3}} \tag{2.3}$$

Für $\epsilon_1 \leq \epsilon_3$ schneiden sich die Dispersionskurven der Oberflächenplasmonen und des Lichts nicht, weshalb eine Anregung nicht möglich ist. Ist der Einstrahlwinkel θ jedoch groß genug und gilt $\epsilon_1 > \epsilon_3$, so ist eine Anregung von Oberflächenplasmonen durch sichtbares Licht möglich (siehe Abbildung 2.2). Somit erklärt sich die Verwendung von Prismen aus hochbrechenden Materialien.

2.1.3. Bestimmung der Resonanzwellenlänge

Durch Gleichsetzen des Impulses bzw. der Energie der Oberflächenplasmonen mit dem des anregenden Lichtes, d.h. Gleichsetzen von Gleichung 2.2 und 2.3, ergibt sich für die Resonanzbedingung:

$$\sin\theta \sqrt{\epsilon_1(\lambda)} = \sqrt{\frac{\epsilon_{2,re}(\lambda)\epsilon_3(\lambda)}{\epsilon_{2,re}(\lambda) + \epsilon_3(\lambda)}} \tag{2.4}$$

In Gleichung 2.4 erkennt man die Abhängigkeit der Oberflächenplasmonen vom Einstrahlwinkel θ, sowie den Dielektrizitätskonstanten ϵ_1 des Prismas, dem Realteil der dielektrischen Funktion der Metallschicht $\epsilon_{2,re}$ und der effektiven Dielektrizitätskonstanten des Dielektrikums ϵ_3. Bei Kenntnis der Dispersionsverläufe des Prismas, des Metalls und des Dielektrikums lässt sich diese Gleichung numerisch lösen, eine analytische Lösung ist nicht möglich.

2.1.4. Eindringtiefe, Testtiefe und laterale Dämpfung

Oberflächenplasmonen sind als oberflächengebundene Wellen mit zwei evaneszenten Feldern verbunden, deren Reichweite in die umgebenden Medien begrenzt ist. Die Evaneszentfelder fallen von der Grenzfläche zwischen Metall und Dielektrikum exponentiell in z-Richtung ab (siehe Abbildung 2.1). Durch geometrische Betrachtungen lässt sich der Wellenvektor k_{zv} ($\nu = 2, 3$: also Metall bzw. Dielektrikum) folgendermaßen ausdrücken:

$$k_{zv} = \sqrt{k_v^2 - k_x^2} = \sqrt{\epsilon_v \left(\frac{\omega}{c}\right)^2 - k_x^2} \tag{2.5}$$

Da k_x in beiden Medien konstant ist, k_v aber kleiner als k_x, ist k_{zv} nach Gleichung 2.5 imaginär. Für das elektrische Feld E gilt somit:

$$E = E_0 e^{-|ik_{z\nu}|z} = E_0 e^{-\frac{z}{\delta_{z\nu}}} \tag{2.6}$$

Die Eindringtiefe ins Medium ν ist definiert als die Länge, nach der das elektrische Feld auf e^{-1} abgefallen ist:

$$\delta_{z\nu} = \frac{1}{|ik_{z\nu}|} \tag{2.7}$$

Physikalisch relevant ist allerdings nicht das elektrische Feld, sondern die Intensität, die dem Quadrat des elektrischen Feldes proportional ist:

$$I \propto |E|^2 = |E_0|^2 e^{-2|ik_{z\nu}|z} = |E_0|^2 e^{-\frac{2z}{\delta_{z\nu}}} = |E_0|^2 e^{-\frac{z}{\delta^I_{z\nu}}} \tag{2.8}$$

Die Testtiefe $\delta^I_{z\nu}$ ist als halbe Eindringtiefe definiert [20, 21]:

$$\delta^I_{z\nu} = \frac{1}{2}\delta_{z\nu} = \frac{1}{2\,|ik_{z\nu}|} \tag{2.9}$$

Einsetzen von 2.3 und 2.5 in Gleichung 2.9 liefert unter Vernachlässigung des Imaginärteils für die Testtiefe im Dielektrikum:

$$\delta^I_{z\nu} = \left|\frac{ic\sqrt{\epsilon_2, re + \epsilon_3}}{2\omega\epsilon_3}\right| = \left|\frac{i\lambda\sqrt{\epsilon_{2,re} + \epsilon_3}}{4\pi\epsilon_3}\right| \tag{2.10}$$

Sofern die Dicke des Dielektrikums nicht mindestens der dreifachen Testtiefe entspricht, kann nicht davon ausgegangen werden, dass das evaneszente Feld innerhalb der sensitiven Schicht abgefallen ist. Dieser Effekt muss gegebenenfalls bei der Auswertung der Messungen berücksichtigt werden.

Für die Bestimmung der lateralen Dämpfung in x-Richtung ist der Imaginärteil $k_{x,i}$ von k_x entscheidend und darf nicht vernachlässigt werden. Die Intensität ist die ausschlaggebende physikalische Größe:

$$I \propto |E|^2 = |E_0|^2 e^{2|ik_x|x} = |E_0|^2 e^{2|ik_{x,re}|x} e^{-2|ik_{x,i}|x} = |E_0|^2 e^{-\frac{x}{L_x}} \tag{2.11}$$

L_x ist die Fortpflanzungslänge, nach der die Intensität auf e^{-1} abgefallen ist. Sie ist wie folgt definiert:

$$L_x = \frac{1}{2\left|ik_{x,i}\right|} \tag{2.12}$$

Durch Einsetzen erhält man:

$$L_x = \left|\frac{c\epsilon_{2,re}^2}{\omega\epsilon_{2,i}}\left(\frac{\epsilon_{2,re}+\epsilon_3}{\epsilon_{2,re}e_3}\right)^{\frac{2}{3}}\right| = \left|\frac{\lambda\epsilon_{2,re}^2}{2\pi\epsilon_{2,i}}\left(\frac{\epsilon_{2,re}+\epsilon_3}{\epsilon_{2,re}\epsilon_3}\right)^{\frac{2}{3}}\right| \tag{2.13}$$

Da eine Fläche von mehreren Quadratmillimetern ausgeleuchtet wird, kann es durch Unregelmäßigkeiten in der Dielektrizitätskonstanten dieses Bereichs zu einer Anregung unterschiedlicher Oberflächenplasmonen kommen. Wenn eine ausreichend hohe Homogenität der sensitiven Schicht nicht gegeben ist, werden somit unterschiedliche Resonanzwellenlängen detektiert.

2.1.5. Berechnung der Reflektivitäten eines Mehrschichtsystems

Eine weitere Möglichkeit, die Resonanzwellenlänge zu bestimmen, ist durch die Fresnelgleichungen gegeben. Hierbei beruhen die Berechnungen auf den Reflektivitäten eines Mehrschichtsystems für verschiedene Wellenlängen. Die Resonanzwellenlänge entspricht dem Minimum der Reflektivität. Durch die Fresnelgleichungen kann die Reflektion eines Zweischichtsystems beschrieben werden. Eine Erweiterung auf ein Mehrschichtsystem ist durch rekursive Berechnungen möglich [19]. Für den Reflektionsgrad gilt:

$$R = |r|^2 \tag{2.14}$$

Für die Fresnelkoeffizienten eines Dreischichtsystems gilt hierbei:

$$r = \frac{r_{12} + r_{23}e^{(i2k_{z2}d_2)}}{1 + r_{12}r_{23}e^{(i2k_{z2}d_2)}} \tag{2.15}$$

r_{12} und r_{23} entsprechen den Fresnelkoeffizienten an den jeweiligen Grenzflächen:

$$r_{12} = \frac{\epsilon_2 k_{z1} - \epsilon_1 k_{z2}}{\epsilon_2 k_{z1} + \epsilon_1 k_{z2}} \quad r_{23} = \frac{\epsilon_3 k_{z2} - \epsilon_2 k_{z3}}{\epsilon_3 k_{z2} + \epsilon_2 k_{z3}} \tag{2.16}$$

Dabei berechnen sich die Wellenvektoren nach 2.5.

2.1.6. Anregungs- und Detektionsmöglichkeiten

Grundsätzlich werden zwei verschiedene Möglichkeiten zur Anregung von Oberflächenplasmonen verwendet. Bei der ersten Methode wird Weißlicht zur Anregung der Oberflächenplasmonen benutzt; zur Bestimmung der Resonanzwellenlänge wird hierbei ein Spektrometer benötigt. Die Messungen in dieser Arbeit wurden mit einem solchen Weißlichtaufbau nach der von Kretschmann beschriebenen Anordnung durchgeführt. Eine weitere Möglichkeit zur Anregung von Oberflächenplasmonen ist unter Verwendung nur einer Wellenlänge möglich. Im totalreflektierten Licht wird unter einem bestimmten Winkel, dem Anregungswinkel, ein Intensitätsminimum beobachtet. Die Verschiebung dieses Winkels in Abhängigkeit von der Änderung des Brechungsindexes wird verfolgt. Als Detektoren werden CCD-Kameras und Photodioden verwendet. Vor allem die zweite Methode findet in den kommerziell erhältlichen Geräten der Firmen BiaCore und Texas Instruments ihre Anwendung.

2.2. Multivariate Datenanalyse

Die multivariate Datenanalyse versucht Zusammenhänge zwischen verschiedenen Gruppen von Variablen herzustellen. Hierzu gibt es eine große Anzahl unterschiedlicher Methoden. Im Rahmen dieser Arbeit soll sowohl auf die Kalibrierung linearer Zusammenhänge mit Hilfe der Hauptkomponentenregression als auch die Kalibrierung nicht linearer Probleme mit künstlichen neuronalen Netzen eingegangen werden. Der Weg von der Messung zur gelungenen Auswertung mit guten Ergebnissen macht es notwendig, einige Vorüberlegungen anzustellen:

- Welche Analyten sollen gemessen werden und welche anderen Analyten zeigen Kreuzreaktivitäten?
- Welches experimentelle Design soll und kann vermessen werden?
- Wie müssen die gemessenen Daten vorbehandelt werden?
- Wie können die Zusammenhänge zwischen gemessenen Signalen und Konzentration hergestellt werden?
- Wie viel Optimierung der Auswertungsmethode ist nötig und sinnvoll?
- Wie kann die Güte des verwendeten Modells geprüft werden?

In den folgenden Unterkapiteln soll auf diese Fragen eingegangen werden.

2.2.1. Experimentelles Design

Mit Hilfe des experimentellen Designs wird versucht, den Raum, der durch die unabhängigen Variablen aufgespannt wird, mit möglichst wenigen zu vermessenden Proben abzudecken. Es ist hierbei notwendig, die Effekte dieser Variablen zu verstehen und ein Modell zwischen abhängigen und unabhängigen Variablen aufzustellen. Neben vielen anderen Möglichkeiten für Designpläne spielen die vollfaktoriellen Gemischpläne eine wichtige Rolle und sollen hier näher vorgestellt werden. Bei einem vollfaktoriellen Plan wird jede Konzentration einer Komponente mit allen Konzentrationen der anderen Komponenten vermessen. Daher nimmt die Anzahl der zu vermessenden Proben n stark mit der Anzahl der Analyten x und der Anzahl der Konzentrationsschritte l zu:

$$n = l^x \tag{2.17}$$

In dieser Arbeit wurden vollfaktorielle Gemischpläne mit äquidistanten Konzentrationsschritten vermessen. Hierbei wurden Trainings- und Testplan ineinander verschachtelt und in zufälliger Reihenfolge vermessen. Durch die vollfaktoriellen Pläne war es möglich, genug Datensätze für das Training der künstlichen neuronalen Netze zu generieren.

2.2.2. Datenvorbehandlung und Validierung

Um die Kalibrierung der Modelle effektiver zu gestalten, sollten die Daten vorverarbeitet werden. Die Datenvorbehandlung wird in der Literatur seit Jahren diskutiert und es gibt viele Ansätze, die sich mit diesem Problem beschäftigen [22,23]. Hier soll das in der Arbeit verwendete Konzept der Autoskalierung vorgestellt werden. Die Autoskalierung der Messwerte wurde mit Hilfe von Gleichung 2.18 durchgeführt:

$$x_{ij}^{'} = \frac{x_{ij} - \overline{x}_j}{\sigma_{x_j}} \tag{2.18}$$

x_{ij} ist die Antwort der i-ten Probe auf die j-te Variable, $\overline{x}_j$ der Mittelwert der j-ten Variable und σ_{x_j} die Standardabweichung der j-ten Variable. Die abhängigen Variablen müssen im Bereich zwischen -0.9 und 0.9 skaliert werden, damit eine Verarbeitung durch neuronale Netze mit einem Tangenshyperbolikus als Aktivierungsfunktions möglich ist:

$$x_{ij}^{'} = 1.8 \cdot \frac{x_{ij} - min\left(x_j\right)}{max\left(x_j\right) - min\left(x_j\right)} - 0,9 \tag{2.19}$$

Zur Berechnung der Vorhersagefehler und zur Darstellung der Ergebnisse in True-Predicted-Plots wird die Skalierung umgekehrt.

Zur Vermeidung eines Übertrainings der multivariaten Modelle ist eine Validierungsmethode zum vorzeitigen Abbruch des Trainings notwendig. In dieser Arbeit wurde die Methode der vollen Kreuzvalidierung eingesetzt, um ein Auswendiglernen der Trainingsdaten durch die neuronalen Netze zu vermeiden [24]. Zur Validierung der verwendeten Modelle wird der Root Mean Square Error (RMSE) verwendet. Er ist das am häufigsten in der Chemometrie verwendete Maß für die Qualität von Kalibrierungen und Vorhersagen:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} \left(\widehat{y_i} - y_i\right)^2}{n}} \tag{2.20}$$

Hierbei geben $\widehat{y_i}$ die vom Modell vorhergesagte Konzentration, y_i die wahre Konzentration und n die Anzahl der Proben wieder.

Als relatives Fehlermaß wird der relative RMSE verwendet, der in der Literatur auch als Standardvorhersagefehler (standard error of prediction, SEP) bezeichnet wird [25–27].

$$RMSE_{rel} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} \left(\widehat{y_i} - y_i\right)^2}{n}} \Big/ \frac{\sum_{i=1}^{n} y_i}{n} \tag{2.21}$$

2.2.3. Kalibrierung linearer Probleme

Bei der multivariaten Kalibrierung der Konzentration von einem oder mehreren Analyten wird am häufigsten ein linearer Zusammenhang angenommen. Ein Modell hierfür kann durch die so genannte multiple lineare Regression (MLR), auch inverse least-square regression (ILS) genannt, erstellt werden. Hierbei wird für jede Antwortvariable (Analytkonzentration) ein lineares Gleichungssystem formuliert:

$$\begin{aligned} y_1 &= b_{11}x_1 + b_{12}x_2 + b_{13}x_3 + \ldots + b_{1w}x_w + e_1 \\ y_2 &= b_{21}x_1 + b_{22}x_2 + b_{23}x_3 + \ldots + b_{2w}x_w + e_2 \\ &\vdots \\ y_c &= b_{c1}x_1 + b_{c2}x_2 + b_{c3}x_3 + \ldots + b_{cw}x_w + e_c \end{aligned} \tag{2.22}$$

In Matrizenschreibweise ausgedrückt:

$$Y = BX + E \tag{2.23}$$

wobei die Regressionskoeffizienten mit Gleichung 2.24 angenähert werden können:

$$\widehat{B} = \left(X^T X\right)^{-1} X^T Y \tag{2.24}$$

Zur Invertierung der Varianz-Kovarianz-Matrix müssen mindestens so viele Proben wie Antwortvariablen gemessen werden. Um dieses Problem zu beseitigen, wurden mehrere alternative Methoden wie zum Beispiel die Hauptkomponentenregression (PCR) oder partial least-square regression (PLS bzw. PLSR) entwickelt. Hierbei gilt die PLSR als die Standardmethode zur Erstellung eines multivariaten Modells [28] und soll daher näher vorgestellt werden.

Ursprünglich wurde die PLSR für die IR- und UV-Spektroskopie entwickelt und zeichnet sich vor allem durch die gute Geschwindigkeit bei der Erstellung des Modells, Robustheit und Benutzerfreundlichkeit aus. Zunächst wird eine Reduzierung der Dimensionalität in ein neues Koordinatensystem durchgeführt. Anschließend wird eine lineare Regression in diesem neuen Koordinatensystem durchgeführt. Diese neuen Koordinaten werden PLS-Faktoren bzw. Hauptkomponenten (in Analogie zur PCA) genannt, und sie werden durch die maximale Varianz der unabhängigen Variablen und einem Maximum der Korrelation der abhängigen Variablen bestimmt. Die Anzahl der Hauptkomponenten entspricht der Anzahl der vorherzusagenden Variablen. Für das Modell werden jedoch normalerweise nur die ersten Hauptkomponenten verwendet. Die für die Auswertung relevanten Informationen sind in den ersten Hauptkomponenten enthalten, in den höheren Hauptkomponenten stecken vor allem redundante Informationen und das Rauschen. Die PLS kann somit als sehr robuste Methode angesehen werden. Zur Bestimmung der optimalen Anzahl an Hauptkomponenten für das Modell gibt es unterschiedliche Kriterien, wie zum Beispiel den F-Test [29], verschiedene Kreuzvalidierungsmethoden [30] oder den Martens-Unsicherheitstest [31, 32].

Mathematisch lässt sich die PLS in Matrizenschreibweise dargestellen. Die Matrizen X und Y der unabhängigen und der abhängigen Variablen setzen sich dabei folgendermaßen zusammen:

$$X = TP^T + E \tag{2.25}$$

$$Y = UQ^T + F \tag{2.26}$$

E und F sind die Residual-Matrizen, T und U die Score-Matrizen und P^T und Q^T die Loading-Matrizen. Die Scores geben hierbei die Korrelation der Variablen und die Loading liefern Informationen über die Gemeinsamkeiten und Unterschiede der Proben. Ein lineares Modell wird für den Zusammenhang zwischen den Score-Matrizen T und U angenommen:

$$U = TB + H \tag{2.27}$$

Gebräuchlich sind zwei unterschiedliche Algorithmen. Beim PLS1-Algorithmus wird nur eine Variable y pro Modell verarbeitet, während mit dem PLS2-Algorithmus mehrere Variablen in einem Durchgang modelliert werden können. Für weitere Details zur PLS siehe [33–39]. Da die Ergebnisse des PLS1-Algorithmus häufig besser sind, wurde dieser Ansatz in dieser Arbeit verwendet.

2.2.4. Kalibrierung nicht-linearer Probleme

In vielen Fällen können Zusammenhänge in den Naturwissenschaften in erster Näherung durch lineare Modelle mit guten Ergebnissen angenähert werden. Als Beispiele seien hier das Lambert-Beer-Gesetz oder das Henry-Gesetz genannt. Beide Gesetze sind allerdings Grenzfälle, die nur unter bestimmten Bedingungen angewendet werden dürfen. Für reale Anwendungen gelten diese Gesetze häufig nicht und führen somit zu einem hohen systematischen Fehler in einem linearen Modell. Um dieses Problem zu verkleinern, wurden in den letzten Jahren einige Ansätze entwickelt, um mit linearen Methoden nicht-lineare Probleme zu kalibrieren [33, 35]. Eine weitere Möglichkeit, nicht-lineare Zusammenhänge zu bearbeiten, sind Methoden, die direkt in der Lage sind, diese zu modellieren. Künstliche neuronale Netze sind eine solche Methode, sie haben in den letzten Jahren immer größeres Interesse für den Einsatz in der Wissenschaft erlangt und werden heute in den unterschiedlichsten Feldern der Chemie angewendet [40–43]. Für die multivariate Kalibrierung spielen vor allem Feedforward-Backpropagation Netzwerke eine wichtige Rolle, die sowohl die Kalibrierung linearer als auch nicht-linearer Probleme erlauben. Sie stellen eine modellfreie Methode dar, die im folgenden Unterkapitel näher beschrieben werden soll.

2.2.5. Künstliche neuronale Netze

An dieser Stelle soll ein kurzer Einblick in die Möglichkeiten neuronaler Netze gegeben werden. Weitere Details finden sich zum Beispiel [44–48].

Künstliche neuronale Netze sind Informationsverarbeitungssysteme, die aus vielen einfachen Einheiten, den so genannten Neuronen, bestehen. Diese Neuronen sind in Schichten organisiert und untereinander über Links verbunden. Die Netze sind den hochverknüpften Strukturen des Gehirns und des Nervensystems nachempfunden, wobei die Neuronen den Zellen und die Verbindungen den Axonen in der Biologie entsprechen. In der Wissenschaft und Technologie werden unterschiedliche Arten von neuronalen Netzen verwendet. Hier sollen die Feedforward-Backpropagation Netzwerke vorgestellt werden.

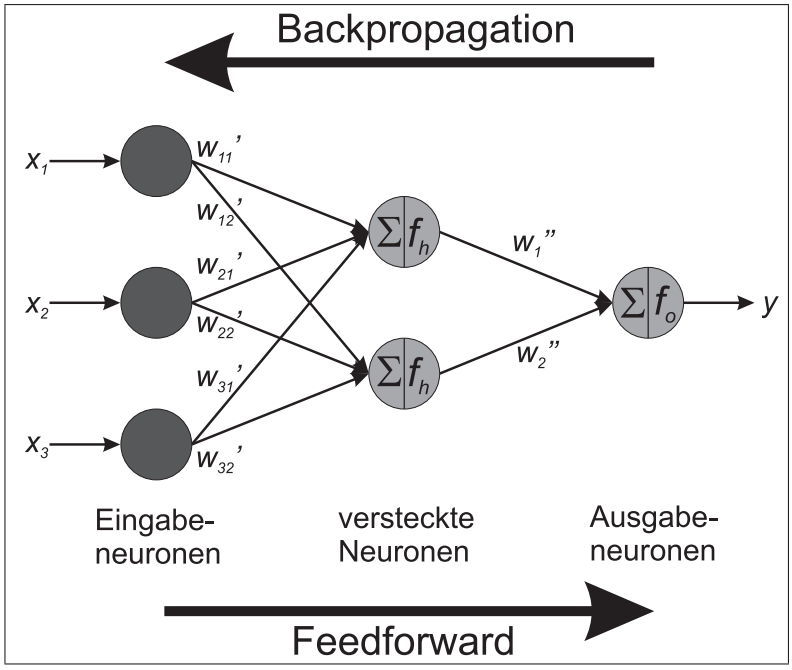

Abbildung 2.3: Schematische Zeichnung eines Feedforward-Backpropagation Netzwerks.

Ein Beispiel für ein Netzwerk dieses Typs ist in Abbildung 2.3 gezeigt. Dieses Netzwerk besteht aus drei Eingabeneuronen x_1, x_2, x_3 in der Eingabeschicht, zwei Verarbeitungsneuronen in der versteckten Schicht und einem Ausgabeneuron y. Die Eingabevariablen - in dieser Arbeit sind damit die vorverarbeiteten Sensorsignale gemeint - werden durch die Eingabeneuronen an das neuronale Netz übergeben und durch die Links an die Verarbeitungsebene weitergeleitet. Dabei werden die Eingabevariablen mit den Gewichten der Links w' multipliziert. In den versteckten Neuronen werden die gewichteten Signale aufsummiert und auf die Aktivierungsfunktion f_h projiziert.

Als Aktivierungsfunktion wird der Tangenshyperbolikus verwendet, da dieser eine gute Konvergenzgeschwindigkeit aufweist [44]. Die resultierenden Summen werden durch die Gewichte $w"$ zwischen versteckter und Ausgabe-Schicht gewichtet und an die Ausgabeneuronen geleitet. In der Schicht der Ausgabeneuronen wird eine Aufsummierung und Projektion durchgeführt. Die Ausgabe kann zum Beispiel eine Konzentrationsvorhersage sein.

Neuronale Netze als modellfreies Verfahren lernen durch Beispiele und müssen daher für das gegebene Problem trainiert werden. Während der Trainingsphase werden Kalibrierdatensätze mit bekannter Antwortvariable y durch das Netz prozessiert. Die Werte zwischen Vorhersage und wahrem Wert werden miteinander verglichen, der Fehler wird berechnet und in einem Backpropagation-Schritt werden die Netzparameter so angepasst, dass der Fehler minimiert wird. Diese Prozedur wird wiederholt, bis der Vorhersagefehler ein akzeptables Maß erreicht hat. Durch den dabei verwendeten Lernalgorithmus wird versucht, ein gutes lokales Minimum auf der Fehleroberfläche zu finden. Ein globales Minimum wird normalerweise nicht gefunden. Für die Fehlerminimierung muss üblicherweise ein Kompromiss zwischen Rechenzeit und Güte des Ergebnisses eingegangen werden.

2.2.5.1. Topologie neuronaler Netze

In dieser Arbeit wurden neuronale Netze unterschiedlicher Topologie verwendet. Die Topologie der Netzwerke spielt eine entscheidende Rolle für die Leistungsfähigkeit der Auswertung. Im Wesentlichen wurden zwei verschiedene Arten von Topologien verwendet:

Vollverknüpfte neuronale Netze: Die Anzahl der Eingabeneuronen entspricht der Anzahl der zur Verfügung stehenden Sensorsignale. Bei statischen Sensoren entspricht somit die Anzahl der Eingabeneuronen der Anzahl der Sensoren. Für die zeitaufgelösten Messungen entspricht sie der Anzahl der vermessenen Zeitpunkte oder einer definierten Zeitspanne, zum Beispiel nur der Analytsorption oder Analytdesorption. Die Anzahl der versteckten Neuronen wird systematisch nach einem Gradientenalgorithmus variiert und die Entwicklung des Fehlers dabei beobachtet. Für eine bestimmte Anzahl von versteckten Neuronen wird ein Fehlerminimum erreicht. Es wurden Netze mit einer Schicht versteckter Neuronen und einem Ausgabeneuron verwendet. Für jeden untersuchten Analyten wurde ein eigenes Netz gerechnet.

Wachsende neuronale Netze: Ausgegangen wird von einem Feedforward-Backpropagation-Netzwerk ohne versteckte Neuronen und ohne Links. Das Netzwerk wird mit Hilfe eines Algorithmus durch Hinzufügen von Neuronen aufgebaut, wobei diese hinzugefügten Neuronen immer mit der Ausgabeschicht und zwei weiteren Neuronen verbunden sind. Die Links werden so gewählt, dass der Vorhersagefehler möglichst maximal abnimmt. Das Hinzufügen neuer Neuronen wird gestoppt, wenn der Vorhersagefehler durch weitere Neuronen nicht um mindestens einen bestimmten, vordefinierten Wert abnimmt. Es wurde gezeigt, dass durch die Verwendung kleiner Netzwerke sehr gute Ergebnisse erreicht werden können [49]. Diese Methode zum Aufbau einer optimierten Netzwerktopologie wurde von Vinod et. al. vorgeschlagen [50].

2.2.5.2. Training neuronaler Netze

Für das Training neuronaler Netze werden viele verschiedene Algorithmen in der Literatur vorgeschlagen und finden heute bei verschiedenen Problemen ihre Anwendung. Die Algorithmen für die Kalibrierung der neuronalen Netze können als ein Optimierungsproblem angesehen werden; die Wahl einer bestimmten Methode kann die Leistungsfähigkeit erhöhen, allerdings kann sie auf der anderen Seite auch wesentlich mehr Rechenzeit erfordern. Für einen Überblick über die gebräuchlichen Lernalgorithmen siehe [49]. Für die Auswertungen mit neuronalen Netzen in dieser Arbeit wurden zwei Algorithmen zum Trainieren der Netze verwendet. Zum einen wurde der resilient propagation (Rprop) Algorithmus verwendet. Für die meisten neuronalen Netze wurde jedoch der scaled conjugate gradient (SCG) Algorithmus angewendet, da dieser eine sehr gute Konvergenz zeigte und somit die Anzahl der Trainingszyklen niedrig gehalten werden konnte. Alle neuronalen Netze wurden in maximal 1000 Lernzyklen trainiert, wobei immer die volle Kreuzvalidierung als Abbruchbedingung verwendet wurde. Die Kreuzvalidierung sollte das Auswendiglernen des Trainingsdatensatzes verhindern, da hierdurch die Fähigkeit des Netzes zu Generalisierung verloren geht [49]. Das Training wurde durch diese Abbruchbedingung beendet, sobald der Kreuzvalidierfehler der Kalibrierdaten zu steigen begann. Ab diesem Moment nimmt die Fähigkeit des Netzes, unbekannte Testdaten vorherzusagen, ab.

2.3. Reflektometrische Interferenzspektroskopie

Das Prinzip der Reflektometrischen Interferenzspektroskopie (RIfS) beruht auf der Interferenz von reflektierten Teilstrahlen bei der Mehrfachreflexion an den Phasengrenzen dünner Schichten [51]. Weißlicht wird durch ein Glassubstrat auf einen transparenten Interferenzfilm, zum Beispiel einen Polymerfilm, eingestrahlt. An den Phasengrenzen vom Substrat zum Interferenzfilm und vom Interferenzfilm zum Superstrat wird das Licht teilweise reflektiert und teilweise transmittiert. Die reflektierten Teilstrahlen interferieren konstruktiv bzw. destruktiv. Eine wellenlängenabhängige Detektion führt, unter Berücksichtigung eines unbeschichteten Referenzsubstrates, zu einem Interferenzspektrum (IFS):

$$IFS = \frac{R(\lambda)_{\text{Interferenzfilm}}}{R(\lambda)_{\text{Referenz}}} \tag{2.28}$$

Der Gangunterschied der Teilstrahlen wird durch die optische Schichtdicke $n \cdot d$, dem Produkt aus Schichtdicke d und Brechungsindex n, bestimmt. Das Interferenzphänomen ist für den Fall des senkrechten Lichteinfalls und einem parallelen Schichtsystem gegeben durch:

$$I_{\perp}(\lambda) = I_{1,2} + I_{2,3} + 2\sqrt{I_{1,2}I_{2,3}}cos\frac{4\pi n_2 d_2}{\lambda} \tag{2.29}$$

Für Extrempunkte, mit Minima $m_{min} = 0.5;\ 1.5;\ 2.5;\ldots$ und Maxima $m_{max} = 1;\ 2;\ 3;\ldots$, gilt:

$$m = \frac{2n_2 d_2}{\lambda} \tag{2.30}$$

Eine Wechselwirkung von Analytmolekülen mit einem sensitiven Film führt zu einem Schwellen des Polymerfilms, somit zur Zunahme der optischen Schichtdicke und damit zu einer Verschiebung des Interferenzspektrums zu höheren Wellenlängen. Da mit dem RIfS-Aufbau parallel mehrere Sensoren vermessen werden können, eignet sich diese Methode als Referenz im Vergleich zu den SPR-Messungen. Durch zeitaufgelöste Messungen der Verschiebungen der Extrema kann die Wechselwirkungskinetik von Analyten mit dem Polymer beobachtet werden. Eine detaillierte Beschreibung der Methode findet sich in [52, 53].

2.4. Ellipsometrie

In der Ellipsometrie werden Änderungen des Polarisationszustandes von polarisiertem Licht bei der Reflexion an einer Oberfläche oder an einem Schichtsystem gemessen [59, 60]. Hierbei ist es möglich, Schichtdicken bis in den Submonolagenbereich zu untersuchen. Für eine detaillierte Beschreibung siehe [61]. Im Rahmen dieser Arbeit wurden sowohl Messungen mit einem Nullellipsometer als auch mit einem Spektralellipsometer durchgeführt. Die Nullellipsometrie wird hierbei als Methode zur Bestimmung sehr dünner Schichtsysteme bis in den Submonolagenbereich eingesetzt, während durch die Spektralellipsometrie Schichtdicken von einigen hundert Nanometern sehr genau bestimmt werden können. Darüber hinaus ist eine simultane Bestimmung der Absolutwerte von Schichtdicke und Brechungsindex einer transparenten Probe möglich, sofern beide nicht zu stark miteinander korreliert sind.

2.5. Atomkraftmikroskopie

Die Atomkraftmikroskopie stellt eine Weiterentwicklung der Rastertunnelmikroskopie dar. Allerdings wird hierbei nicht der Tunnelstrom zwischen einer feinen Spitze und einer Oberfläche, sondern die Kraft zwischen einer Spitze und der Oberfläche gemessen [62–64]. Die Messspitze ist am Ende eines beweglichen Cantilevers angebracht und wird je nach wirkender Kraft zwischen Oberfläche und Cantilever ausgelenkt, was zu einer Verbiegung des Cantilevers führt. Diese Verbiegung kann durch eine in Segmente aufgeteilte Photodiode mit hoher Genauigkeit detektiert werden. Während der eigentlichen Messung wird die Probe in x-y-Richtung abgerastert und ein Höhenprofil der Oberfläche erstellt. Im Idealfall wird nur die Wechselwirkung zwischen dem vordersten Atom der Spitze und einem Atom der Oberfläche stattfinden. Dies kann durch das Lennard-Jones-Potential beschrieben werden:

$$E_{pot}(r) = 4 \cdot E_e \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^{6} \right] \tag{2.31}$$

wobei E_e die Energie im Gleichgewicht und σ der Teilchendurchmesser ist. Die attraktiven van-der-Waals-Kräfte sind nach Gleichung 2.31 proportional zu r^{-6} und die repulsiven Kräfte, die auf dem Pauli-Prinzip beruhen, sind proportional zu r^{-12}. Die Kraft, vor allem im repulsiven Bereich, lässt sich also als eine sehr empfindliche Abstandssonde verwenden und ermöglicht die Detektion von Höhenunterschieden bis in den Subpicometerbereich.

Man unterscheidet zwischen verschiedenen Messmodi. Im Kontaktmodus wird die Spitze in physikalischen Kontakt mit der Probenoberfläche gebracht. Im sogenannten Tappingmodus wird der Cantilever über ein Piezoelement zu einer Schwingung nahe seiner Resonanzfrequenz angeregt und die Oberfläche abgerastert. Für eine genauere Beschreibung der Messmethoden siehe [65].

2.6. Sensitive Polymerschichten

2.6.1. Polymere

Polymere sind Makromoleküle, die aus einer großen Anzahl von monomeren Einheiten aufgebaut sind. Sie besitzen eine Molmasse von mehr als 10^4 g/mol. Die Struktur der Polymere ist von der Art und Anzahl der Verknüpfung der Monomere abhängig und kann je nach gewünschten Eigenschaften stark variieren [66]. In dieser Arbeit wurde zum einen das ultramikroporöse Polymer Makrolon zur Quantifizierung von Multianalytgemischen verwendet, zum anderen wurde ein Calixaren mit spezifischen Erkennungsstrukturen für chirale Analytmoleküle untersucht. Untersuchungen von Poly-(n-Butylmethacrylat) in der Nähe der Glasübergangstemperatur sollten Informationen über die Wechselwirksmechanismen zwischen Polymerstruktur und gasförmigen Analyten geben. Poly-(ethylen-co-acrylsäure)-copolymere sind vor allem für den Einsatz in der Flüssigchromatographie interessant. Ihre Konformation auf Siliziumoberflächen wurde untersucht.

2.6.2. Glastemperatur, freies Volumen und Transportmechanismen

Die physikalisch-chemischen Eigenschaften von Polymeren hängen im Wesentlichen von der Temperatur ab. Unterhalb der sogenannten Glastemperatur T_G besitzen Polymere einen festen bzw. glasartigen Zustand mit einem nahezu konstanten spezifischen Volumen. Das Gesamtvolumen eines Polymers setzt sich aus dem vom Polymernetzwerk besetzten Volumen V_0 und dem freien Volumen V_f zusammen [66].

$$V = V_0 + V_f \tag{2.32}$$

Oberhalb der Glastemperatur geht das Polymernetzwerk in einen gummiartigen Zustand über und das freie Volumen nimmt linear mit der Temperatur zu [67], während

unterhalb die Volumenabnahme gehemmt ist. In Abbildung 2.4 ist der Zusammenhang zwischen dem freien Volumen und der Temperatur dargestellt. Die Messtemperatur hat einen entscheidenden Einfluss auf das Wechselwirkungsverhalten zwischen Polymer und Analyten. Die Vermessung eines Polymers ober- und unterhalb der Glastemperatur kann zur Charakterisierung des Wechselwirkungsverhaltens ausgenutzt werden und Aufschluss über die Prinzipien dieser Wechselwirkung geben.

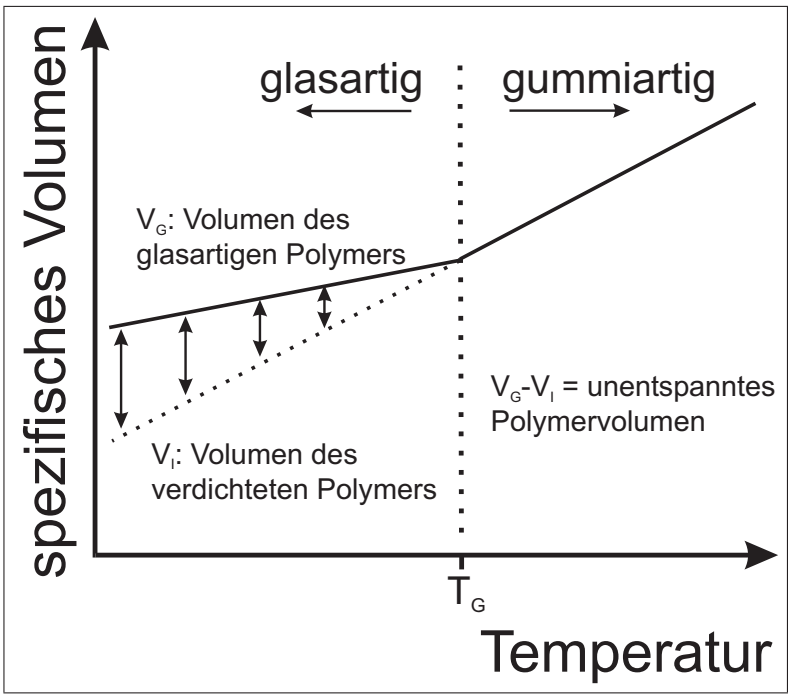

Abbildung 2.4: Freies Volumen in Abhängigkeit der Temperatur.

Als allgemein anwendbare Trennprinzipien für die Gastrennung mit Membranen kommen die Knudsen-Diffusion, der Lösungs-Diffusions-Mechanismus und der Molekularsiebeffekt in Frage [68]. Wenn das mittlere Volumen der Poren des glasartigen Polymers im Bereich der betrachteten Gase liegt, kann der Molekularsiebeffekt dieser Poren zur Unterscheidung der Wechselwirkungskinetiken ausgenutzt werden, da für Moleküle unterschiedlicher Größe die Anzahl der zur Verfügung stehenden Poren unterschiedlich ist. Dieser Zusammenhang ist in Abbildung 2.5 schematisch dargestellt. Für kleinere Moleküle stehen mehr Poren zur Verfügung, weshalb die Wechselwirkungen zwischen Polymergerüst und Analyten schwächer sind, während für größere Analytmoleküle es zu einer stärkeren Dehnung des Polymergerüstes kommt, was stärkere Wechselwirkung bedeutet.

Bei der Sorption von Gasen in ein Polymer wird das Polymernetzwerk gestreckt [69], bis sich ein Gleichgewicht zwischen den Kräften, die zur Quellung führen, und denen, die das Polymernetzwerk zusammenhalten, eingestellt hat. Je nach Art des Polymers

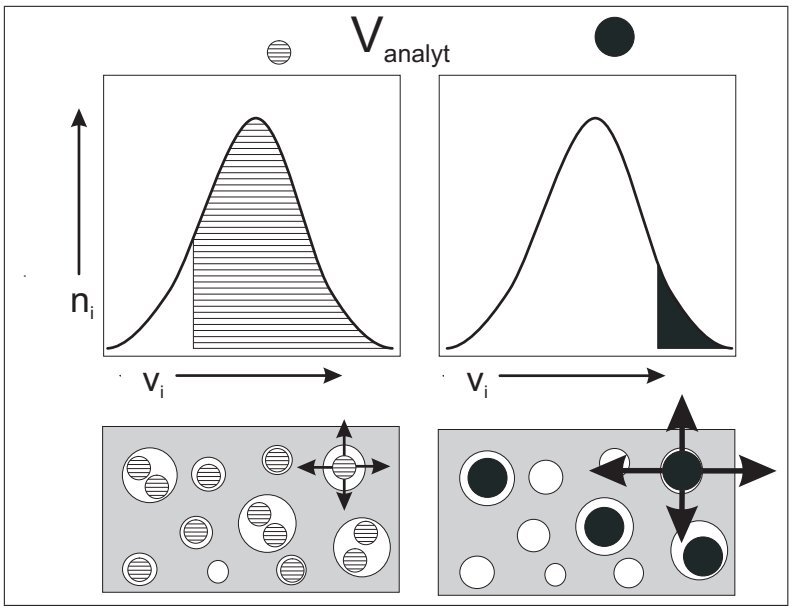

Abbildung 2.5: Schematische Darstellung des Einflusses der Porengrößenverteilung und der Analytgröße auf die Sorption.

und betrachteten Konzentrationsbereichs folgt eine Sorptionsiotherme einem der im folgenden beschriebenen Verläufe. Die Wechselwirkungsmechanismen unterscheiden sich somit je nach vorliegendem Polymer [70].

2.6.2.1. Soprtion nach Henry

Die Sorption nach Henry ist die einfachste Möglichkeit einer Sorptionsbeschreibung. Es ergibt sich ein linearer Zusammenhang zwischen sorbierter Stoffmenge c und dem Partialdruck p:

$$c = k_d \cdot p \tag{2.33}$$

Die Konstante k_d wird Henry-Konstante genannt. Dieser lineare Zusammenhang beschreibt den Grenzfall für niedrige Konzentrationen bzw. Partialdrücke von sorbiertem Gas.

2.6.2.2. Sorption nach Langmuir

Bei einer limitierten Anzahl von Bindungsstellen, zum Beispiel Ultramikroporen, lässt sich die Sorption mit einem Modell nach Langmuir beschreiben. Da die Anzahl der Bindungsstellen bzw. Mikroporen begrenzt ist, wird eine Sättigung beobachtet. Eine Beschreibung ist durch Gleichung 2.34 möglich:

$$C_H = \frac{C_H^{'} \cdot b \cdot p}{1 + b \cdot p} \tag{2.34}$$

wobei C_H der Konzentration des sorbierten Gases, $C_H^{'}$ der Sättigungskonstanten, die die Konzentration bei vollständiger Besetzung aller Bindungsstellen bzw. Mikroporen angibt, b der Affinitätskonstanten und p dem Partialdruck entsprechen.

2.6.2.3. Sorption nach Henry-Langmuir

Die Permeation eines Gases durch ein poröses Polymer kann generell mit Hilfe der kinetischen Gastheorie beschrieben werden. Die Wechselwirkung eines Gases mit einem glasartigen Polymer wird weithin durch Gleichung 2.35 beschrieben. Sie verläuft konkav zur x-Achse. Die Gleichung ist zusammengesetzt aus einem Henry- und einem Langmuiranteil, da die Wechselwirkungen durch eine Überlagerung aus der Besetzung der Poren und der Wechselwirkungen mit dem Polymernetzwerk beschrieben werden können [70].

$$C = C_D + C_H = k_d \cdot p + \frac{C_H^{'} \cdot b \cdot p}{1 + b \cdot p} \tag{2.35}$$

Hierbei sind C_D den Henryanteil und k_d die Henry-Konstante an. Der durch den Langmuiranteil C_H beschriebene Teil setzt sich aus den Sättigungskonstanten $C_H^{'}$ und der Affinitätskonstanten b zusammen.

2.6.2.4. Sorption nach Flory-Huggins

Für Gase, die eine hohe Löslichkeit in einem Polymer besitzen bzw. die Fähigkeit besitzen, das Polymergerüst bei höheren Konzentrationen aufzuweichen, findet man einen zur Druckachse konvexen Verlauf der Sorptionsisothermen. Dieser Verlauf lässt sich mit der Gleichung von Flory-Huggins beschreiben:

$$ln\,(p/p_0) = ln\,(\upsilon) + ln\,(1 - \upsilon) + \chi\,(1 - \upsilon)^2 \tag{2.36}$$

wobei p der Druck des Gases, p_0 der Dampfdruck bei der gegebenen Temperatur, υ der Volumenbruch des gelösten Gases und χ der Flory-Huggins-Parameter sind. Für niedrige Gaskonzentrationen kann die Gleichung zu folgender Form reduziert werden:

$$C = [S(0) \cdot \exp(C \cdot \alpha)] \cdot p \tag{2.37}$$

Die Konstante α charakterisiert die Konzentrationsabhängigkeit . Dieser Verlauf der Sorptionsisothermen findet sich vor allem bei gummiartigen Polymeren.

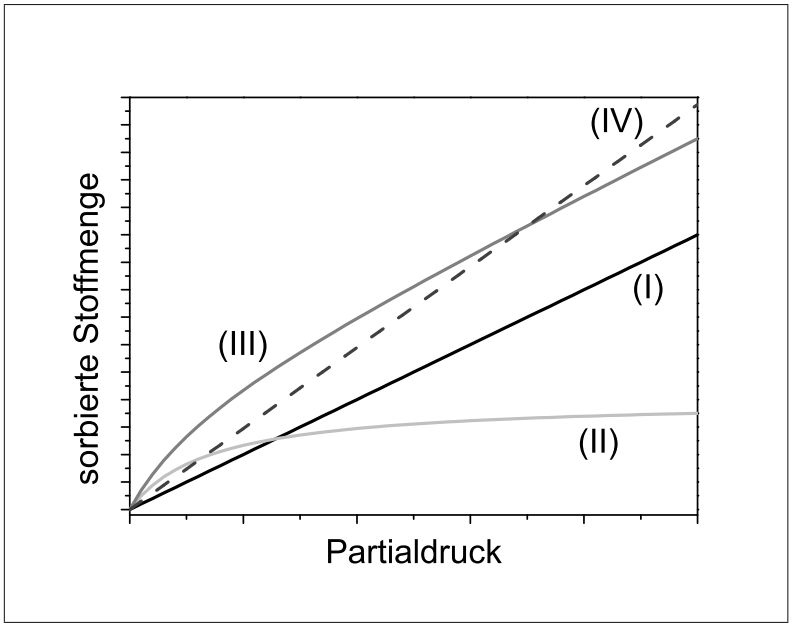

Abbildung 2.6: Simulation der Sorptionsisothermen nach den Gesetzen von Henry (I), Langmuir (II), Henry-Langmuir (III) und Flory-Huggins (IV).

Abbildung 2.6 gibt die simulierten Isothermen nach den Gesetzen von Henry und Langmuir wieder. Außerdem sind eine überlagerte Isotherme nach Henry-Langmuir sowie eine Sorptionsiotherme nach Flory-Huggins dargestellt.

2.6.3. Poröse Polymere

Hohlraum	ultramikroporös	mikroporös	mesoporös	makroporös
V $[nm^3]$	< 0.2	0.2 - 4.2	4.2 - 65000	> 65000

Tabelle 2.1: Klassifizierung der Porengröße nach IUPAC.

Amorphe Polymere werden, wie in Tabelle 2.1 dargestellt, je nach Porenvolumen in vier Kategorien eingeteilt. Dabei besitzen ultramikro- und mikroporöse Systeme einen Molekularsiebeffekt, da die mittlere Porengröße im Bereich der Molekülgröße

von gasförmigen Analyten liegt. Je größer der Analyt ist, desto stärker wird dessen Sorption aufgrund der vorliegenden Porengrößenverteilung gehemmt (Abbildung 2.5).

Das Porenvolumen lässt sich durch Positronenlebensdauerspektroskopie [82] und in Anlehnung an Dubinin-Raduskevitch nach dem BET-Verfahren [83] bestimmen.

2.6.3.1. Ultramikroporöse Polymere

Ein ultramikroporöses Polymer reagiert auf eine Exposition von gasförmigen Analytmolekülen durch eine Änderung des Brechungsindexes und der Schichtdicke. Die Aufnahme der Moleküle führt in der Regel zu einer Zunahme des Brechungsindexes, da Luftmoleküle aus den Poren verdrängt und durch Gasmoleküle mit einem höheren Brechungsindex ersetzt werden. Durch die Analyteinlagerung wird eine Zunahme der Schichtdicke, also ein Anschwellen der Schicht, beobachtet. Bedingt durch die Porenvolumenverteilung ist die Schwellung abhängig von der Molekülgröße (siehe Abbildung 2.5). Bei niedrigen Partialdrücken (Konzentrationen) findet zunächst eine Sorption der Analyten in die Poren statt, nur eine geringe Schichtdickenzunahme ist zu beobachten. Nachdem fast alle zugänglichen Poren mit Analytmolekülen gefüllt sind, findet eine weitere Sorption in das Polymernetzwerk statt. Die Sorptionsisotherme eines ultramikroporösen Polymers kann durch eine Überlagerung von Henry- und Langmuirisothermen beschrieben werden (siehe Abbildung 2.6).

Der Einsatz von ultramikroporösen Polymeren in Sensorarrays mit mehreren unterschiedlichen Polymeren zur Quantifizierung von Gemischen ist in [121] beschrieben. Durch ihr definiertes Porenvolumen zeigen sie einen Molekularsiebeffekt, der technisch auch zur Trennung von Gasen eingesetzt wird. Dieser Effekt kann in der Sensorik unter Ausnutzung der daraus resultierenden Unterschiede in der Wechselwirkungskinetik zur Quantifizierung von Analytgemischen mit Einzelsensoren ausgenutzt werden [122]. Die geringe Selektivität macht jedoch den Einsatz von chemometrischen Datenauswertungsmethoden zur Klassifizierung oder Quantifizierung von Analyten notwendig. Das Ansprechverhalten, die Stabilität sowie die Reversibilität der Wechselwirkung von Makrolon mit Analytmolekülen wurde für relativ dicke Schichten in [17] untersucht. Die Quantifizierung von Freongemischen mit einer einzelnen, etwa 60 nm dicken Makrolonschicht wurde in [123] beschrieben.

2.6.4. Polymere zur chiralen Erkennung

Die Trennung chiraler Verbindungen ist schon seit über 150 Jahren von großem Interesse. Bereits 1848 gelang es Pasteur manuell Weinsäurekristalle zu trennen. Henderson und Rule führten 1939 die Trennung von Campher mit Lactose als stationärem Material durch [71]. Die erste Trennung von Aminosäurederivaten auf einer Polysiloxanphase mit Hilfe der Gaschromatographie wurde im Jahre 1966 von Gil-Av beschrieben [72]. Seither wurden große Fortschritte bei der chiralen Trennung gemacht, weshalb sie auch in den letzten Jahren weiterhin ein interessantes Forschungsgebiet geblieben ist.

Sensoren zur Detektion von Enantiomeren sind von großem Interesse, da eine online-Überwachung von Produktionsprozessen und ein Einsatz in der medizinischen Diagnostik immer wichtiger werden. Häufig ist nur ein Enantiomer bioaktiv und somit pharmakologisch wirksam. Ein deutlicher Zeit- und Kostenvorteil kann hierbei durch den Einsatz von Sensoren erreicht werden. Da jedoch bei einem Sensor nur ein theoretischer Boden, und somit ein Absorptions- und ein Desorptionsprozess zur Verfügung steht, während eine chromatographische Trennung aus einer Akkumulierung vieler tausend theoretischer Böden besteht, ist die chirale Erkennung auf einem Sensor eine besondere Herausforderung. In den letzten Jahren wurden unterschiedlichste Ansätze zur chiralen Erkennung mit optischen Sensorsystemen unternommen [73–75].

2.6.4.1. Ansätze zur chiralen Erkennung

Mehrere verschiedene Ansätze für die Auswahl eines geeigneten sensitiven Materials für die Sensoroberfläche zur chiralen Erkennung wurden in der Literatur vorgeschlagen:

Cyclodextrine: Cyclodextrine sind in der Lage, in ihrer zentralen Kavität enantioselectiv Moleküle einzulagern. Zur Anwendung von Cyclodextrinen in der Sensorik siehe zum Beispiel [75].

Molekulargeprägte Polymere: Molekulargeprägte Polymere wurden in den letzten Jahren ebenfalls zu Detektion chiraler Verbindungen eingesetzt [79].

Fluoreszenzsensoren: Photolumineszenz wird bereits seit einigen Jahrzehnten zur chiralen Trennung eingesetzt. In den letzten Jahren wurden einige Anwendungen für

die Sensorik in der Literatur beschrieben [73].

Amidphasen: Eines der Hauptprinzipien der chiralen Erkennung in der Kapillargaschromatographie (cGC) und Sensorik stellt die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen der optisch aktiven Komponente und der stationären Phase dar. Feibusch und Gil-Av haben hierfür eine schnelle und reversible Ausbildung eines Komplexes zwischen Carbonyl- und Amidfunktion von Selektor und Selektand vorgeschlagen [76]. Je nach relativer Konfiguration können sich unterschiedlich stabile Komplexe ausbilden.

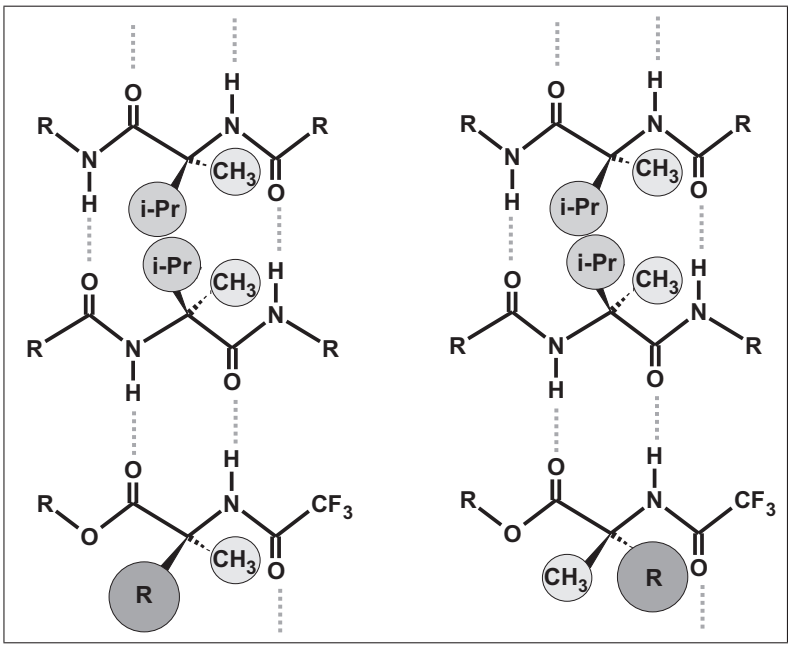

Abbildung 2.7: Komplex zwischen N-TFA-Aminosäurederivate und Diamidphase (Links: L, L; Rechts: L, D).

Abbildung 2.7 zeigt die Ausbildung der Wasserstoffbrückenbindungen zu einer Diamidphase und die dabei möglichen Komplexe je nach Konformation des Enantiomers [77]. Die Enantioselektivität dieser Komplexe beruht auf der unterschiedlichen Anordnung von Isopropylgruppen in der Diamidphase. Ebenfalls lässt sich die höhere Stabilität zwischen L-Selektor und L-Aminosäurederivat gegenüber L-Selektor und D-Aminosäurederivat erklären [78]. Die Trennung auf dem in dieser Arbeit verwendeten L-Chirasil-Calix kann ebenfalls durch dieses Modell beschrieben werden.

2.6.4.2. Beschreibung der chiralen Erkennung

Die in der Gaschromatographie erhaltenen Retentionszeiten stellen die Summation vieler Absorptions- und Desorptionprozesse da. Die Peaks lassen sich hinsichtlich

zweier Größen auswerten: die Fläche unter dem Peak gibt die Stoffmenge und die Retentionszeit die Stärke der Wechselwirkung zwischen Selektor und Analytmolekül wieder. Daher können mit einer geeigneten Phase zwei Enantiomere aus einem Gemisch bestimmt werden. Sensorsignale hingegen stellen die Verteilung von Analyten zwischen der Gasphase und dem Polymer dar. Es wird also nur eine Information pro Phase erhalten.

Zur Quantifizierung der Trennfähigkeit einer stationären Phase wurde der Trennfaktor α definiert. Er gibt das Verhältnis der Nettoretentionszeiten wieder und ist so definiert, dass er immer größer 1 ist:

$$\alpha_{GC} = \frac{t_{Analyt_1} - t_0}{t_{Analyt_2} - t_0} \text{ mit } t_{Analyt_1} > t_{Analyt_2} \tag{2.38}$$

t ist die Retentionszeit und t_0 die Totzeit der Säule .

In Analogie wurde in [81] ein Trennfaktor α für die Sensorik definiert:

$$\alpha_{L-Sensor} = \frac{\text{Sensorsignal}_{L-Analyt}}{\text{Sensorsignal}_{D-Analyt}} \tag{2.39}$$

α gibt das Verhältnis der beiden Gleichgewichtskonstanten der beiden chiralen Analyten $K_{(L)-Analyt}$ und $K_{(D)-Analyt}$ an. Im Gegensatz zur Gaschromatographie kann α Werte größer und kleiner als 1 annehmen. Er gibt die Stärke der Wechselwirkung auf dem entsprechenden sensitiven Material wieder.

2.6.5. Molekulargeprägte Polymere

2.6.5.1. Einführung und Grundlagen

Die Nachahmung molekularer Erkennungsstrukturen ist eine der größten Herausforderungen in der Chemie im Nanometerbereich. Hierbei sollen biologische Rezeptoren durch stabilere Systeme geringer Komplexität nachgebildet werden. Molekulargeprägte Polymere stellen eine Möglichkeit zur maßgeschneiderten Herstellung robuster künstlicher Rezeptoren für eine Vielzahl von Anwendungen dar. Diese Materialien können beispielsweise in Bereichen mit einem großen Bedarf an selektiven Trennungen, Extraktionen oder zu Messungen von nieder- oder makromolekularen Substanzen aus biologischen Matrizes eingesetzt werden. Auch ein Einsatz dieser künstlichen Rezeptoren zur Entfernung unerwünschter Komponenten aus Lebensmitteln oder der Umwelt ist denkbar.

Molekulargeprägte Polymere nehmen in Hinsicht auf Sensitivität und Selektivität eine Stellung zwischen den hochspezifischen Biorezeptoren und den relativ unspezifischen Polymeren ein. Besonders interessant für den Einsatz unter realistischen Umweltbedingungen ist ihre gegenüber Antikörpern erhöhte Stabilität. In Tabelle 2.2 sind Vor- und Nachteile von molekulargeprägten Polymeren gegenübergestellt [84].

Vorteile	**Nachteile**
kostengünstige Alternative zu Antikörpern	niedrigere katalytische Fähigkeiten als biologische Gegenstücke
thermisch und chemisch stabiler als Antikörper	Heterogenität der Bindungsstellen erniedrigt die Affinität
herstellbar in unterschiedlichen Formaten (bead / block / thin film)	Affinitätsverlust durch das so genannte „template bleeding“
lagerbar über mehrere Jahre ohne Affinitätsverlust	Herstellung homogener Partikel manchmal schwierig
relativ einfache Bulkpräparation	

Tabelle 2.2: Zusammenfassung der Vor- und Nachteil von nicht-kovalent geprägten Polymeren beim Einsatz in der Analytik.

Molekulargeprägte Polymere wurden 1972 erstmals von Wulff beschrieben [85, 86]. Generell wird hierbei ein funktionelles Wirtspolymer in Gegenwart eines Templatmoleküls synthetisert. Das sehr variable Design dieser Bindungsstellen für industriell wichtige und umweltrelevante Zielsubstanzen ermöglicht den Einsatz molekulargeprägter Polymere für die unterschiedlichsten analytischen Methoden:

Chromatographie: Molekulargeprägte Polymere werden in der Flüssigchromatographie in vielen Gebieten eingesetzt. Zielanalyte sind zum Beispiel Aminosäuren und ihre Derivate, sowie Nukleotidbasen, Drogen oder Pestizide. Eine Übersicht über die Verwendung der MIP in der Chromatographie finden sich zum Beispiel in [84,88].

Spektroskopische Detektionsmethoden: In der Literatur sind unterschiedliche Transduktionsprinzipien für den Einsatz von molekulargeprägten Polymeren in der Sensorik beschrieben. Zur Detektion von Analyten lassen sich etwa die elektrischen Eigenschaften der MIP bei der Wechselwirkung ausnutzen. Gemessen werden mit diesen Sensoren entweder die Änderung der Leitfähigkeit [89] oder es werden amperometrische Messungen durchgeführt [90]. Quarzmikrowagen (QMB) und Oberflächenschallwellendetektion wurden ebenfalls für den Nachweis von aromatischen

und halogenierten Kohlenwasserstoffen sowie polycyclischen Aromaten in wässriger Phase eingesetzt [91–93]. Durch Fluoreszenzmessungen an molekulargeprägten Polymeren lassen sich Analyten wie etwa Dansyl-L-Phenylalanin oder polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe nachweisen [94, 95]. Zur Identifizierung und Aufklärung von Wechselwirkungsmechanismen zwischen einem Templatmolekül und einer Erkennungstruktur wird die Infrarotspektroskopie eingesetzt. Hierbei werden häufig die OH- und NH-Streckschwingungen beobachtet, die durch Ausbildung von Wasserstoffbrücken zu niedrigeren Frequenzen verschoben werden [96, 97]. Von Jakusch et. al. wurde ein Evaneszentfeld-IR-Sensor für 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure mit hoher molekularer Spezifität entwickelt [98]. Reflektometrische Interferenzspektroskopie lässt sich ebenfalls als Transduktionsprinzip für molekulargeprägte Polymere einsetzen [79].

Oberflächenplasmonenresonanz wurde bisher relativ selten in Kombination mit molekulargeprägten Polmeren eingesetzt. Taniwaki et. al. haben die Trennung von Adenosin und Guanosin beschrieben [99]. Weitere Beispiele für den Einsatz von MIP in SPR-Sensoren finden sich in [100], wobei hier außerdem eine Zusammenfassung von molekulargeprägten Polymeren in der Sensorik gegeben wird. Ein Überblick über den Einsatz molekulargeprägter Polymere zum Nachweis in wässriger Phase findet sich in [101].

Membranen: Die Nukleotidbase Adenosin lässt sich beispielsweise durch molekulargeprägte Polymere als Membran aus wässrigen Phasen entfernen [87]. Darüber hinaus lassen sich solche Membranen in Leitfähigkeitsmesszellen einsetzen [102].

Immunoassays: MIP lassen sich in Immunoassays für Arzneimittel (z.B. Theophyllin, Diazepam) oder Herbizide einsetzen, wobei es möglich ist, sehr niedrige Nachweisgrenzen bei geringen Querempfindlichkeiten zu erreichen [103, 104].

Katalyse: Molekulargeprägte Polymere lassen sich als Katalysatoren, die ähnlich wie Enzyme arbeiten, einsetzen. Hierbei ist es möglich, die geprägten Kavitäten so zu erzeugen, dass sie den aktiven Zentren eines Enzyms ähneln. Eine grundlegende Übersicht findet sich in [105].

2.6.5.2. Präparation von MIP

Molekular geprägte Polymere werden in Gegenwart eines Templatmoleküls als Formkörper für die Erzeugung der komplementären Bindungsstellen hergestellt. Die für

ein Templatmolekül selektiven funktionellen Monomere werden in Gegenwart dieses Gastmoleküls ausgerichtet und danach durch Zugabe eines großen Überschusses eines geeigneten Quervernetzers in einem porogenen Lösungsmittel durch Polymerisation zu einem starren Gerüst verbunden. Der hohe Grad an Quervernetzung erzeugt eine sehr rigide Struktur, die bedingt durch das porogene Lösungsmittel makroporös vorliegt. Das Templatmolekül wird nun im nächsten Schritt entfernt. Die komplementären Bindungsstellen bleiben zurück. Durch die Auswahl geeigneter funktioneller Monomere ist es somit möglich, hochspezifische Bindungsstellen in definierter Form und in vorgegebener Anordnung zu erhalten. Bei der Synthese werden zwei unterschiedliche Ansätze bei der Anordnung der Monomere unterschieden:

Nicht-kovalentes Prägen: Das Prinzip des nicht-kovalenten Prägens wurde 1988 von Mosbach in der Literatur beschrieben [106]. Die Anordnung zwischen den Monomeren und dem Templat beruht auf nicht-kovalenten oder metallkoordinierten Wechselwirkungen.

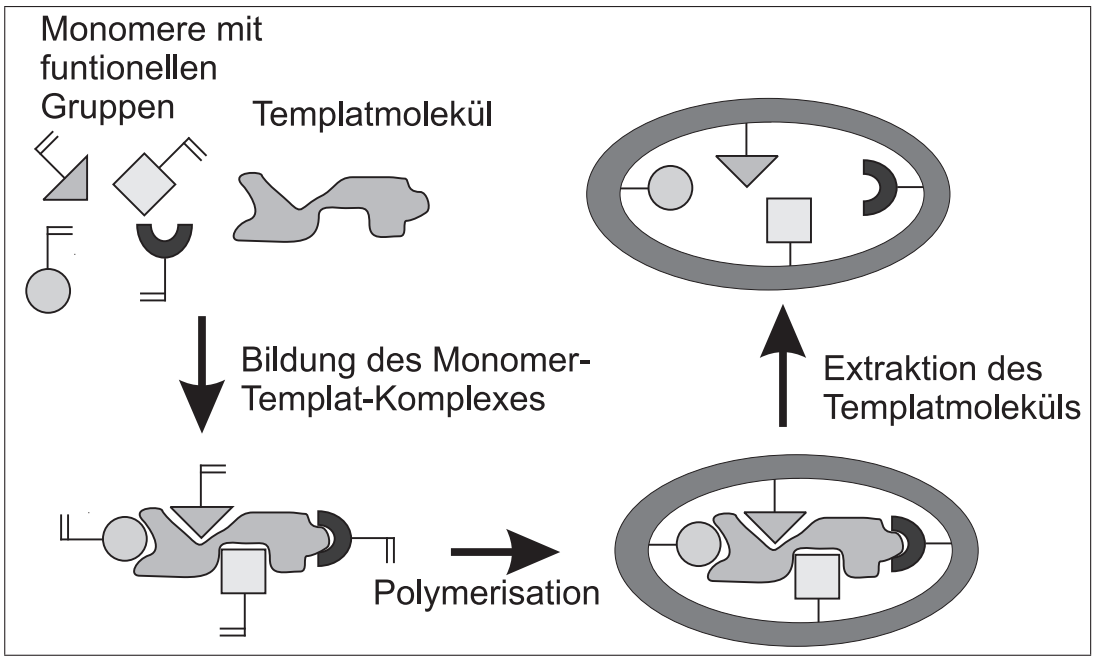

Abbildung 2.8: Schematische Darstellung des nicht-kovalenten Prägens.

Der Prozess des nicht-kovalenten Prägens ist schematisch in Abbildung 2.8 dargestellt. Im ersten Schritt werden die funktionellen Monomere und das Templat in einem geeigneten Lösungmittel gelöst. In einer Gleichgewichtsreaktion bildet sich ein Monomer-Templat-Komplex aus. Dieser wird durch Zugabe eines geeigneten Quervernetzers in ein Polymergerüst eingebunden. Hierbei werden die geprägten Bindungststellen ausgebildet. Nach der Extraktion des Templatmoleküls durch das

Lösungsmittel liegen die molekülspezifischen Hohlräume in ihrer endgültigen räumlichen Anordnung vor.

Die Wechselwirkung zwischen geprägtem Polymer und Templatmolekül können auf folgenden Prinzipien beruhen:

- Wasserstoffbrückenbindungen
- Dipolare Wechselwirkungen
- Ionische Wechselwirkungen
- Hydrophobe Wechselwirkungen
- Sterische Kavitäten
- π-π-Wechselwirkungen

Hierbei sind die letzten drei Wechselwirkungsarten um etwa zwei Größenordnungen schwächer als die elektrostatischen Effekte.

Monomere: Die Monomere für das nicht-kovalente Prägen enthalten neben einer endständigen Vinylgruppe zur Polymerisation entweder Säure- oder Basegruppen, da hierüber ionische oder Wasserstoffbrückenbindungen ausgebildet werden können. Typische Monomere sind in Abbildung 2.9 dargestellt.

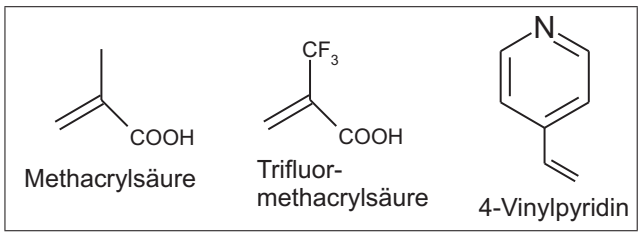

Abbildung 2.9: Monomere für nicht-kovalentes Prägen.

Quervernetzer: In Abbildung 2.10 sind gebräuchliche Quervernetzer dargestellt. Verbindungen wie Ethylenglycoldimethacrylat (EDMA) und Divinylbenzol (DVB) werden wegen ihrer Bifunktionalität verwendet. Acrylate besitzen den Vorteil sehr robuste Polymernetzwerke auszubilden, die einen dauerhaften Abdruck des Templatmoleküls gewährleisten.

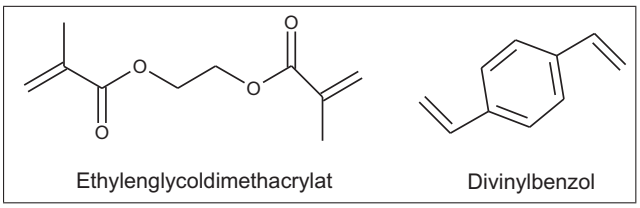

Abbildung 2.10: Quervernetzer zur Polymerisation.

Kovalentes Prägen: Die Monomere und das Templat werden hierbei durch reversible kovalente Bindungen zusammengehalten [107]. Auf das kovalente Prägen soll im Rahmen dieser Arbeit nicht näher eingegangen werden.

2.6.5.3. Molekulargeprägte Nanopartikel

Die Immobilisierung von molekulargeprägten Polymeren auf einer Sensoroberfläche stellt eine große Herausforderung dar. Die geprägten Polymere können einerseits direkt auf der Sensoroberfläche synthetisiert werden, was jedoch relativ hohe Anforderungen an die notwendige Laborpraxis stellt. Probleme können sich beispielsweise bei der Herstellung der sensitiven Schichten durch die Reproduzierbarkeit ergeben. Ein alternativer Ansatz zu dieser on-chip-Polymerisierung ist die Verwendung von geprägten Nanopartikeln. Diese Nanopartikel können separat hergestellt und relativ einfach über ein Schichtsystem auf der Oberfläche immobilisiert werden. Dies soll am Beispiel der auf Benzo-[a]-Pyren geprägten Partikel verdeutlicht werden. Zunächst wird eine Goldoberfläche mit einer Monolage Cysteamin beschichtet. Hierauf wird eine polyanionische Zwischenschicht aus Poly-2-acrylamido-2-methyl-1-propan-sulfonsäure (PAMPS) aufgebracht. Die Nanopartikel werden auf diesem Schichtsystem mittels elektrostatischer Kräfte festgehalten. In Abbildung 2.11 ist dieses Schichtsystem schematisch dargestellt. Die so erhaltenen Schichten sind langzeitstabil und lassen sich durch Ersetzen des Cysteamins durch ein Aminosilan für verschiedene Transduktionsprinzipien einsetzen.

Das Prägen der Nanopartikel auf polyaromatische Kohlenwasserstoffe (PAH) stellt wegen der geringen Anzahl an funktionellen Gruppen in diesen Verbindungen eine besondere Herausforderung dar. Bisher wurden molekulargepägte Polymere für PAH nur von drei Gruppen beschrieben. Dickert et. al. beschrieben die optimierte Wechselwirkung zwischen den π-π-Bindungen für Bisphenol A [108, 109]. Die Herstellung eines MIP für 1-Hydroxypyren ist in [110] beschrieben. Die Präparation der hier verwendeten auf B[a]P geprägten Polymere findet sich in [111].

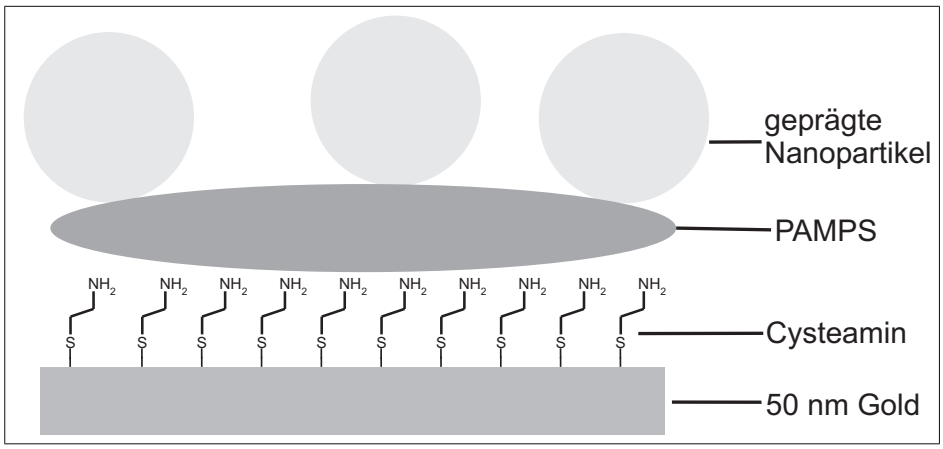

Abbildung 2.11: Schematische Darstellung des geprägten Schichtsystems bestehend aus 50 nm Goldschicht, Cysteamin- sowie PAMPS-Zwischenschicht sowie geprägten Nanopartikeln.

2.6.6. Poly-(ethylen-co-acrylsäure)-copolymere

Die Hochleistungflüssigkeitschromatographie (HPLC) hat sich seit ihrer Einführung vor rund 30 Jahren zu einer der wichtigsten Trenntechniken in der modernen Analytik entwickelt. Neben den weithin verbreiteten C_8- und C_{18}-Trennphasen, deren Eigenschaften allerdings nicht für alle Trennprobleme ausreichen, spielen vor allem für die Auftrennung von Naturstoffen noch längere Kohlenstoffketten eine wichtige Rolle. So werden neben C_{30}-Phasen auch Polymerphasen, die zum Beispiel aus Poly-(ethylen-co-acrylsäure)-copolymeren zusammengesetzt sind, eingesetzt. Die ausführliche Charakterisierung der Eigenschaften von Trennphasen ist erforderlich, da die Auswahl einer optimalen stationären Phase für das gegebene Trennproblem von entscheidender Bedeutung ist. Zur Auftrennung von β-Carotin-Stereoisomeren lassen sich sowohl C_{30}- als auch Poly-(ethylen-co-acrylsäure)-Phasen einsetzen. Die Acrylsäurephasen lassen sich allerdings wesentlich höher beladen, was besonders für präparative Trennungen in Produktionsprozessen von entscheidender Bedeutung ist [112].

3. Experimenteller Teil

3.1. Geräte

3.1.1. SPR-Aufbau

Für die Oberflächenplasmonenmessungen wurde ein Aufbau nach der Kretschmann-Anordnung verwendet (siehe Abbildung 3.1).

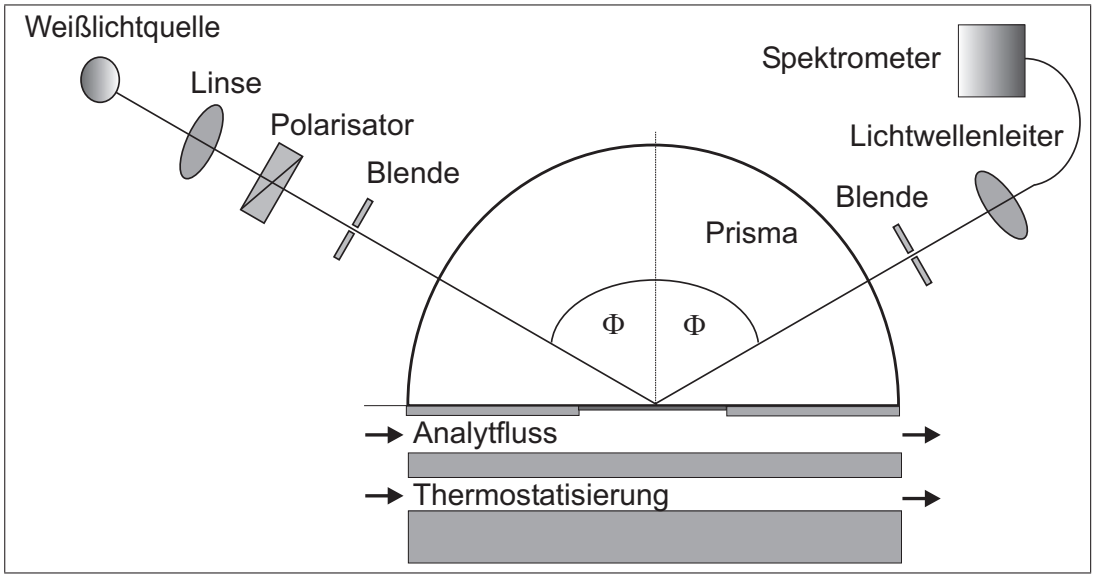

Abbildung 3.1: Schematische Darstellung des SPR-Messaufbaus nach der Kretschmann-Konfiguration.

Weißlicht (5 W, Welch-Allyn, New York) wurde unter einem konstanten Winkel auf ein Halbrundprisma eingestrahlt. Durch einen Polarisator (560 - 720 nm, Spindler & Hoyer, Göttingen) wurde das Licht für die Messungen parallel und zur Referenzierung senkrecht zur Einfallsebene polarisiert. Das reflektierte Licht wurde über einen Polymerlichtwellenleiter (d = 1 mm, Laser Components GmbH, Olching) zu einen Spektrometer (MMS, Jenoptik, Jena) geführt und dort detektiert. Der Einstrahlwinkel wurde so gewählt, dass die Oberflächenplasmonen im Wellenlängenbereich zwischen 600 bis 700 nm angeregt wurden. Die Temperatur der Messzelle wurde

durch einen Thermostaten (F34 MD, Julabo Labortechnik GmbH, Seelbach) mit einer Konstanz von ± 0.01 K reguliert. Da eine Messung der Temperatur der sensitiven Schichten nicht möglich war, wurde die eingestellte Temperatur als Messtemperatur angenommen. Für die temperaturaufgelösten Messungen wurde zusätzlich mit einem Thermometer die Temperatur an der Flusszelle gemessen.

3.1.2. RIfS-Aufbau

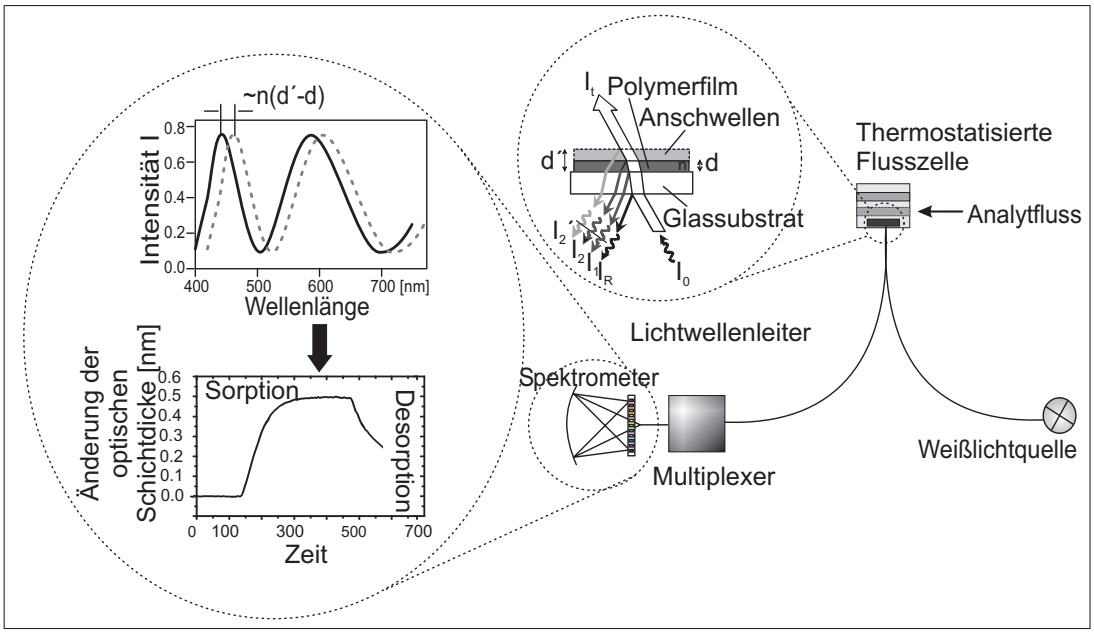

Abbildung 3.2: Schematischer Aufbau des RIfS-Aufbaus (Bild entnommen aus [113]).

In Abbildung 3.2 ist der für die RIfS-Messungen verwendete Aufbau schematisch dargestellt. Der verwendete Messaufbau ermöglicht die sequentielle Erfassung von bis zu 13 sensitiven Schichten mit Hilfe eines optischen Faserschalters. Eine detaillierte Beschreibung des Aufbaus findet sich in [114]. Für die vergleichenden SPR- und RIfS-Messungen wurde der gleiche Spektrometertyp verwendet.

3.1.3. Gasmischanlage

Mit Hilfe von Massenflussreglern (1259C, 00100SV - 01000SV, MKS Instruments, München) wurden definierte Gasströme erzeugt. Zu einem definierten Trägergasstrom aus gereinigter Luft (TOC-Gas-Generator TG8000, Porter Instruments, Co. Inc., Hatfiled, USA) wurden analythaltige Nebengasströme gemischt. Die entsprechenden Analyten wurden hierbei aus mit Chromosorb (Chromosorb W-AW bzw.

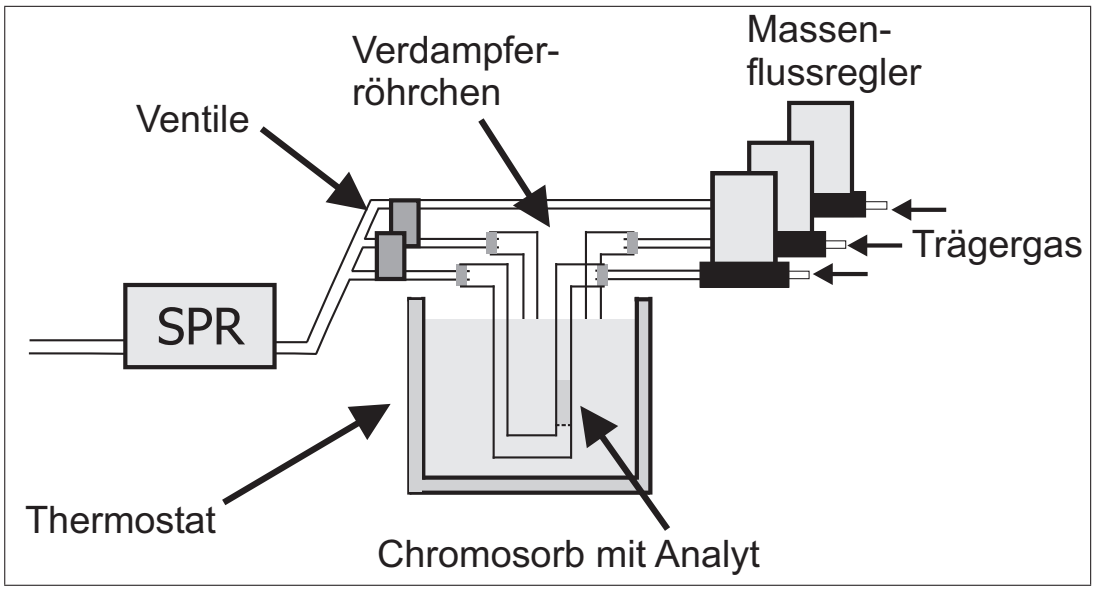

Abbildung 3.3: Schematische Zeichnung der Gasmischanlage

W-AW-DMCS, Macherey-Nagel, Düren) gefüllten Verdampferröhrchen durch Evaporation erzeugt (siehe Abbildung 3.3). Eine schnelle Gleichgewichtseinstellung des Partialdruckes des betrachteten Analyten ist durch die große Oberfläche des Chromosorbs gewährleistet. Zur Sättigung des Nebengasstroms mit Analyten wurde gereinigte Luft durch die thermostatisierten Verdampferröhrchen (F34 MD, Julabo Labortechnik GmbH, Seelbach) geleitet. Durch Zumischung des Nebengasstroms zum Trägergasstroms wurde ein konstanter Gesamtgasstrom während der gesamten Messzeit eingestellt. Durch Variation der Verdampfungstemperatur konnten die gewünschten Analytkonzentrationen über einen großen Bereich eingestellt werden. Die eingestellten Gasströme wurden mit Hilfe eines Durchflussmessgeräts (Intelligent Flowmeter ADFM 3000, J & W Scientific Fisons, USA) überprüft. Eine schnelle Umschaltung zwischen reiner und analythaltiger Luft wurde durch Verwendung eines 4-Wege-Ventils realisiert [114].

Der Sättigungsdampfdruck der Analyten lässt sich nach der Formel von Antoine bestimmen:

$$\log p = A - \frac{B}{t + C} \tag{3.1}$$

Die Parameter A, B und C sind für viele Stoffe tabellierte Konstanten, t ist die Temperatur in °C. Die in dieser Arbeit verwendeten Antoine-Parameter wurden aus [119] entnommen.

3.1.4. Flüssigaufbau

Für die Messungen in der flüssigen Phase wurde der in Abbildung 3.4 dargestellte Aufbau verwendet. Die Messzelle konnte über das Load-Inject-Ventil (E60-230, Vici Valco Instruments Co. Inc., Schenkon, Schweiz) abwechselnd mit Spül- und Probenlösung beschickt werden. Es wurde eine 5 ml Probenschleife für die Messungen verwendet. Die Fliesgeschwindigkeit wurde über eine Pumpe (Reglo Dig MS-2/8, Ismatec SA, Glattburg-Zürich, Schweiz) reguliert. Die Messzelle wurde durch einen Thermostaten temperiert.

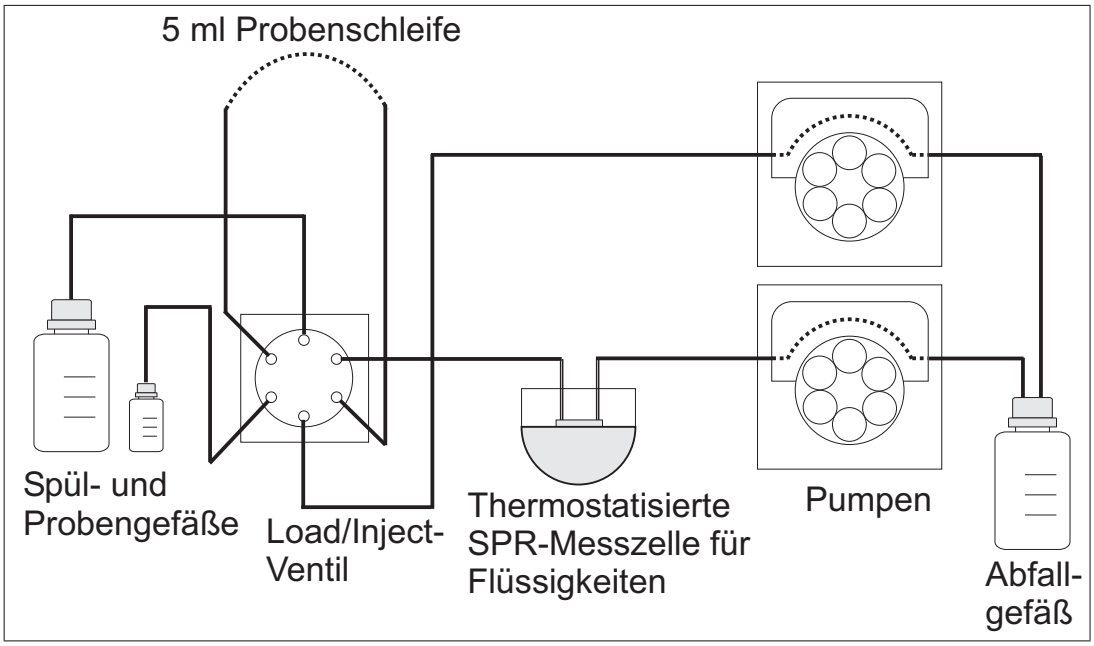

Abbildung 3.4: SPR-Aufbau für Messungen in der flüssigen Phase

3.1.5. Kommerzielle Geräte

- Spektrales Ellipsometer ES4G, SOPRA, Paris, Frankreich
- Nullellipsometer ELX-02-C, Dr. Riss Ellipsometerbau, Ratzeburg
- Oberflächenprofilmessgerät Alpha Step 500, Tencor Instruments, Mountain View, Kalifornien, USA
- Kontaktwinkelmessgerät CAM 200, KSV, Helsinki, Finnland
- Aufdampfanlage PLS 570, Pfeiffer-Vakuum, Asslar
- Spincoater Convac 1001, Convac, Wiernsheim

- AFM Multimode^{TM} SPM-Gerät, Digital Instruments, Santa Barbara, Kalifornien, USA

3.2. Materialien

3.2.1. Glasprismen, Glassubstrate und Siliziumwafer

Glasprismen: Für die SPR-Messungen wurden Halbrundprismen mit einem Durchmesser von 42 mm und einer Grundfläche von 42 mm × 21 mm aus BK7- bzw. NPH2-Glas verwendet. Die Oberflächenplasmonenresonanzwellenlänge wurde jeweils mit Hilfe der Cauchy-Parameter berechnet [17].

Glastransducer: Für die RIfS-Messungen wurden einseitig beschichtete Glastransducer (1 mm D263 / 45 nm Ta_2O_5 / 20 nm SiO_2) mit einer Größe von 8 mm × 8 mm der Firma Schott aus Mainz verwendet. Das aufgebrachte Schichtsystem dient zur Erhöhung der Reflektivität [53].

Siliziumwafer: Es wurden Siliziumsubstrate der Firma Wacker Chemie, Burghausen benutzt. Die Wafer wurden in 10 mm × 10 mm bzw. 20 mm × 20 mm große Stücke geschnitten. Sie bestehen aus reinem Silizium mit einer etwa 2 nm starken natürlichen SiO_2-Schicht.

3.2.2. Sensitive Polymerschichten

3.2.2.1. Makrolon M2400

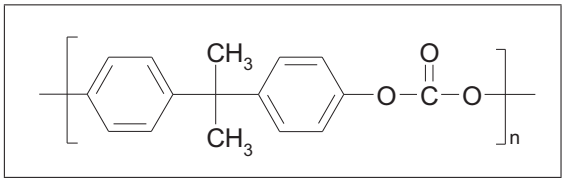

Abbildung 3.5: Struktur eines Makrolonmonomers.

Makrolon (Bayer AG, Leverkusen) besitzt ein mittleres freies Porenvolumen von 0,1 nm^3 mit einer Halbwertsbreite von 0,04 nm^3 [55]. Laut Informationsdatenblatt der Bayer AG beträgt der Brechungsindex n_D = 1,586 und die Glastemperatur T_G = 418 K.

3.2.2.2. Poly-(n-butyl-methacrylat)

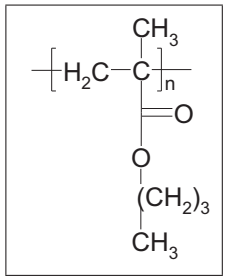

Abbildung 3.6: Struktur eines Poly-(n-butyl-methacrylat)-Monomers.

Poly-(n-butyl-methacrylat) (PBMA) besitzt eine Glastemperatur von 293 K [54]. Somit findet eine Umwandlung vom glasartigen in den gummiartigen Zustand in einem, mit dem in Kapitel 3.1.1 beschriebenen Aufbau, zugänglichen Bereich statt. Messungen ober- und unterhalb der Glasübergangstemperatur können einen Einblick in das Wechselwirkungsverhalten von verschiedenen Analyten mit dem Polymernetzwerk in diesem Bereich geben.

3.2.2.3. L-Chirasil-Calix

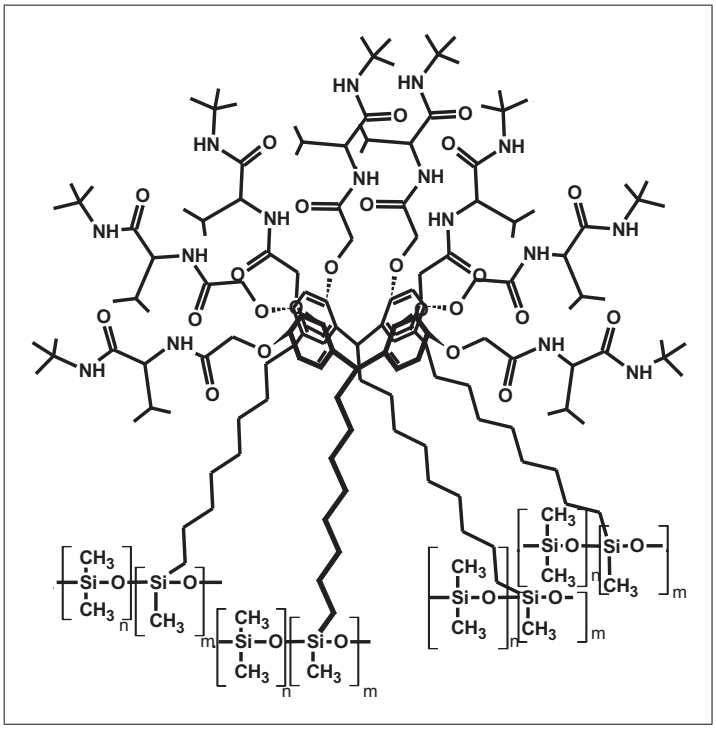

Abbildung 3.7: Schematische Darstellung von L-Chirasil-Calix.

Calixarene sind kelchförmige Cyclooligomere, die durch Phenol-Formaldehyd-Kondensation hergestellt werden können. Sie besitzen eine relativ rigide Struktur bestehend aus einer Ober- und einer Unterkante, an denen jeweils funktionelle Seitengruppen sitzen können. Zur Beeinflussung der Eigenschaften der Calixarene kann aus einer großen Anzahl von funktionellen Gruppen ausgewählt werden. Der im Rahmen dieser Arbeit verwendete Selektor war auf der einen Seite mit chiralen Amiden modifiziert, während die andere Seite an ein Polydimethylsiloxangerüst gebunden war, siehe Abbildung 3.7. Hieraus resultiert die gute thermische Stabilität sowie eine hohe Langzeitstabilität. Die Synthese des Calixarensystems ist in [56] beschrieben.

3.2.2.4. Poly-(ethylen-co-acrylsäure)-copolymere

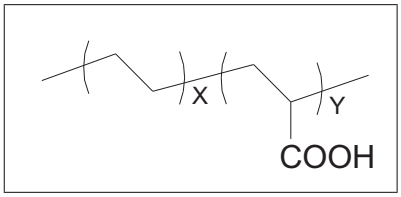

Abbildung 3.8: Struktur der Poly-(ethylen-co-acrylsäure)-copolymers.

Die hier untersuchten drei Poly-(ethylen-co-acrylsäure) Copolymere (siehe Abbildung 3.8) unterscheiden sich in ihrer mittleren Kettenlänge und ihrem Säuregehalt. Die Daten der Copolymere sind in Tabelle 3.1 zusammengefasst. Diese Copolymere sind besonders für den Einsatz in der Flüssigchromatographie interessant [57]. Für ein besseres Verständnis des Einflusses der Struktur auf die Trenneigenschaften ist eine Untersuchung der auf der Oberfläche immobilisierten Polymerketten in Abhängigkeit vom Säureanteil der Copolymere notwendig.

Phasenname	X-Kettenlänge	Y-Kettenlänge	Säureanteil [%]
A	119	2,4	5
B	77	3,3	10
C	33	2,3	15
D	119	2,4	5

Tabelle 3.1: Eigenschaften der Poly-(ethylen-co-acrylsäure)-copolymere.

3.2.2.5. Polydimethylsiloxan

Das verzweigungsfreie Polydimethylsiloxan (PDMS) wird sowohl in der Sensorik als auch in der Gaschromatographie verwendet. Eine Unterscheidung von Analyten

erfolgt hauptsächlich durch Polarisierbarkeitsunterschiede, wodurch Polydimethylsiloxan als Referenzpolymer gut geeignet ist. Es wurde von ABCR (Karlsruhe) bezogen.

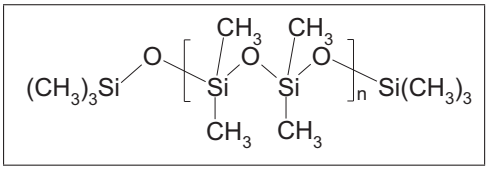

Abbildung 3.9: Struktur von Polydimethylsiloxan.

3.2.3. Verwendete Chemikalien

- Lösungsmittel

Die verwendeten Lösungsmittel wurden von Fluka, Neu-Ulm, Merck KGaA, Darmstadt und Aldrich, Steinheim bezogen.

- Alkohole

Name	Molmasse [g]	Siedetemperatur [K]	Volumen [nm^3]
Methanol	32,04	338	0,068
Ethanol	46,07	351	0,097
1-Propanol	60,10	355	0,125
1-Butanol	74,12	372	0,152

Tabelle 3.2: Eigenschaften der verwendeten Alkohole.

Alle verwendeten Alkohole liegen bei Raumtemperatur als leichtverdampfbare Flüssigkeiten vor. Sie stellen aufgrund ihrer guten Verfügbarkeit und Ungiftigkeit ein gutes Modellsystem für die Messungen dar. Die Molmassen, Siedetemperaturen und das Volumen der vier Alkohole sind in Tabelle 3.2 angegeben.

- Lactatester

Die Enantiomere der Methyl- und Ethyllactatester werden industriell hergestellt, sie stellen somit ein gut erhältliches Modellsystem von chiralen Analyten dar. Auf Grund ihrer hohen Stabilität können sie auch über Jahre hinweg gelagert werden. Beide Enantiomere der beiden Lactatester wurden von Aldrich (Steinheim) bezogen.

- Aminosäurederivate

Die hohen Schmelztemperaturen der Aminosäuren machen eine direkte Messung in der Gasphase unmöglich. Daher müssen beide funktionellen Gruppen geschützt werden. Die Säuregruppe wird hierzu mit einer Methylgruppe verestert, während die Aminofunktion durch eine Trifluoracetylgruppe geschützt wird.

- 3-Glycidoxypropyltrimethoxysilan

3-Glycidoxypropyltrimethoxysilan (GOPTS, 98 %), wurde von Aldrich Chemical Company Inc. (Milwaukee, WI, USA) bezogen.

- 3-Aminopropyltriethoxysilan

3-Aminopropyltriethoxysilan (APS, 98,5 %) wurde von ABCR (Karlsruhe) gekauft.

- 3-Aminopropyldimethylethoxysilan

SiO_2-Oberflächen können mit 3-Aminopropyldimethylethoxysilan (ABCR, Karlsruhe) modifiziert werden.

- Cysteamin

Mit Hilfe von Cysteamin können Goldoberflächen mit einer aminoterminierten Monolage modifiziert werden. Die Aminofunktion steht dann für weitere Modifikationen der Oberfläche zur Verfügung. Das Cysteamin wurde von Fluka (Steinheim) bezogen.

- Poly-2-acrylamido-2-methyl-1-propan-sulfonsäure

Die polyanionische Zwischenschicht aus Poly-2-acrylamido-2-methyl-1-propan-sulfonsäure (PAMPS) dient zur Immobilisierung der molekulargeprägten Nanopartikel auf der Oberfläche. Es wurde von Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim) bezogen.

- Benzo-[a]-Pyren

Das stark lipophile Benzo-[a]-Pyren (B[a]P) gehört zur Gruppe der polycyclischen Kohlenwasserstoffe (siehe Abbildung 3.10 und Tabelle 3.3) [115, 116].

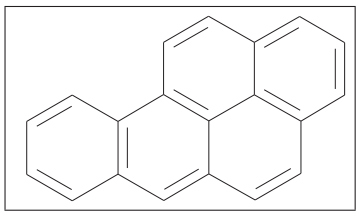

Abbildung 3.10: Strukturformel von Benzo-[a]-Pyren.

Es gilt als endokriner Disruptor und besitzt eine cancerogene Wirkung. Endokrine Disruptoren (Endocrine Disrupting Chemicals, EDC) sind exogene Substanzen, die endogene Hormone in ihrer Wirkungsweise hindern, nachahmen oder den Metabolismus bzw. deren Produktion stören. B[a]P wird durch unvollständige Zersetzung organischer Verbindungen bzw. bei der Pyrolyse organischen Materials gebildet. Es findet sich zum Beispiel in Zigarettenrauch, in Wasser, in der Luft, im Boden und in Meeresorganismen sowie Lebensmitteln. Für die Standardanalytikverfahren, z.B. GC, LC, MS und Fluoreszenzspektroskopie, sind aufwändige Aufkonzentrierungen und große Mengen organischer Lösungsmittel notwendig [111].

Molekülformel & Molmasse	$C_{20}H_{12}$, 252,3 g mol^{-1}
Schmelzpunkt	179,0 - 179,3 ℃
Siedepunkt (13 mbar)	310,0 - 312,0 ℃
Dichte (Plättchen bzw. Nadeln)	1,282 bzw. 1,351 g cm^{-3}
Löslichkeit in Wasser (25 ℃)	3,8 ± 0,31 μ g L^{-1}
löslich in	Benzol, Toluol, Xylol
Stabilität	instabil gegen Licht, Hitze, Luft

Tabelle 3.3: Chemische und physikalische Eigenschaften von B[a]P.

Der von der EU vorgeschriebene Grenzwert für Benzo-[a]-Pyren in Trinkwasser liegt bei 0,01 μg L^{-1} [117, 118].

3.3. Schichtpräparation

3.3.1. Vorbehandlung der Substrate

Die Glas- und Siliziumsubstrate wurden 15 Minuten lang mit frisch angesetzter Piranha-Lösung (Wasserstoffperoxid : konzentrierte Schwefelsäure = 1 : 2) im Ultraschallbad (Sonorex RK100, Bandelin electronic GmbH & Co. KG, Berlin) gereinigt. Anschließend wurden sie mit destilliertem Wasser bis zur Neutralität gewaschen und daraufhin mit bidestilliertem Wasser gespült und im Stickstoffstrom trockengeblasen. Zur Reinigung der mit Silber beschichteten Prismen wurden diese vor einer erneuten Beschichtung mit konzentrierter Salpetersäure, die mit Gold beschichteten mit Cyanidlauge gereinigt, mit bidestilliertem Wasser gespült und im Stickstoffstrom getrocknet.

3.3.2. Aufdampfen der Gold- und Silberschichten

Die Silber- bzw. Goldschichten wurden in einer Vakuumaufdampfanlage (Pfeiffer Vacuum GmbH, Wetzlar mit Aufdampf- und Kontrolleinheit der Firma Telemark, Fremont, Kalifornien, USA) hergestellt. Innerhalb der Evakuierungszeit von 24 h, während sich die Glassubstrate bereits in der Apparatur befanden, wurde mit einer Diffusionspumpe ein Vakuum von mindestens 10^{-11} bar erreicht. Die 50 nm dicken Silberschichten (Silberdraht, > 99,99 %, Goodfellow, Cambridge, UK) wurden direkt thermisch aus einem Wolfram-Schiffchen auf die Glassubstrate mit einer Aufdampfrate von 0,5 - 1 nm/s aufgedampft. Für die Goldschichten wurden zunächst 3 nm Titan als Haftvermittler durch Elektronenstrahlverdampfung aufgebracht. Anschließend wurden 50 nm Gold (Golddraht, > 99,99 %, Goodfellow, Cambridge, UK) thermisch mit einer Aufdampfrate von etwa 1 nm/s abgeschieden. Das Schichtdickenwachstum wurde während der Prozesse mit einem Schwingquarz überwacht.

3.3.3. Präparation der Makrolonschichten

Die Makrolonschichten wurden aus den entsprechenden Lösungen mit Hilfe einer Lackschleuder (Spincoater Convac 1001, Convac, Wiernsheim) aufgebracht. Hierzu wurden die Prismen in eine spezielle Halterung montiert und zwischen 60 und 90 Sekunden mit 3000 Umdrehungen pro Minute rotiert. Die BK7-Glasplättchen wurden durch einen Unterdruck auf der Lackschleuder gehalten und 60 bis 90 Sekunden lang

mit 3000 bis 5000 Umdrehungen rotiert. Es wurden jeweils 20 μl der entsprechenden Makrolonlösung, gelöst in einer Mischung aus Toluol und Chloroform, aufgebracht. Es ergaben sich sehr homogene und reproduzierbare Filme mit einer Stärke zwischen 35 und 430 nm, je nach Rotationsgeschwindigkeit und Dauer. Die Dicken und Homogenitäten der Makrolonschichten wurden mit Hilfe des Alphasteppers und des Spektralellipsometers überprüft.

3.3.4. Präparation der PBMA-Schichten

Die PBMA-Schichten wurden ebenfalls durch Spincoating aus einer 7,5 %igen Lösung in Toluol direkt auf den Prismen hergestellt. Die Dicken und Homogenitäten der PBMA-Schichten wurden mit Hilfe des Alphasteppers und des Spektralellipsometers überprüft.

3.3.5. Präparation der Chirasil-Calix-Schichten

Die Chirasil-Calix-Schichten wurden durch Spincoating aus den entsprechenden Lösungen in Toluol hergestellt. Die Prismen wurden 90 Sekunden lang mit 2000 bis 3000 Umdrehungen pro Minute rotiert. Zum Vergleich wurden Schichten mit den gleichen Parametern auf Interferenzglas und Siliziumwafern präpariert und die Schichtdicke an Hand des Interferenzmusters und durch Spektralellipsometrie bestimmt.

3.3.6. Präparation der MIP-Schichten

Für die Präparation des Schichtsystems auf Goldoberflächen wurden 30 mg Cysteamin in etwa 20 ml Ethanol im Ultraschallbad gelöst. Die Oberflächen wurden über Nacht auf dem Schütteltisch inkubiert und anschließend zweimal mit Ethanol gereinigt. Anschließend wurden 20 mg Poly-2-acrylamido-2-methyl-1-propan-sulfonsäure in 20 ml H_2O_{bidest} gelöst und das Prisma eine Stunde lang mit dieser Lösung in Kontakt gebracht und anschließend mehrmals mit H_2O_{bidest} gespült. Die geprägten und ungeprägten Nanopartikel wurden im Ultraschallbad in Acetonitril gelöst. Das Prisma wurde für eine Dauer von 24 Stunden auf dem Schütteltisch mit der Nanopartikellösung inkubiert. Zur Beobachtung der Bindung der Nanopartikel wurden diese in der Flusszelle über das mit Cysteamin und PAMPS beschichtete Prisma gepumpt und die Bindung durch die Verschiebung der Resonanzwellenlänge beobachtet.

Zur Charakterisierung der Oberflächen wurden diese auf Siliziumwafern präpariert und mit AFM und Ellipsometrie untersucht. Bei der Präparation wurde das Cyste-

amin durch 3-Aminopropyldimethylethoxysilan ersetzt. Das Silan wurde über Nacht an die SiO_2-Oberflächen der Wafer gebunden, die folgenden Präparationsschritte wurden wie oben beschrieben durchgeführt.

3.3.7. Präparation der kovalent gebundenen Co-Acrylsäure-Schichten

Die Immobilisierung der Co-Acrylsäure-Polymere wurde auf Siliziumwafern mit einer nativen SiO_2-Schicht von etwa 2 nm durchgeführt. Die Wafer wurden 15 Minuten lang mit Piranha-Lösung gereinigt und aktiviert, mit H_2O_{bidest} und Stickstoff gereinigt und getrocknet. Anschließend wurde die Schichtdicke der nativen SiO_2-Schicht mit Hilfe der Nullellipsometrie bestimmt. Zum Silanisieren wurden die frisch gereinigten Wafer eine Stunde lang in eine Lösung von 20 ml Toluol mit 20 μl 3-Aminopropyltriethoxysilan bzw. 20 μl Glycidoxypropyltrimethoxysilan gelegt. Nach der Reinigung der Substrate mit Toluol und Stickstoff wurde das Schichtdickenwachstum durch Ellipsometrie bestimmt. Die Copolymere mit 5, 10 und 15 % Säureanteil wurden über eine Peptidkopplungsreaktion an die Aminofunktion des 3-Aminopropyltriethoxysilans gebunden [57], woraus sich Phasen A, B und C ergaben. Das Copolymer mit 5 % Säureanteil wurde außerdem nach [57] an das Glycidoxypropyltrimethoxysilan gebunden.

4. Ergebnisse

4.1. Ultramikroporöse Polymere

Die Wechselwirkungen zwischen Analytmolekülen und sensitiven Schichten können auf unterschiedlichsten Prinzipien beruhen. Neben hochselektiven Erkennungsstrukturen, wie sie zum Beispiel in der Biosensorik verwendet werden, werden für den Einsatz in der Chemosensorik häufig Polymere verwendet, die nur sehr unspezifische Wechselwirkungen zeigen. Sie besitzen die Vorteile kostengünstiger, langzeitstabiler und einfacher verfügbar zu sein. In der Sensorik spielen heute glasartige Polymere eine wichtige Rolle. Durch ihren Molekularsiebeffekt lassen sie sich für viele sensorische Anwendungen einsetzen, siehe hierzu auch Kapitel 2.6.3.1. Allerdings macht die geringe Selektivität den Einsatz von chemometrischen Datenauswertungsmethoden zur Klassifizierung oder Quantifizierung von Analyten notwendig.

Das Ansprechverhalten, die Stabilität sowie die Reversibilität der Wechselwirkung von relativ dicken Makrolonschichten wurden von Birgit Kieser [17] untersucht. Für ein Verständnis des Wechselwirkungsverhaltens von Analyten mit dem ultramikroporösen Polymer Makrolon ist eine genauere Untersuchung der Wechselwirkungsprinzipien notwendig. Hierbei ist es vor allem interessant, Untersuchungen für dünnere Schichtsysteme durchzuführen, da mit ihnen der für eine Messung notwendige Zeitraum deutlich reduziert werden kann.

In diesem Kapitel soll zunächst das Wechselwirkungsverhalten von Analytmolekülen unterschiedlicher Größe mit sensitiven Schichten unterschiedlicher Dicke untersucht werden. Im zweiten Teil dieses Unterkapitels werden die chemometrischen Methoden zur Quantifizierung eines quartären Alkoholgemisches vorgestellt und verglichen. Die Überprüfung der Robustheit der verwendeten Auswertemethoden gegenüber Störfaktoren auf den Nachweis einzelner Analyte aus Gemischen wird ebenfalls diskutiert.

4.1.1. Untersuchung des Wechselwirkungsverhaltens

Ultramikroporöse Polymere sind für den Einsatz als sensitive Schichten in der Gasanalytik interessant, da sie eine von der Größe der Analytmoleküle abhängige Wechselwirkungskinetik zeigen. Da diese Art von Polymeren aber ansonsten relativ unselektiv ist und die Polarität der untersuchten Analyten nur eine untergeordnete Rolle spielen, ist neben einer geeigneten Methode zur Datenauswertung auch eine genaue Kenntnis der Parameter, wie etwa die Schichtdicke der sensitiven Schicht, notwendig. Im Folgenden sollen Untersuchungen des ultramikroporösen Polymers Makrolon mit unterschiedlichen Schichtdicken zwischen 35 und 430 nm für die drei homologen Alkohole Methanol, Ethanol und Propanol als Analyten unterschiedlicher Größe vorgestellt werden. Da Oberflächenplasmonenresonanz sehr sensitiv gegenüber Änderungen im Brechungsindex der sensitiven Schicht ist, ist diese Methode, in Ergänzung zur Ellipsometrie und Reflektometrischen Interferenzspektroskopie, in besonderer Weise zur Charakterisierung des Wechselwirkungsverhaltens geeignet und liefert somit Informationen für die Optimierung der sensitiven Schichten zum Einsatz in der Sensorik [124].

Die drei Alkohole sind mit einem Volumen von 0,068 nm^3 für Methanol, 0,097 nm^3 für Ethanol und 0,125 nm^3 für 1-Propanol etwas kleiner, etwa gleich groß und etwas größer als das mittlere Porenvolumen von Makrolon mit 0,1 nm^3. Bei niedrigen Analytkonzentrationen werden zunächst die Ultramikroporen mit Alkoholmolekülen gefüllt. Dies führt zu einer Erhöhung des Brechungsidexes, da Luft in den Poren mit einem Brechungsindex von $n_D = 1{,}0$ durch Methanol mit einem Brechungsindex von $n_D = 1{,}329$, Ethanol von $n_D = 1{,}361$ bzw. Propanol von $n_D = 1{,}385$ ersetzt wird. Außerdem wird eine Zunahme der Schichtdicke beobachtet, da die Analytmoleküle mit den Poren wechselwirken und dabei ein Schwellen des Polymernetzwerkes verursachen. Nachdem die zugänglichen Poren gefüllt sind, können weitere Analytmoleküle mit der Polymermatrix wechselwirken und zu einer weiteren Zunahme der Schichtdicke führen [70]. Bedingt durch diese beiden Effekte lässt sich das Wechselwirkungsverhalten der Makrolonschichten mit den Alkoholen durch ein überlagertes Henry-Langmuir-Verhalten beschreiben. Die Füllung der Poren kann durch den Langmuir-Anteil beschrieben werden, während sich die Sorption in das Polymergerüst durch den Henry-Anteil der Isothermen beschreiben lässt. Verschieden große Moleküle führen zu einem unterschiedlichen Wechselwirkungsverhalten, das durch unterschiedliche Überlagerungen dieser beiden Gesetze beschrieben werden kann.

Wenn alle zugänglichen Poren mit Analytmolekülen gefüllt worden sind, sollte ein weiteres Eindringen von Molekülen zu einer Abnahme des effektiven Brechungs-

indexes der sensitiven Schicht führen. Der effektive Brechungsindex setzt sich aus dem Brechungsindex von Makrolon (n_D = 1,586) und dem des betrachteten Alkohols zusammen. Diese Abnahme lässt sich mit Ellipsometrie direkt beobachten, da hier eine Aufteilung in Brechungsindex- und Schichtdickenänderungen möglich ist. In Abbildung 4.1 (der Vollständigkeit halber [124] entnommen) beobachtet man zunächst für kleine Konzentrationen eine starke Zunahme des Brechungsindexes. Nach dem Füllen der zur Verfügung stehenden Poren ist keine weitere Zunahme des Brechungsindexes zu beobachten und für die höchsten vermessenen Konzentrationen wird sogar eine Abnahme des Brechungsindex beobachtet. Die Schichtdicke nimmt über den betrachteten Konzentrationsbereich fast linear zu.

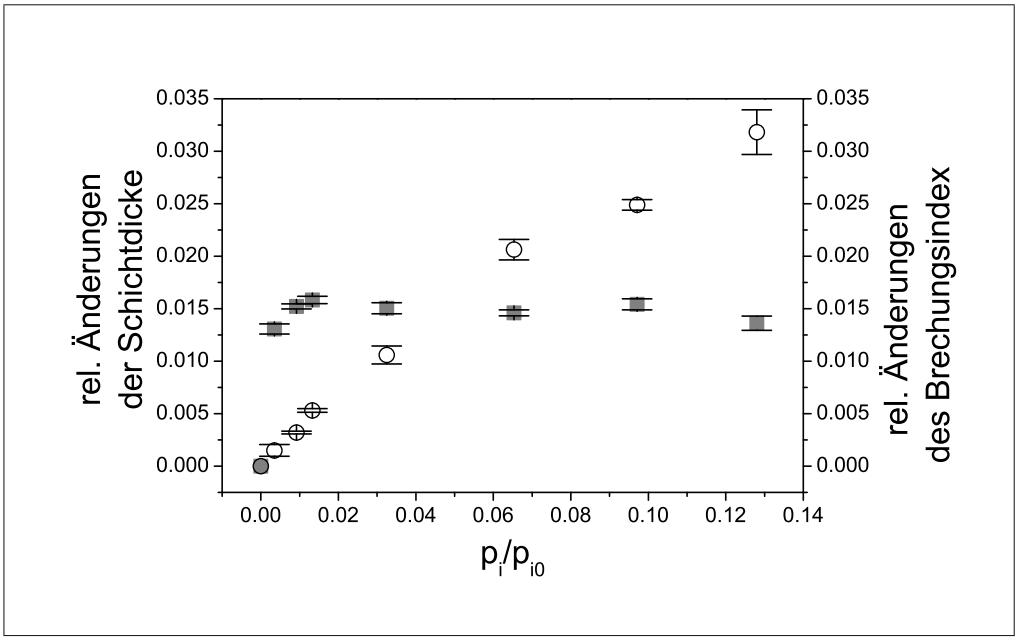

Abbildung 4.1: Relative Änderungen in der Schichtdicke (offene Kreise) und im Brechungsindex (graue Quadrate) einer 170 nm dicken Makrolonschicht nach Sättigung mit unterschiedlichen Konzentrationen an 1-Propanol beobachtet mit spektraler Ellipsometrie.

Zur Charakterisierung des Wechselwirkungsverhaltens wurden sechs ultramikroporöse Schichten mit einer Dicke zwischen 35 und 430 nm mit den drei betrachteten Alkoholen vermessen. Abbildung 4.2 zeigt die Messungen von Methanol, Ethanol und 1-Propanol mit einer 200 nm dicken Makrolonschicht. Das evaneszente Feld der Oberflächenplasmonen ist nicht vollständig innerhalb dieser 200 nm abgefallen und reicht somit etwas über die sensitive Schicht hinaus. Die geringen Fehlerbalken zeigen die sehr gute Reproduzierbarkeit der Wechselwirkung der Analyten mit der Schicht.

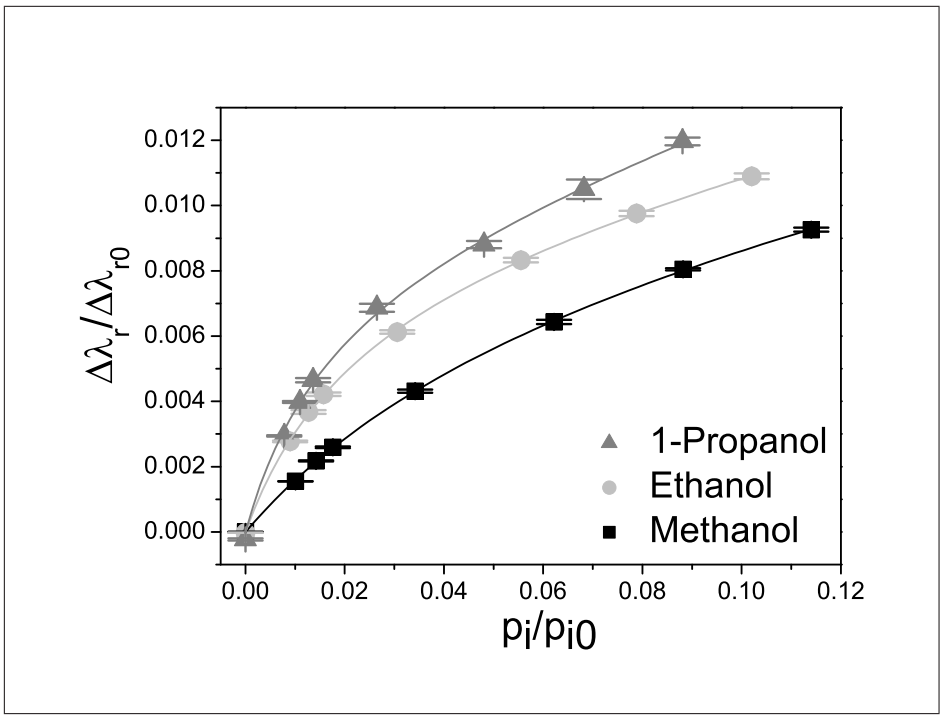

Abbildung 4.2: Auftragung der Sättigungssignale einer 200 nm dicken Makrolonschicht für Methanol, Ethanol und 1-Propanol. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen als Fehlerbalken. An die Messungen wurden Henry-Langmuir-Isothermen angefittet.

Die Verschiebung der Resonanzwellenlänge ist für alle Messungen positiv, was für eine Zunahme des effektiven Brechungsindexes steht. Die Signale für 1-Propanol sind höher als für Ethanol und Methanol, bedingt durch den höheren Brechungsindex von 1-Propanol und die stärkste Wechselwirkung mit der sensitiven Schicht. Die Steigung der an die Propanolmessung angefitteten Kurve ist die größte, obwohl die Besetzung der Poren im Vergleich zu den beiden anderen Alkoholen beim niedrigsten Partialdruck abgeschlossen ist. Für Methanol ist nicht klar zu entscheiden, bei welchem Partialdruck die Besetzung der Poren abgeschlossen ist. Für alle drei Alkohole beobachtet man eine Überlagerung von Henry- und Langmuir-Isothermen.

Abbildung 4.3 zeigt die Sättigunssignale von Methanol für die sechs betrachteten Polymerschichten. Die Verschiebung der Resonanzwellenlänge nimmt mit zunehmender Schichtdicke zu, wobei allerdings das Sättigungssignal für die 330 nm und die 430 nm dicke Schicht gleich ist. Da das evaneszente Feld innerhalb von circa 300 nm vollständig abgefallen ist, bringt eine weitere Erhöhung der Schichtdicke keine weitere Erhöhung des Signals; bedingt durch die höhere Schichtdicke nimmt die Gleichgewichtseinstellung zwischen Polymer- und Gasphase allerdings mehr Zeit

in Anspruch. Der Langmuir-Anteil der Sorptionsisothermen wird mit zunehmender Schichtdicke zu höheren Konzentrationen verschoben, da die Anzahl der Ultramikroporen ebenfalls zunimmt. Während der Verlauf der Isothermen von Methanol für die 35 nm und 70 nm Schicht fast linear ist, ist für die größeren Schichtdicken ein deutlicher Verlauf nach Henry-Langmuir zu beobachten.

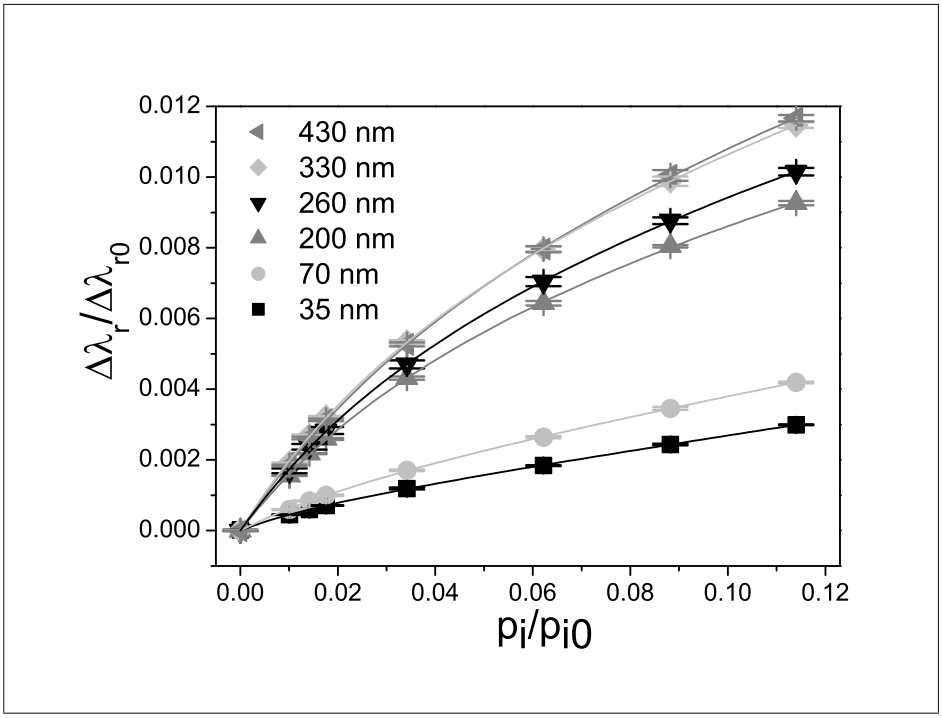

Abbildung 4.3: Sättigungssignale von Methanol für sechs verschiedene Schichtdicken zwischen 35 und 430 nm dargestellt als Mittelwert und Standardabweichung. An die Messungen wurden Henry-Langmuir-Isothermen angefittet.

Die Sorptionsiothermen von Ethanol für die sechs unterschiedlichen Schichten sind in Abbildung 4.4 dargestellt. Auch hier beobachtet man einen Verlauf nach den überlagerten Henry- und Langmuir-Gesetzen, wobei die Isothermen deutlich stärker als bei Methanol gekrümmt sind. Dieses Verhalten ist durch die stärkere Wechselwirkung von Ethanol mit dem Polymer und die Besetzung der Poren zu erklären. Man erwartet anhand der mittleren Größe von Ethanol, dass die beobachteten Effekte zwischen denen von Methanol und 1-Propanol liegen.

Betrachtet man die Sättigungsignale von 1-Propanol, so erkennt man in Abbildung 4.5 für alle fünf aufgetragenen Schichtdicken einen deutlichen Verlauf der Isothermen nach Henry-Langmuir. Die Verschiebung der Resonanzwellenlänge nimmt ebenfalls mit der Schichtdicke zu, wobei die Unterschiede zwischen der 35 nm und der 70 nm Schicht sehr gering sind.

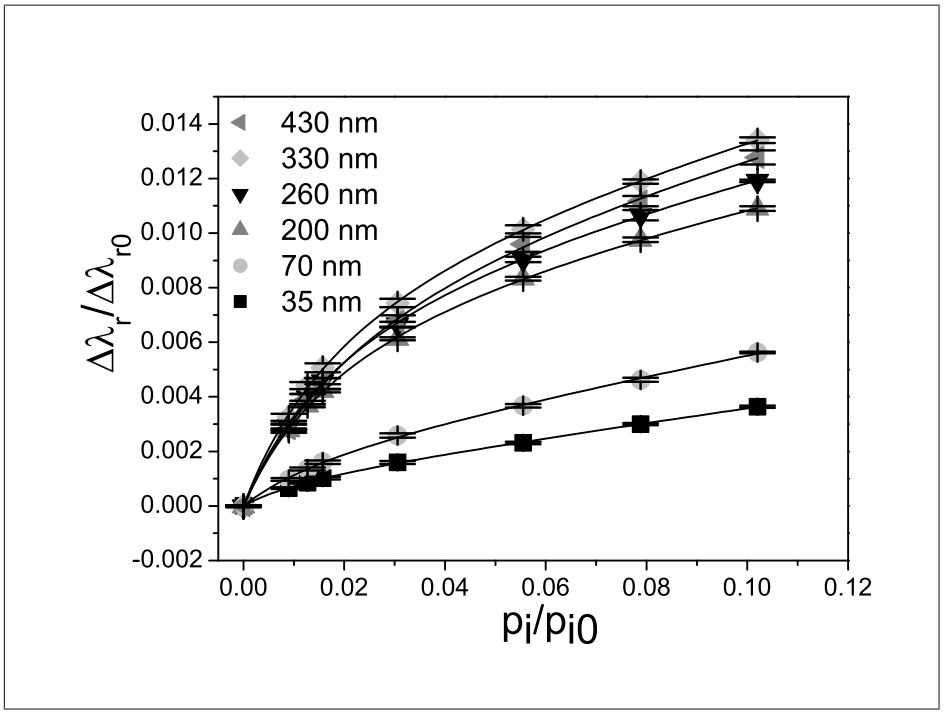

Abbildung 4.4: Sättigungssignal von Ethanol für sechs unterschiedliche Schichtdicken zwischen 35 und 430 nm.

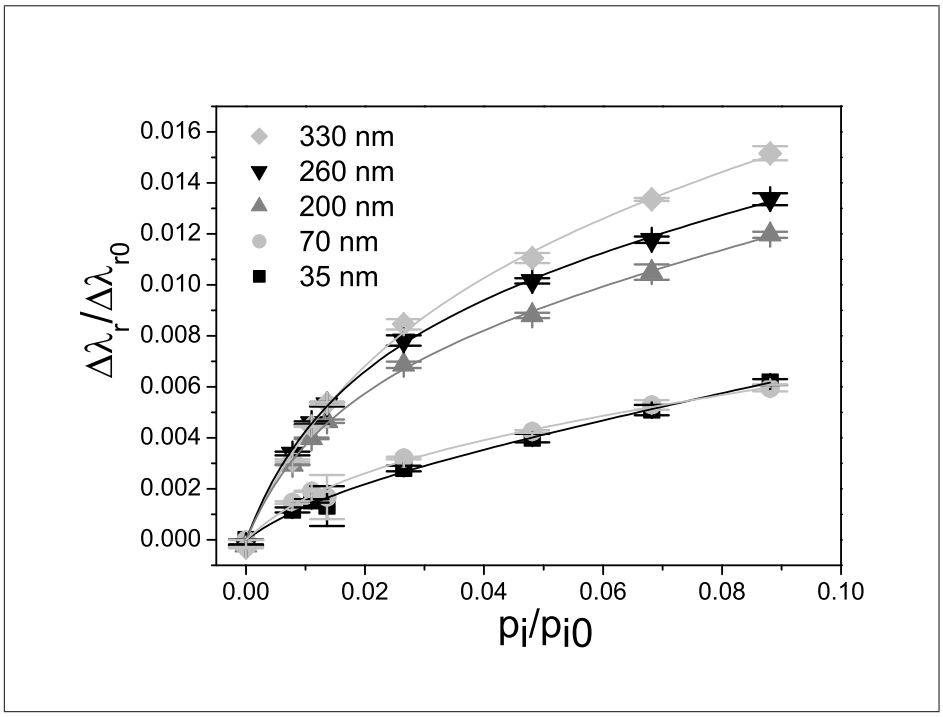

Abbildung 4.5: Sättigungssignal von 1-Propanol für fünf unterschiedliche Schichtdicken zwischen 35 und 330 nm.

4.1.1.1. Zusammenfassung

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass alle betrachteten Makrolonschichten ein überlagertes Henry-Langmuir-Verhalten zeigen, wobei für die 35 nm Schicht die am wenigsten gekrümmten Isothermen beobachtet werden. Bei Schichten über 330 nm ist keine weitere Zunahme des Signals mit zunehmender Schichtdicke zu beobachten, da die Oberflächenplasmonen nur bis circa 300 nm entfernt von der Oberfläche sensitiv auf Änderungen im Brechungsindex sind. Zudem zeigen diese Schichten für die größeren Analyten eine extrem langsame Wechselwirkungskinetik. Ihr Einsatz in der Sensorik erscheint also wenig sinnvoll. Die sensitiven Schichten mit einer Dicke zwischen 70 und 200 nm sind auf Grund ihrer Eigenschaften am besten für den Einsatz in Sensoren geeignet. Sie besitzen eine hinreichend hohe Wechselwirkungskinetik und zeigen deutlich ausgeprägte und gut reproduzierbare Signale.

4.1.2. Quartäre Alkoholgemische

Die Quantifizierung von Multianalytgemischen mit einfachen Chemosensoren konnte in den letzten Jahren mit unterschiedlichen Methoden realisiert werden. In [122,125] wurde die Quantifizierung binärer und ternärer Gemische mit einem einzelnen Oberflächenplasmonenresonanzsensor durchgeführt. Als sensitive Schicht wurde in beiden Fällen das ultramikroporöse Polymer Makrolon verwendet. Eine Quantifizierung der Gemische war durch die Beobachtung der Sorptions- und Desorptionskinetiken möglich. Es wurde mit einer zeitlichen Auflösung von einigen Sekunden gearbeitet. Auch mit Hilfe der Reflektometrischen Interferenzspektroskopie ist durch zeitaufgelöste Messungen eine Quantifizierung von Analytgemischen in flüssiger Phase [126] und in der Gasphase [113] möglich. In diesem Kapitel soll die Quantifizierung eines quartären Alkoholgemisches bestehend aus den homologen Alkoholen Methanol bis 1-Butanol mit einem SPR-Einzelsensor vorgestellt werden. Hierbei sollen zur Quantifizierung der Gemische unterschiedliche Auswertestrategien, modellbehaftete und modellfreie Methoden gegenübergestellt werden. Die Auswertung der gemessenen Daten mit den neuronalen Netzen wurde freundlicherweise von Herrn Dr. Frank Dieterle durchgeführt.

4.1.2.1. Sensitive Schicht

Die Oberflächenplasmonenresonanzmessungen wurden mit einer 60 nm dicken Makrolonschicht durchgeführt. Diese besitzt auch für den größten vermessenen Alkohol eine hinreichend hohe Wechselwirkungsgeschwindigkeit. Für die hier vorgestellten

Messungen wurde die sensitive Schicht 150 Sekunden lang gegenüber analythaltiger Luft exponiert und anschließend für eine Dauer von17,5 Minuten mit trockener Luft gespült. Alle 3,5 Sekunden wurde während der ersten fünf Minuten jeder Messung ein Spektrum aufgenommen, danach nur noch alle 12 Sekunden.

4.1.2.2. Reinstoffkalibrierungen und Gemischpläne

Zunächst wurden die Wechselwirkungskinetiken und die Reproduzierbarkeiten der Messungen der vier Alkohole gezeigt, in dem sie jeweils als Reinstoffe vermessen wurden. Neben den Daten für die Reinstoffkalibrierungen, die für alle vier Alkohole gemessen wurden, wurden zwei ineinander verschachtelte vollfaktorielle Gemischpläne für die Multikomponentenanalyse der quartären Gemische vermessen. Für den ersten Datensatz, der als Trainingsdatensatz verwendet wurde, wurden die Alkoholkonzentrationen zwischen 0 und 0,1 p_i/p_{i0} in vier äquidistanten Schritten variiert. Der Trainingsdatensatz wurde sowohl zum Training der vollverknüpften als auch der wachsenden neuronalen Netze sowie zur Modellerstellung für die Hauptkomponentenregression verwendet. Als Testdatensatz wurde ein zweiter vollfaktorieller Datensatz vermessen, in welchem die relativen Sättigungsdampfdrücke zwischen 0,015 und 0,075 p_i/p_{i0} äquidistant variiert wurden. Insgesamt wurden 337 verschiedene Konzentrationen in zufälliger Reihenfolge vermessen.

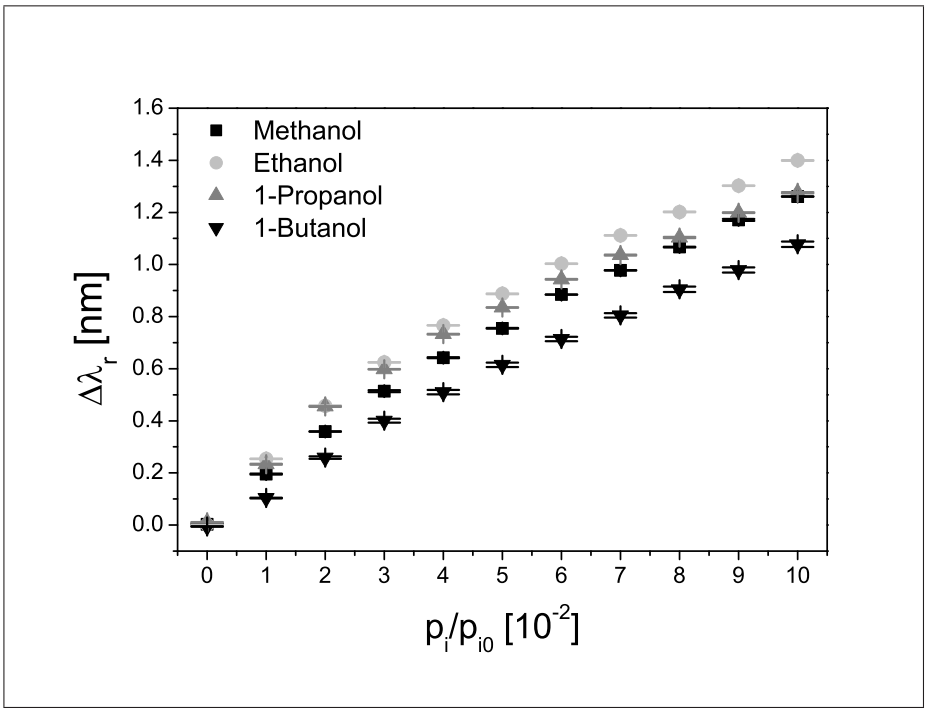

Abbildung 4.6: Kalibrierungskurven der vier homologen Alkohole für einen Konzentrationsbereich von 0 bis 0,1 p_i/p_{i0}.

Zur Charakterisierung der 60 nm dicken Makrolonschicht wurde diese mit alternierenden Sequenzen aus getrockneter Luft und Alkoholen in getrockneter Luft begast, wobei von jedem der vier Alkohole elf Konzentrationsstufen in zufälliger Reihenfolge bis zu einem relativen Dampfdruck von 0,1 p_i/p_{i0} vermessen wurden. Die zugehörigen Kalibrierungskurven von Methanol, Ethanol, 1-Propanol und 1-Butanol sind in Abbildung 4.6 als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt. Man erkennt den Verlauf aller vier Isothermen nach dem erwarteten Henry-Langmuir-Verhalten. Hieraus lässt sich erkennen, das kein linearer Zusammenhang zwischen Konzentrationen und Sensorsignalen besteht.

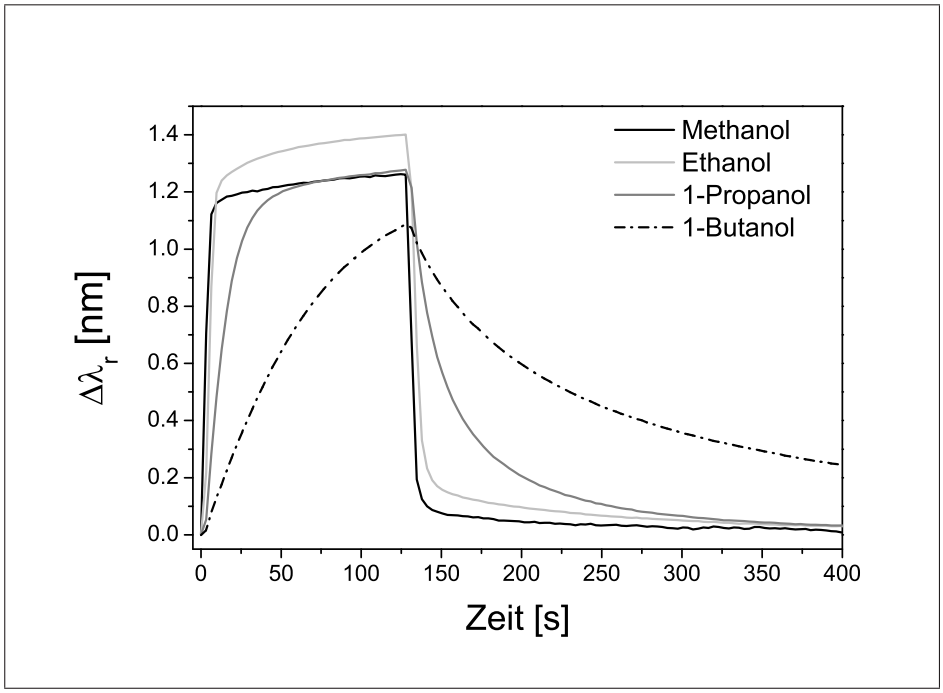

Abbildung 4.7: Zeitabhängigkeit der Verschiebung der Resonanzwellenlänge der reinen Alkohole für $0{,}1p_i/p_{i0}$.

In Abbildung 4.7 sind die zeitabhängigen Sensorsignale der reinen Alkohole aufgetragen. Die Exposition führte für die Alkohole zu einer Verschiebung der Resonanzwellenlänge zu höheren Wellenlänge, da sowohl der Brechungsindex als auch die Schichtdicke durch die Wechselwirkung mit den Analyten zunahmen. Der effektive Brechungsindex der sensitiven Schicht wird durch Verdrängung der Luft in den Poren durch die Alkohole erhöht. Die Sensorantwort der Makrolonschicht war für alle Analyten reversibel und über den gesamten vermessenen Konzentrationsbereich sowohl in Form als auch in Höhe für alle vier Alkohole unterschiedlich, wobei kleinere Analyte sowohl eine schnellere Sorptions- als auch Desorptionskinetik zeigten als die größeren Alkohole.

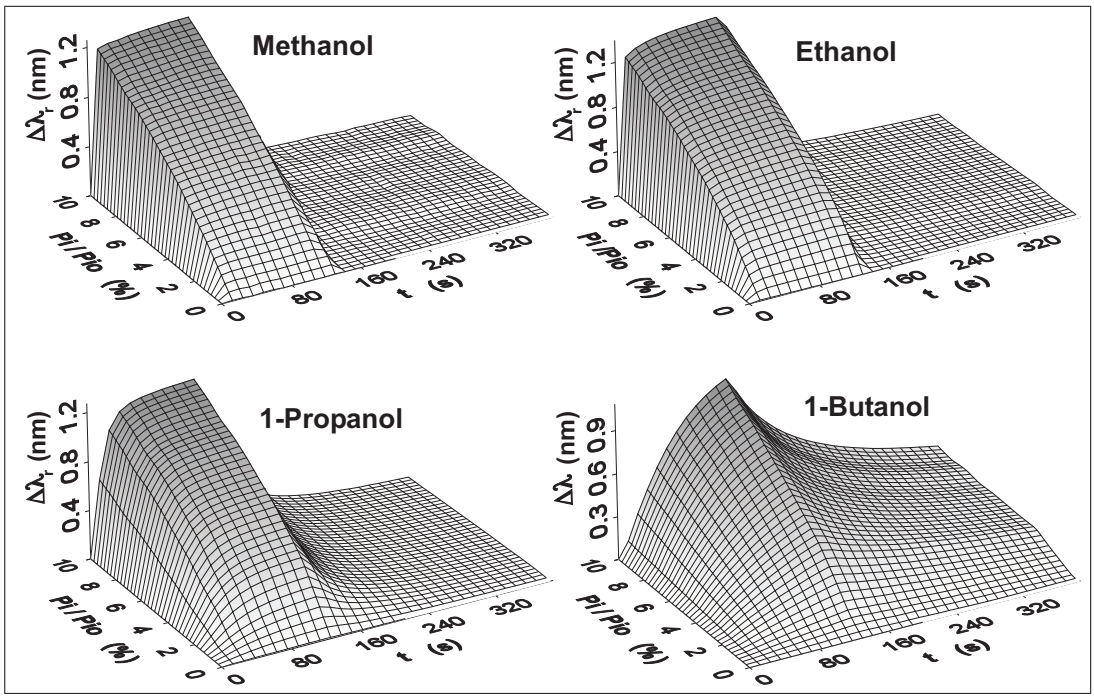

Abbildung 4.8: Sensorantworten für die reinen Alkohole während einer 150 sekündigen Analytexposition und anschließender Regenerierung der sensitiven Schicht mit getrockneter Luft. Auf der x-Achse ist die Zeit aufgetragen, die y-Achse gibt die relativen Partialdrücke der Alkohole und die z-Achse die Verschiebung der Resonanzwellenlänge während der Messung an.

Abbildung 4.8 zeigt die Sensorantworten für die vier Alkohole in drei Dimensionen bei einer Analytexposition von 150 Sekunden und anschließender Exposition gegenüber getrockneter Luft. Alle vier Alkohole wurden im gleichen Bereich (0 bis 0,1 p_i/p_{i0}) der relativen Sättigungsdampfdrücke vermessen. Man erkennt, dass die zeitaufgelösten Signale aller vier Alkohole sich über den gesamten Konzentrationsbereich sowohl in Form als auch in ihrer Höhe unterscheiden. Die Signale sind mit einer ansteigenden Zahl von Methyleneinheiten deutlich abgerundeter. Während für Methanol und Ethanol eine Sättigung der sensitiven Schicht innerhalb von wenigen Sekunden erreicht wird, wird sowohl das Sättigungssignal für 1-Butanol in den 150 Sekunden der Analytexposition nicht erreicht als auch die Desorption in den aufgetragenen 275 Sekunden nicht vollständig abgeschlossen. Für kontinuierliche Messungen ist es natürlich notwendig, zwischen den einzelnen Messungen eine stabile Basislinie zu erreichen.

Auf Grund der in diesem Kapitel angeführten Unterschiede im Sorptions- und Desorptionsverhalten der vier genannten Alkohole ist eine Quantifizierung von quar-

tären Alkoholgemischen mit Hilfe von neuronalen Netzen möglich, welches im folgenden dargestellt werden soll.

4.1.2.3. Quantifizierung der Gemische

Zur Quantifizierung des quartären Gemisches wurden 337 verschieden zusammengesetzte Analytgemische vermessen. Hierbei erhält man als Sensorantwort jeweils das Summensignal der Konzentrationen. In Abbildung 4.9 ist ein solches Summensignal für die höchsten vermessenen Konzentrationen aller vier Alkohole gegen die Zeit aufgetragen. Man erkennt deutlich, dass jeder der vier Analyten einen signifikanten Teil zum Summensignal beiträgt. Methanol und Ethanol tragen nur kurz nach Beginn der Analytexposition bzw. kurz nach dem Ende der Exposition zu einer Änderung des Sensorsignals bei, während 1-Propanol und 1-Butanol, bedingt durch ihre langsameren Kinetiken, das Signal hauptsächlich zu späteren Messzeitpunkten, wenn keine Änderung durch Methanol und Ethanol mehr stattfindet, beeinflussen.

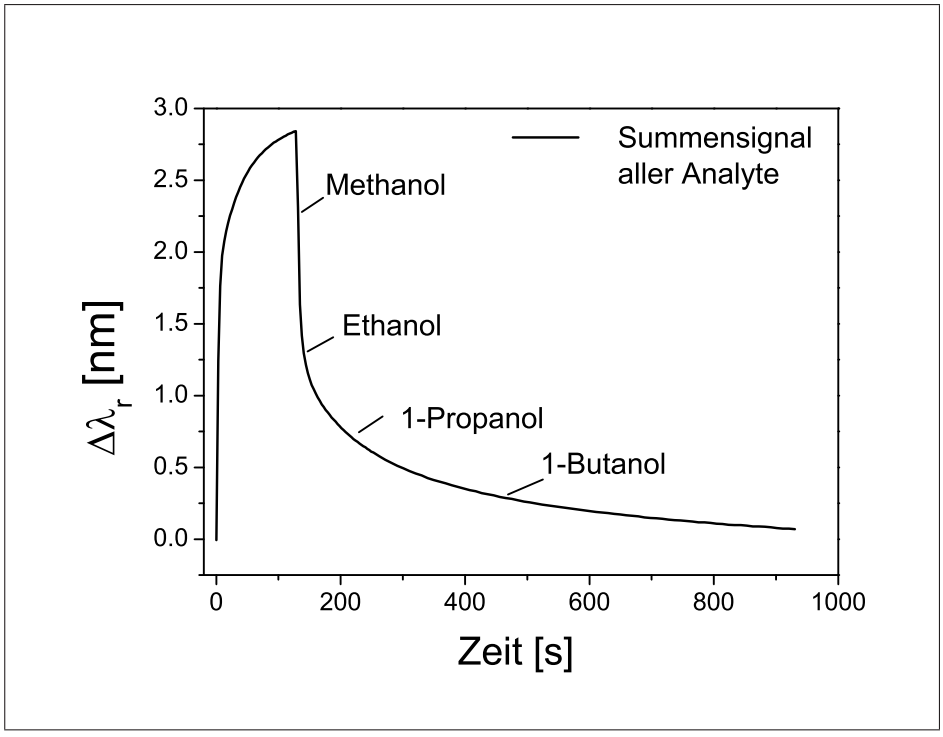

Abbildung 4.9: Zeitabhängigkeit des resultierenden Signals für eine Mischung aller vier Alkohole bei jeweils 0,1 p_i/p_{i0}.

Die Auswertung der 337 verschiedenen vermessenen Gemische wurde mit unterschiedlichen Datenauswertungsmethoden durchgeführt. Die Auswertung mit den künstlichen neuronalen Netzen (ANN) wurde von Dr. Frank Dieterle durchgeführt, wobei sowohl vollverknüpfte Netze als auch wachsende Netze verwendet wurden [49].

Die Optimierung der neuronalen Netze wurde dahingehend durchgeführt, dass die Anzahl der Eingabeneuronen, also der verwendeten Messzeitpunkte, durch eine Optimierungsprozedur bestimmt wurde. Es wurden die Zeitpunkte identifiziert und ausgewählt, die die wichtigsten Informationen enthielten. Die nicht selektierten Messzeitpunkte enthielten entweder redundante Informationen bzw. wurde die Mustererkennung der neuronalen Netze durch das in ihnen enthaltene Rauschen behindert. Simulationen mit den Datensätze zur Verkürzung der erforderlichen Messzeiten wurden ebenfalls durchgeführt. Darüber hinaus wurde eine multilineare Hauptkomponentenregression durchgeführt und ihre Ergebnisse mit den Vorhersagen der neuronalen Netze verglichen. In Tabelle 4.1 sind die relativen Vorhersagefehler der einzelnen Datenauswertemethoden zusammengefasst.

Methode	Methanol	Ethanol	1-Propanol	1-Butanol	Mittelwert
ANN, vollverknüpft	9,6	11,0	16,4	19,0	14,0
ANN, wachsend	5,8	6,5	**10,2**	**16,0**	**9,6**
ANN, $<$ 240 s	**5,4**	**4,5**	12,7	20,4	10,7
ANN, $<$ 120 s	13,5	12,2	15,8	20,9	15,6
PCR	10,5	16,4	22,0	33,8	20,7

Tabelle 4.1: Relative RMSE der Validierdaten in % für alle vier Alkohole und der Mittelwert der Vorhersage für verschiedene Datenanalysemethoden.

Zunächst wurden alle vermessenen Zeitpunkte für das Training der neuronalen Netze verwendet. Man erkennt in Zeile 1, dass die Vorhersagefehler für Methanol mit 9,6 % und Ethanol mit 11,0 % relativ niedrig sind, während die Fehler für die beiden größeren Analyten mit jeweils mehr als 16 % deutlich höher liegen. Werden wachsende neuronale Netze mit dem gleichen Datensatz trainiert, erkennt man, dass der mittlere Vorhersagefehler aller vier Alkohole deutlich von 14,0 % auf 9,6 % abnimmt. Eine Verbesserung ist insbesondere für die drei kleineren Alkohole zu beobachten.

Die Ergebnisse lassen sich als True-Predicted-Plots darstellen. Hierbei wird die vorhergesagte gegen die wahre Konzentration aufgetragen. Im Idealfall liegen alle vorhergesagten Konzentrationen auf der Winkelhalbierenden. Übersichtshalber werden die jeweiligen Vorhersagewerte als Mittelwert und die Standardabweichung als Fehlerbalken dargestellt. In Abbildung 4.10 sind die True-Predicted-Plots der vier Alkohole, jeweils für die Trainings- und Testdaten, bei Verwendung der optimierten neuronalen Netze dargestellt.

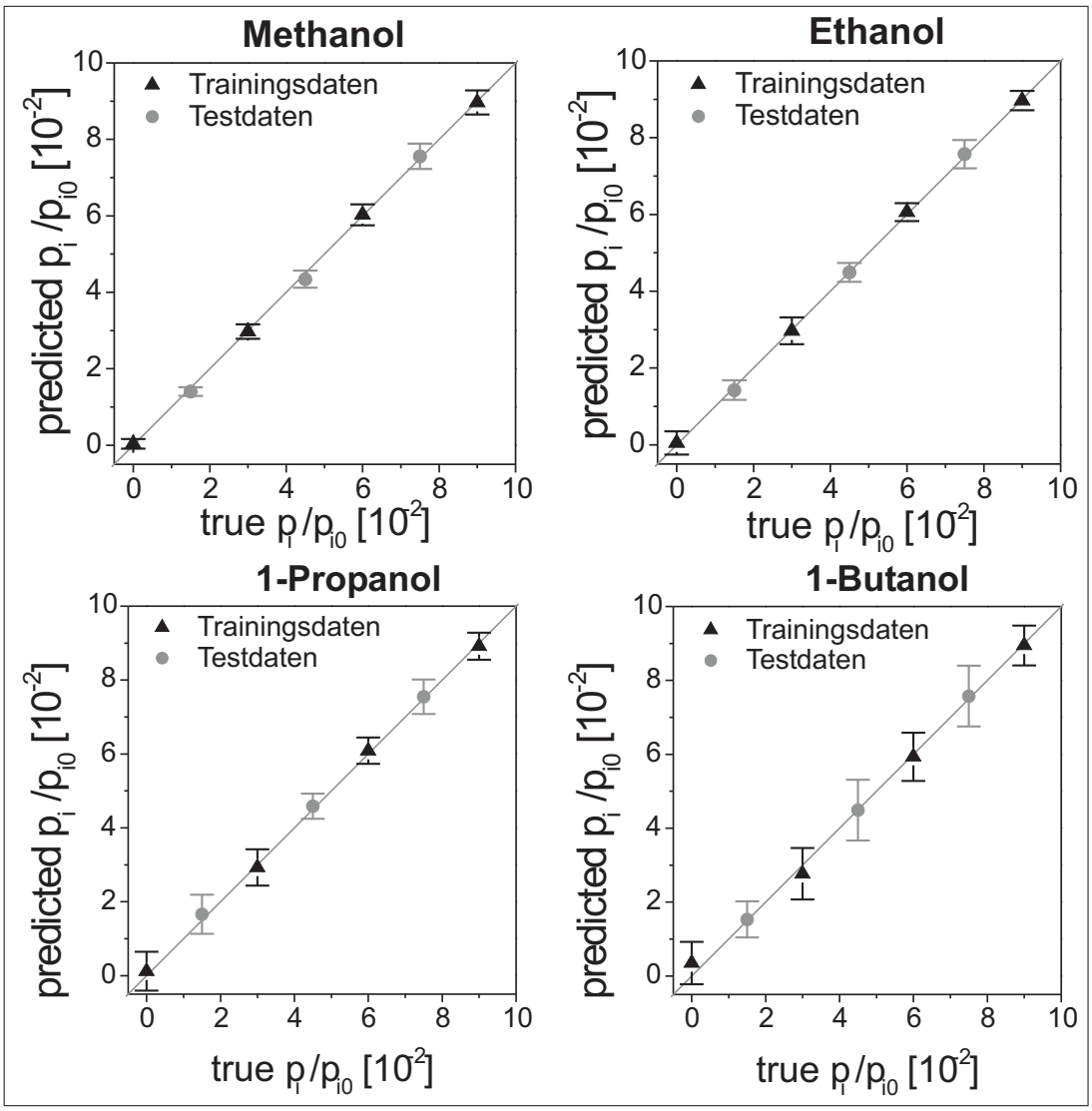

Abbildung 4.10: Durch neuronale Netze vorhergesagte Konzentrationen der Trainings- und Testdaten der vier homologen Alkohole aufgetragen gegen die wahren Konzentrationen. Die Konzentrationen sind als Partialdrücke dargestellt.

Die vorhergesagten Mittelwerte liegen für alle vier Analyten sehr gut auf den Diagonalen; somit wird kein systematischer Fehler beobachtet. Die Fehlerbalken für Methanol, Ethanol und 1-Propanol sind relativ gering, lediglich für 1-Butanol sind sie etwas größer.

Durch den Algorithmus zur Optimierung der neuronalen Netze werden Messzeitpunkte je nach ihrer Wichtigkeit für die Quantifizierung verschieden häufig selektiert. In Abbildung 4.11 sind die selektierten Zeitpunkte für alle vier Alkohole als Balkendiagramm dargestellt. Für die Quantifizierung von Methanol und Ethanol werden besonders häufig Zeitpunkte zu Beginn der Messung ausgewählt. Die Zeitpunkte

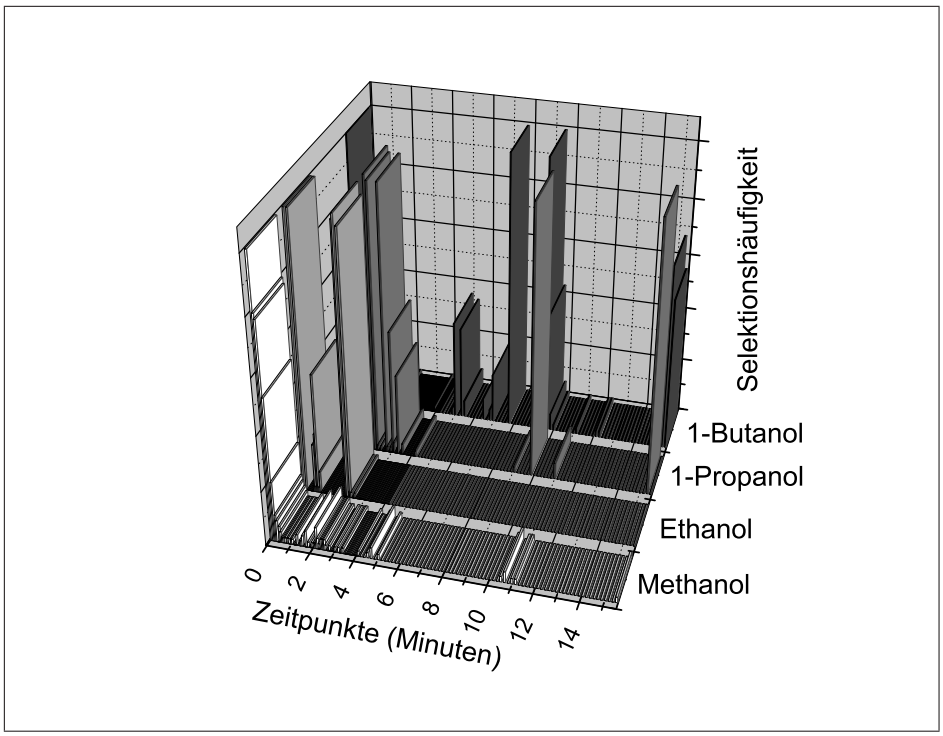

Abbildung 4.11: Selektionshäufigkeit der Featureselektionsprozedur der einzelnen Zeitpunkte für die einzelnen Alkohole.

mit den wichtigsten Informationen für die Quantifizierung von Methanol liegen alle zu Beginn der Analytsorption, während für die Quantifizierung von Ethanol auch Zeitpunkte zu Beginn der Analytdesorption selektiert werden. Die für die Quantifizierung von 1-Propanol und 1-Butanol wichtigen Zeitpunkte verteilen sich über die gesamten zur Verfügung stehenden 15 Minuten, wobei hauptsächlich Zeitpunkte wichtig sind, die nicht für die Quantifizierung der kleineren Alkohole gebraucht werden. Zur Quantifizierung von 1-Butanol tragen auch Zeitpunkte bei, für die sich bei den anderen Analyten bereits ein Gleichgewicht zwischen Gas- und Polymerphase eingestellt hat.

Zur Simulation der Verkürzung der zur Quantifizierung der Gemische notwendigen Messzeiten wurden zwei Datensätze erzeugt, in denen nur die ersten 120 bzw. 240 Sekunden der Messung zur Auswertung mit Hilfe neuronaler Netze verwendet wurden. In Tabelle 4.1, Zeile 3 und 4 sind die Ergebnisse dieses Auswerteansatzes dargestellt.

Insbesondere unter Verwendung der ersten 240 Sekunden, die sowohl Sorption als auch den Beginn der Desorption der Analyten umfassen, ist eine gute Vorhersage der Konzentrationen der Alkohole möglich.

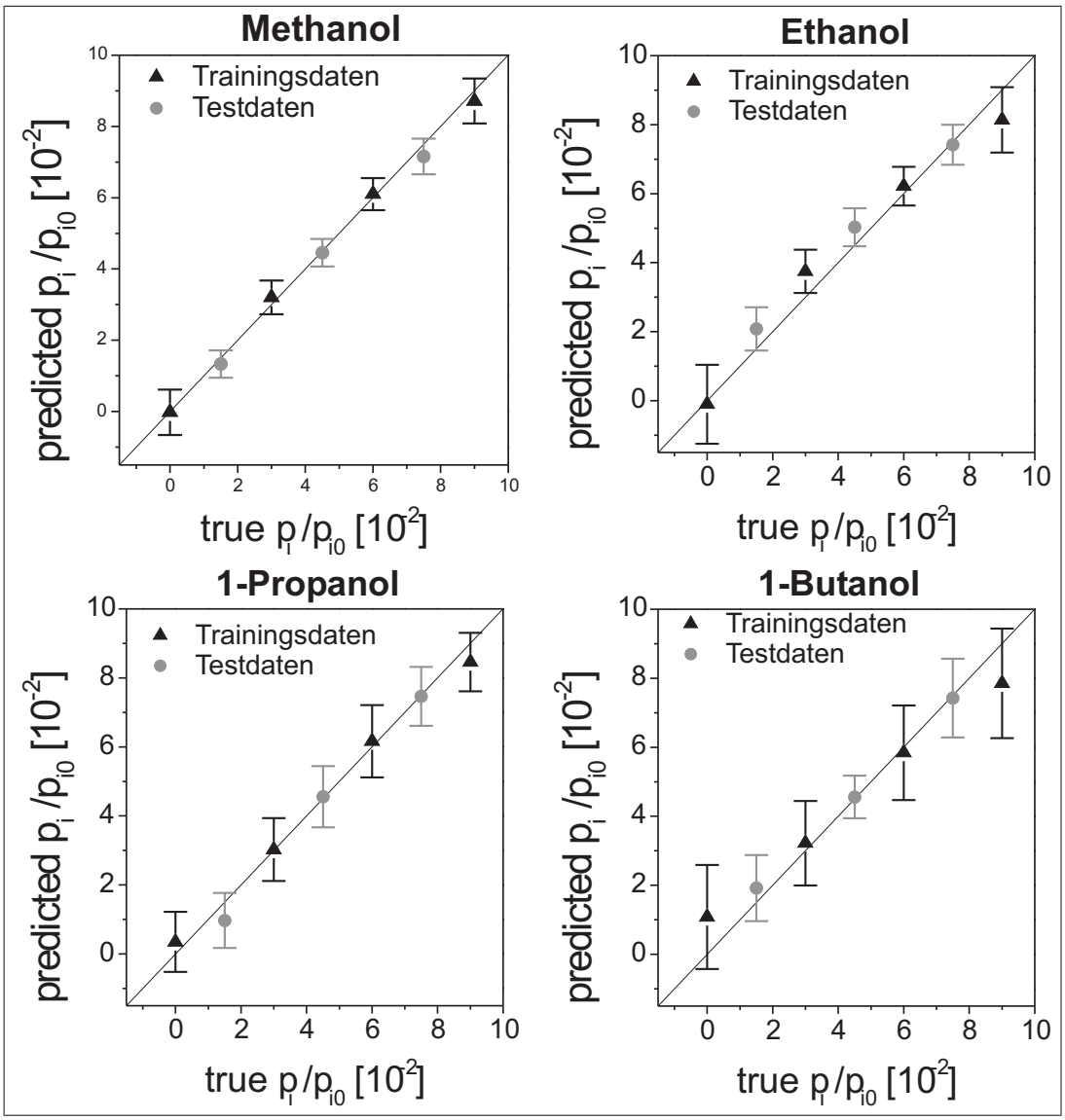

Abbildung 4.12: Durch Hauptkomponentenregression vorhergesagte Konzentrationen der Trainings- und Testdaten der vier homologen Alkohole aufgetragen gegen die wahre Konzentration. Die Konzentrationen sind als Partialdrücke dargestellt.

Für die kleineren Analyten, die während dieser Zeitspanne bereits vollständig sorbiert und desorbiert sind, werden sogar bessere Ergebnisse erhalten. Da die Desorption der größeren Analyte nicht abgeschlossen ist, werden etwas schlechtere Ergebnisse erhalten. Begründet durch die Selektion der meisten Zeitpunkte nach den ersten 240 Sekunden für die Quantifizierung von 1-Butanol, ist die Verschlechterung der Vorhersage hier am größten. Da die ersten 120 Sekunden nicht einmal die gesamte Sorption der Analyten enthalten, sind die Ergebnisse hier insgesamt am schlechtesten. Daraus lässt sich schließen, dass sowohl die Sorption als auch die Desorption,

zumindest in Teilen, für eine gute Quantifizierung des quartären Gemisches benötigt werden. Allerdings kann die insgesamt benötigte Messzeit gegenüber der hier vermessen noch deutlich verkürzt werden.

In der Sensorik wird die Hauptkomponentenanalyse bzw. die auf ihr aufbauende Hauptkomponentenregression auf Grund ihrer Benutzerfreundlichkeit und Robustheit häufig verwendet, um einen Zusammenhang zwischen einem Sensorsignal und einer Konzentration herzustellen. Hierbei wird allerdings ein linearer Zusammenhang angenommen. Die Auswertung der gemessenen Daten mit dieser Methode soll im Folgenden vorgestellt werden. Hierzu wurden alle Messzeitpunkte zur Erstellung des Modells verwendet und die Testdaten mit den erstellten Modellen vorhergesagt. In Zeile 5 in Tabelle 4.1 sind die relativen Vorhersagefehler dieser Auswertemethode dargestellt. Sie sind für jeden einzelnen Analyten höher als die entsprechenden Werte bei Verwendung von neuronalen Netzen. Abbildung 4.12 zeigt die zugehörigen True-Predicted-Plots. Die Mittelwerte der Vorhersagen weichen deutlich von der Diagonalen ab, für die beiden kleineren Alkohole sind diese um die Winkelhalbierende gebogen, während für 1-Propanol und 1-Butanol bei kleinen Konzentrationen generell zu hohe und bei hohen generell zu kleine Werte vorhergesagt werden. Somit erhält man bei der Auswertung mit PCR einen hohen systematischen Fehler im Modell für die Auswertung. Dieser ist bedingt durch den nicht-linearen Zusammenhang zwischen Sensorsignalen und Konzentrationen. Auch die Fehlerbalken sind in Vergleich zu Abbildung 4.10 deutlich ausgeprägter. Eine Quantifizierung der Gemische mit guten Ergebnissen ist also hiermit nicht möglich. Neuronale Netze zeigen deutlich bessere Ergebnisse.

4.1.2.4. Zusammenfassung quartäres Alkoholgemisch

Es wurde gezeigt, dass die Quantifizierung des quartären Gemisches der homologen Alkohole Methanol bis 1-Butanol unter Verwendung eines SPR-Einzelsensorsystems mit Hilfe von neuronalen Netzen möglich ist. Die unterschiedlichen Kinetiken der Alkohole sind stark genug ausgeprägt, um für die Quantifizierung herangezogen werden zu können. Durch eine Optimierung der Netzwerktopologien ist eine Verbesserung der Vorhersagefähigkeit und damit eine Minimierung der Fehler möglich. Durch Verwendung einer 60 nm dicken Makrolonschicht können die Messungen sehr schnell und mit guter Reproduzierbarkeit durchgeführt werden. Eine Quantifizierung des quartären Gemisches bei Verwendung von PCR ist mit zufriedenstellenden Ergebnissen nicht möglich.

4.1.3. Einfluss von Verunreinigungen

Wie im vorherigen Kapitel beschrieben ist die Quantifizierung von Multianalytgemischen mit einfachen Sensoren und neuronalen Netzen zur Auswertung der Messungen mit sehr guten Ergebnissen möglich. Hierbei finden sich nur sehr geringe systematische und zufällige Fehler. Wie gezeigt werden konnte, sind diese Ergebnisse zu einem guten Teil auf die Leistungsfähigkeit der neuronalen Netze zurückzuführen. Neben der Möglichkeit zur Modellierung nicht-linearer Zusammenhänge werden künstliche neuronale Netze in der Literatur als sehr robuste Methode gegenüber Störfaktoren beschrieben [44, 49].

Faktoren, die die Auswertung eines Sensorsignals stören können, sind zum Beispiel kreuzreaktive Stoffe, die eine Auswertung der Sensorsignale in Bezug auf die eigentlich betrachteten Stoffe unmöglich macht. Wasser zum Beispiel ist eine solche Substanz, die auf Grund ihres universellen Vorkommens einen starken Einfluss auf die Leistungsfähigkeit von Sensoren hat. Hierbei wird es häufig schwierig, das eigentliche Signal der zu untersuchenden Analyten vor einem Hintergrund aus Luftfeuchtigkeit zu identifizieren. Viele Materialien, die zum Beispiel sensitiv auf Freone reagieren, besitzen ebenfalls eine hohe Affinität gegenüber Wasser. In der Literatur werden Ansätze zur Lösung dieses Problems diskutiert. Ein zweistufiger Vorbehandlungsprozess zur Entfernung des Wassers aus den Proben wurde von Bender et. al. [127] vorgeschlagen. Hierdurch werden jedoch die Sensorsysteme in ihrem Aufbau wesentlich komplizierter und von Zeit zu Zeit ist ein Ausheizen der verwendeten Wasserfallen notwendig. Der Einfluss von relativer Feuchte auf ein Sensorsystem bestehend aus elektronischen Nasen wurde von Delpha et. al. [128] untersucht. Es wurde ein starker Einfluss des Wassers auf die Leistungsfähigkeit der Sensoren gefunden.

Der Einfluss von Wasser auf einen Makrolonsensor und auf die Quantifizierbarkeit von Gemischen ist noch nicht untersucht worden. Ein Schwerpunkt der hier durchgeführten Untersuchungen soll daher auf Messungen mit und ohne Wasser und deren Vergleichbarkeit gelegt werden. In diesem Kapitel wird ein Analytgemisch, bestehend aus zwei Alkoholen und Wasser, vorgestellt und der Einfluss dieser Verunreinigung auf das Sensorsystem untersucht. Zum einen wurde ein ternärer Gemischplan aus Ethanol, 1-Propanol und Wasser vermessen und durch neuronale Netze ausgewertet, zum anderen wurde ein Datensatz vermessen, in dem das Wasser nicht enthalten war. Das Training der neuronalen Netze wurde mit einem binären Plan durchgeführt und mit den trainierten Netzen wurden sowohl Testdaten vorhergesagt, die kein Wasser enthielten, als auch solche, die unterschiedliche relative Luftfeuchtigkeiten enthielten. Die Ergebnisse mit und ohne Verunreinigung wurden miteinander verglichen.

Die Auswertung der Messungen wurden darüber hinaus auch mit der Hauptkomponentenregression durchgeführt und deren Verhalten gegenüber den Verunreinigungen untersucht.

4.1.3.1. Reinstoffmessungen

Um die Wechselwirkungen der sensitiven Makrolonschicht mit den hier untersuchten Stoffen zu charakterisieren wurden zunächst die Reinstoffe vermessen. Abbildungen 4.13 (a) bis (c) zeigen die Sensorantworten von Ethanol, 1-Propanol und Wasser als dreidimensionale Darstellung.

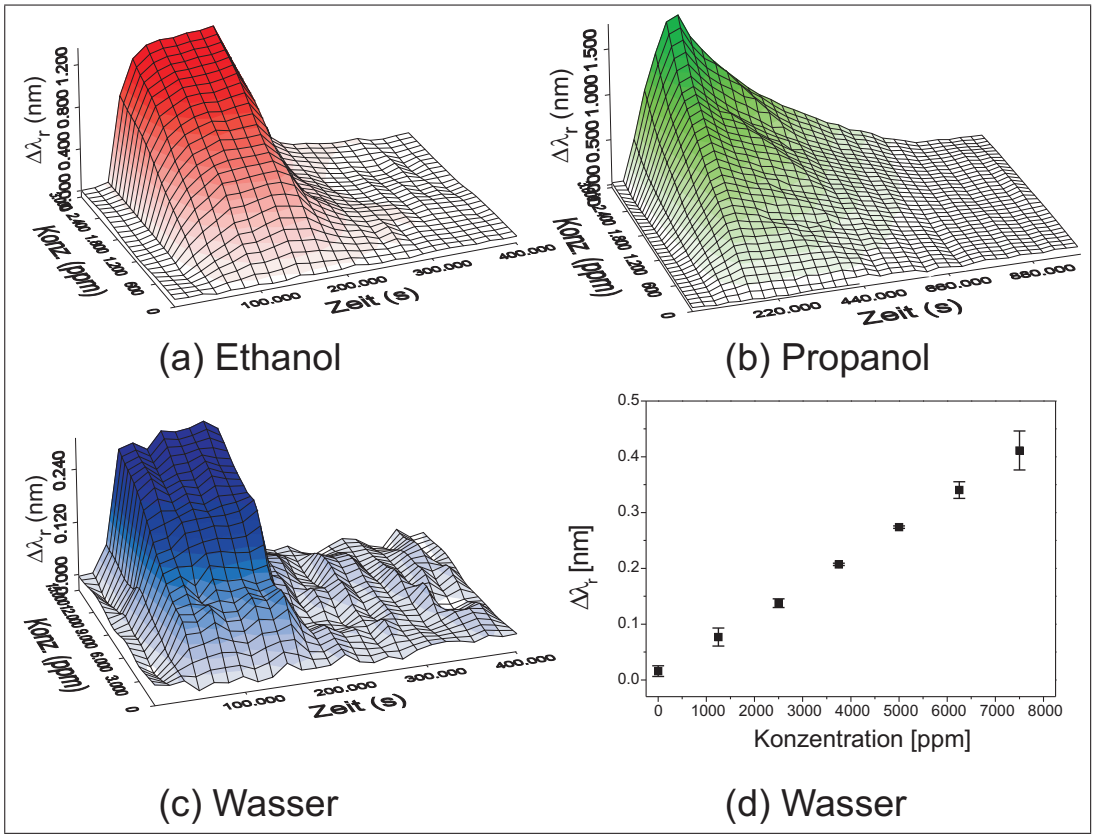

Abbildung 4.13: (a) bis (c): Sensorsignale für die reinen Analyten während einer 150 sekündigen Analytexposition und anschließender Regenerierung der sensitiven Schicht mit getrockneter Luft.
(d): SPR-Signal von Wasser im Konzentrationsbereich von 0 bis 7500 ppm.

Abgebildet ist in eine 150-sekündige Analytexposition der drei Analyten und eine anschließende Exposition der sensitiven Schicht gegenüber getrockneter Luft zur Analytdesorption. Für die beiden Alkohole wurde ein Konzentrationsbereich von 0

bis 3000 ppm in sieben Stufen vermessen, während Wasser in einem Konzentrationsbereich von 0 bis 15000 ppm gemessen wurde. Wasser wurde im größeren Bereich betrachtet, da hiermit Werte für die relative Luftfeuchtigkeit zwischen 0 und 20 % simuliert werden konnten. Für Ethanol und Wasser wurde in der verwendeten Expositionszeit das Gleichgewicht zwischen Gas- und Polymerphase erreicht, während für 1-Propanol dieses Gleichgewicht nicht erreicht wurde. Die Sensorsignale des Wassers sind etwa um den Faktor zehn geringer als für die beiden Alkohole. In Abbildung 4.13 (d) ist die Kalibrierungsfunktion für Wasser in einem Bereich von 0 bis 7500 ppm dargestellt. Man erkennt, dass die Signale für Wasser zwar relativ gering sind. Die Reproduzierbarkeit ist allerdings auch für diese geringen Signale sehr gut gegeben. Die Signale für Wasser folgen in diesem Bereich einem linearen Verlauf.

4.1.3.2. Gemischplan und Messparameter

Um die Vergleichbarkeit der Vorhersagen der neuronalen Netze mit und ohne Wasser in Test- und Trainingsdaten zu erreichen, wurden beide Trainingspläne so gewählt, dass die Anzahl der zum Training der Netze zur Verfügung stehenden Datensätze ungefähr gleich waren. Der Versuchsplan bestand aus den vier in Tabelle 4.2 zusammengefassten Teilplänen.

Name	Ethanol, 1-Propanol	Wasser	Anzahl
A	0 - 3000 ppm, 7 Stufen	0 - 15000 ppm, 7 Stufen	343
B	250 - 2750 ppm, 6 Stufen	1250 - 13750 ppm, 6 Stufen	216
C	0 - 3000 ppm, 18 Stufen	—	324
D	250 - 2750 pmm, 6 Stufen	—	36
		Gesamtzahl der Messungen	919

Tabelle 4.2: Trainings- und Testdatensätze für die Datenauswertung.

Plan A und B sind ternäre Pläne bestehend aus Ethanol, Propanol und Wasser, wobei A als Trainingsplan mit sieben Stufen des ternären Gemisches verwendet wurde, Plan B enthielt die zugehörigen Testdaten. Zum Training der neuronalen Netze auf Ethanol und 1-Propanol wurde Plan C verwendet. Er besteht aus einem 18-stufigen binären Gemischplan. Die Anzahl der Trainingsdatensätze in Plan A und C sind ähnlich gewählt. Gemischplan B und D wurden als unabhängige Testdaten für die mit Plan C trainierten Netze verwendet. Insgesamt wurden 919 verschiedene Konzentrationskombinationen in allen vier Gemischplänen gemessen. Darüber hinaus wurden mit den Datensätzen A und C die Modelle für die Hauptkomponentenregression erstellt und B und D dienten auch hier als Testdatensätze.

Die sensitive Schicht wurde 150 Sekunden lang gegenüber den Analyten exponiert. Zur Regeneration wurde anschließend für eine Dauer von etwa 12 Minuten mit getrockneter Luft gespült. Die 919 Konzentrationen der vier vollfaktoriellen Gemischpläne wurde in zufälliger Reihenfolge vermessen, wobei alle 3 Sekunden ein Sensormesswert aufgenommen wurde.

4.1.3.3. Ternäre Gemische

Die Quantifizierung eines ternären Gemisches mit Hilfe eines Makrolonsensors und neuronalen Netzen stellt normalerweise keine große Herausforderung dar [49], da sich in diesem Fall die Sensorsignale um etwa eine Größenordnung unterscheiden. Darüber hinaus sollte demonstriert werden, dass durch die Anwesenheit von Wasser in den Gemischen eine Auswertung nicht verhindert wird. Hierzu wurden zunächst die beiden ternären Gemischpläne A und B mit Hilfe neuronaler Netze ausgewertet. Vergleichend wurde eine Auswertung der Messung mit PCR durchgeführt. Die Ergebnisse der Datenauswertung sind in Tabelle 4.3 gegeben.

	Ethanol		1-Propanol		Wasser	
Datensatz	Training	Test	Training	Test	Training	Test
ANN	7,1	11,1	7,7	13,2	20,1	25,0
ANN, wachsend	8,9	**9,5**	11,5	**10,5**	21,7	**23,3**
PCR	19,0	17,0	15,3	13,4	47,9	44,0

Tabelle 4.3: Relativer RMSE der Trainings- und Testdaten in % für Ethanol, 1-Propanol und Wasser für den vollfaktoriellen ternären Gemischplan unter Verwendung von vollverknüpften und von wachsenden neuronalen Netzen sowie PCR.

In Zeile 1 von Tabelle 4.3 sind die Ergebnisse der vollverknüpften neuronalen Netze dargestellt. Zum Training der Netze wurden jedoch nur die Messzeitpunkte der ersten 500 Sekunden verwendet, da die Sensorsignale für alle drei Analyten zu späteren Zeitpunkten nur noch sehr gering waren und daher stark verrauschte Informationen enthielten. Die Vorhersage der Konzentrationen von Ethanol und 1-Propanol ist mit guten Ergebnissen möglich, wohingegen die Vorhersage von Wasser mit einem Fehler von 25 % nur sehr bedingt möglich ist.

Abbildung 4.14 zeigt die True-Predicted-Plots der drei vermessenen Analyten. Die Mittelwerte der Konzentrationen für Ethanol und 1-Propanol liegen relativ gut auf der Diagonalen und die Fehlerbalken sind klein. Für Propanolkonzentrationen un-

terhalb von 1000 ppm ist allerdings ein Trend zur Vorhersage von zu kleinen Konzentrationen erkennbar.

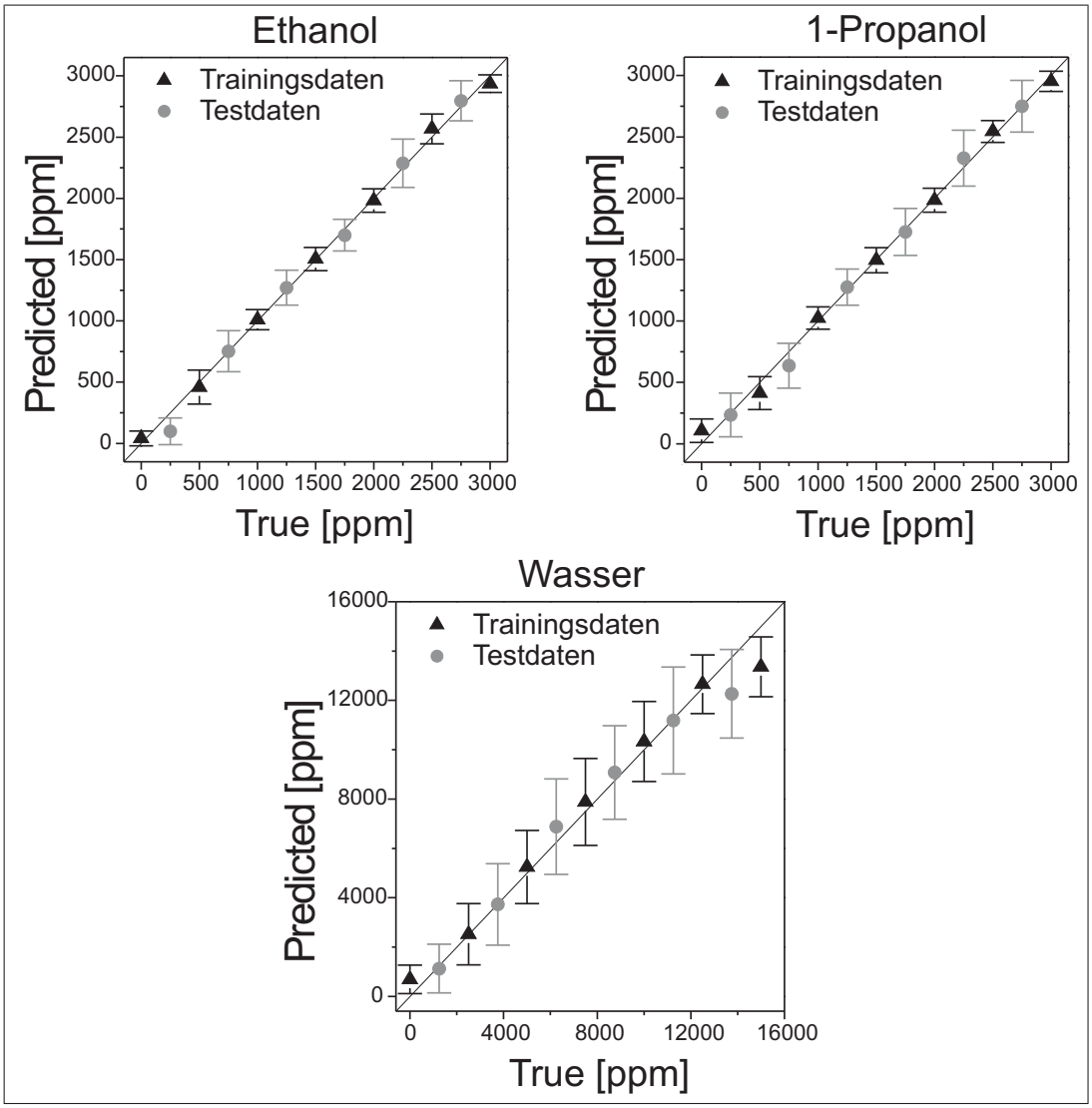

Abbildung 4.14: Durch neuronale Netze vorhergesagte Konzentrationen der Trainings- und Testdaten der drei Analyte in ppm, jeweils als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

Die Fehler in der Vorhersage von Wasser sind deutlich größer und für die höchste und niedrigste Konzentration ist eine Abweichung von der Diagonalen zu erkennen.

Bei Verwendung von wachsenden neuronalen Netzen nehmen sowohl die Trainings- als auch die Testdatenvorhersagefehler für alle drei Analyten ab, wobei besonders für Ethanol und 1-Propanol eine deutliche Verbesserung erkennbar ist. Wasser hingegen wird mit einem Fehler von 23,3 % weiterhin relativ schlecht vorhergesagt (siehe Tabelle 4.3, Zeile 2).

In Abbildung 4.15 sind die durch den verwendeten Algorithmus selektierten Mess-

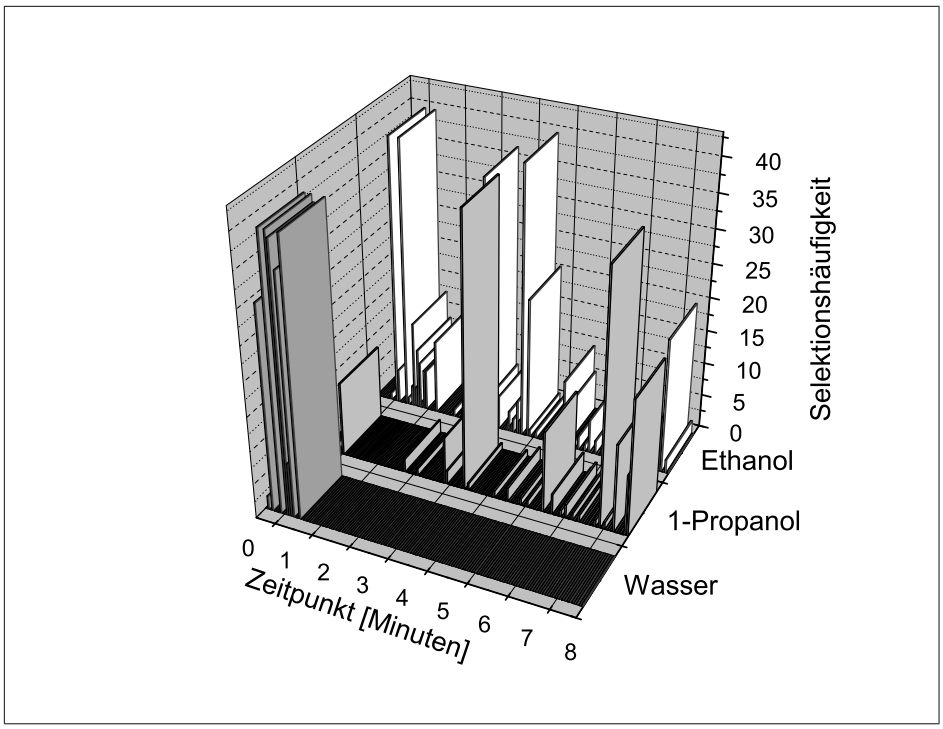

Abbildung 4.15: Selektionshäufigkeit der Featureselektionsprozedur der einzelnen Messzeitpunkte für Wasser, Ethanol und 1-Propanol.

zeitpunkte für alle drei Analyte dargestellt. Pro Analyt wurden 40 neuronale Netze gerechnet. Die für die einzelnen Analyten selektierten Zeitpunkte sind abgebildet. Für Ethanol findet sich eine relativ breite Verteilung der Zeitpunkte, die für die Auswertung wichtige Informationen enthalten, über das gesamte zur Verfügung stehenden Zeitintervall. Für 1-Propanol wurden ausschließlich Zeitpunkte während der Analytdesorption ausgewählt. Für die Quantifizierung von Wasser wurden vom Algorithmus nur Zeitpunkte zu Beginn der Sorption ausgewählt. Somit tragen also zur Bestimmung der Konzentrationen der einzelnen Analyte unterschiedliche Messzeitpunkte mit unterschiedlichem Gewicht bei.

In Zeile 3 von Tabelle 4.3 sind die Vorhersagefehler für PCR angegeben. Man erkennt die relative schlechten Ergebnisse für alle drei Analyten. Besonders die Vorhersage der Wasserkonzentration aus den Gemischen funktioniert sehr schlecht. Es zeigt sich für diese Auswertemethode ein hoher systematischer Fehler, da der Zusammenhang zwischen Sensorsignalen und Konzentrationen nicht linear ist. Diese Ergebnisse sind in völliger Übereinstimmung mit den Ergebnissen des quartären Alkoholgemisches.

4.1.3.4. Binäre Gemische

Um einen direkten Vergleich der Vorhersage der Analytkonzentrationen durchführen zu können, wurden Auswertemodelle mit Hilfe des binären Trainingsdatensatzes C erstellt. Dieser Datensatz besitzt eine ähnliche Größe wie Datensatz A, um einen Vergleich mit den ternären Gemischen zu ermöglichen.

- **Vorhersage von Testdaten ohne Wasserverunreinigung**

Es wurden vollverknüpfte neuronale Netze mit Datensatz C trainiert und die unabhängigen Testkonzentrationen des Datensatzes D vorhergesagt. Die Ergebnisse der Netzwerke sind in Tabelle 4.4 zusammengefasst. Die Vorhersage der Testkonzentrationen von Ethanol und 1-Propanol gelingt mit 8,7 % bzw. 9,6 % besser als im ternären Gemischplan.

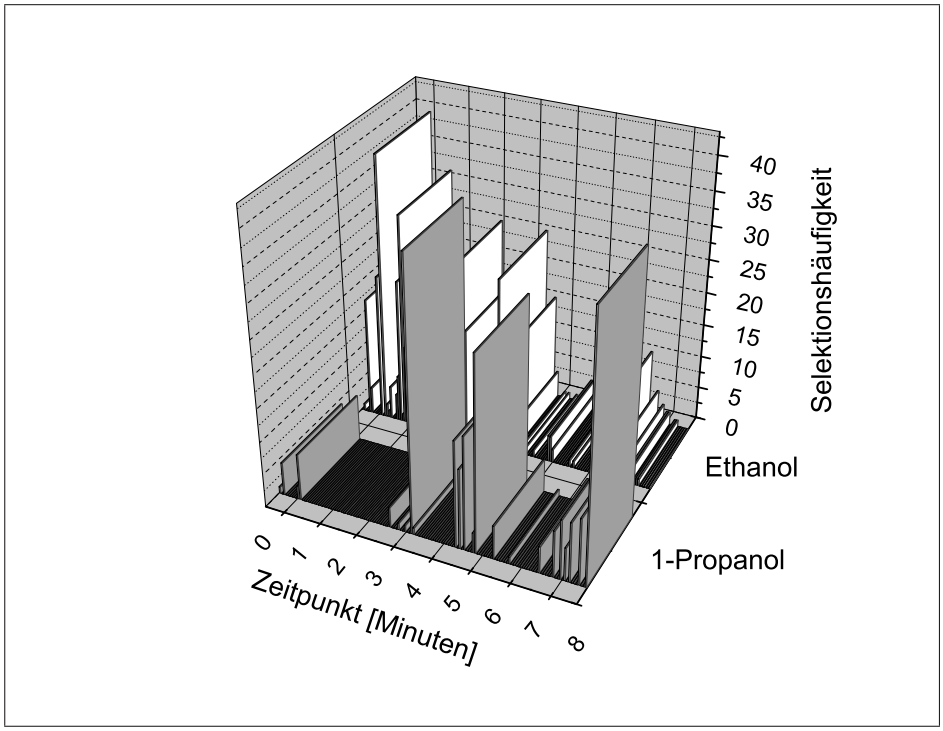

Abbildung 4.16: Selektionshäufigkeit der Featureselektionsprozedur der einzelnen Zeitpunkte für Ethanol und 1-Propanol.

Die Verwendung wachsender neuronaler Netze bringt eine deutliche Verminderung der Vorhersagefehler der Netzwerke. Die Fehler für beide Alkohole nehmen um über 1,5 % ab. Die vom Optimierungsalgorithmus ausgewählten Zeitpunkte sind in Abbildung 4.16 dargestellt. Für das binäre Gemisch werden für Ethanol ebenfalls über das gesamte angebotene Zeitintervall hinweg Messzeitpunkte ausgewählt, während

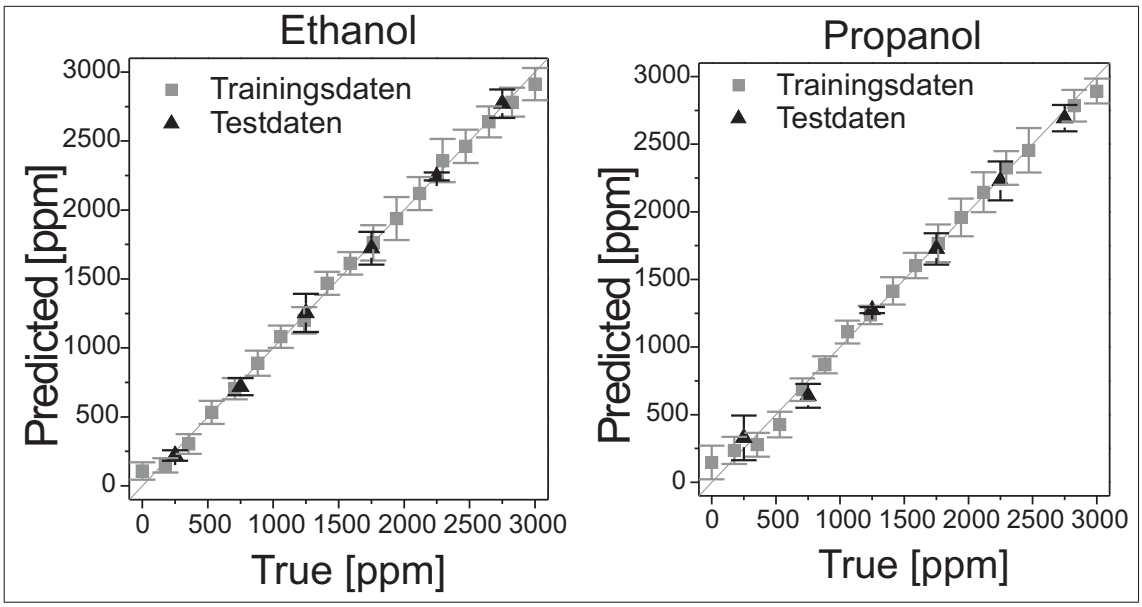

Abbildung 4.17: Durch künstliche neuronale Netze vorhergesagte Konzentrationen der Trainings- und Testdaten von Ethanol und 1-Propanol, jeweils als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

für 1-Propanol hauptsächlich Zeitpunkte der Desorption selektiert werden. Man erkennt eine deutliche Ähnlichkeit im Muster der ausgewählten Messzeitpunkte zu denen für das ternäre Gemisch in Abbildung 4.15.

Die von den optimierten wachsenden neuronalen Netzen vorhergesagten Mittelwerte sind in Abbildung 4.17 als True-Predicted-Plots dargestellt. Für beide Analyte liegen die Mittelwerte relativ gut auf der Diagonalen mit kleinen Abweichungen bei den niedrigsten und höchsten Konzentrationen.

	Ethanol		1-Propanol	
Datensatz	Training C	Test D	Training A	Test D
ANN	5,6	8,7	8,1	9,6
ANN, wachsend	7,3	5,8	8,3	8,1
PCR	11,9	9,5	12,7	10,7

Tabelle 4.4: Relativer RMSE der Trainings- und Testdaten in % für Ethanol und 1-Propanol für den binären Trainingsplan ohne Wasser unter Verwendung von vollverknüpften, wachsenden neuronalen Netzen und PCR.

Bei Verwendung von PCR zur Datenauswertung sind die Fehler deutlich höher und es findet sich ein systematischer Fehler in der Vorhersage (siehe Abbildung 4.20).

- **Vorhersage von Testdaten mit Verunreinigungen**

Zur Simulation des Einflusses von Wasser auf die Vorhersagefähigkeit wurden mit den mit Trainingsdatensatz C trainierten neuronalen Netzen die Testdaten aus dem Datensatz B vorhergesagt.

In Tabelle 4.5 sind die Ergebnisse des Trainings mit Datensatz C und die Vorhersage von Datensatz B gegeben. Die Ergebnisse für Ethanol sind mit 11,7 % für die vollverknüpften bzw. 10,2 % für die wachsenden Netze nur um wenige Prozent schlechter, als wäre kein Wasser in den Testdaten vorhanden. Für 1-Propanol ergeben sich ebenfalls um wenige Prozente schlechtere Vorhersagen als ohne Wasser im Testdatensatz. Für das Training der wachsenden neuronalen Netze wurden die Eingabezeitpunkte aus Abbildung 4.16 verwendet. Die selektierten Zeitpunkte sind unabhängig vom Testdatensatz, sie hängen nur vom Trainingsdatensatz ab.

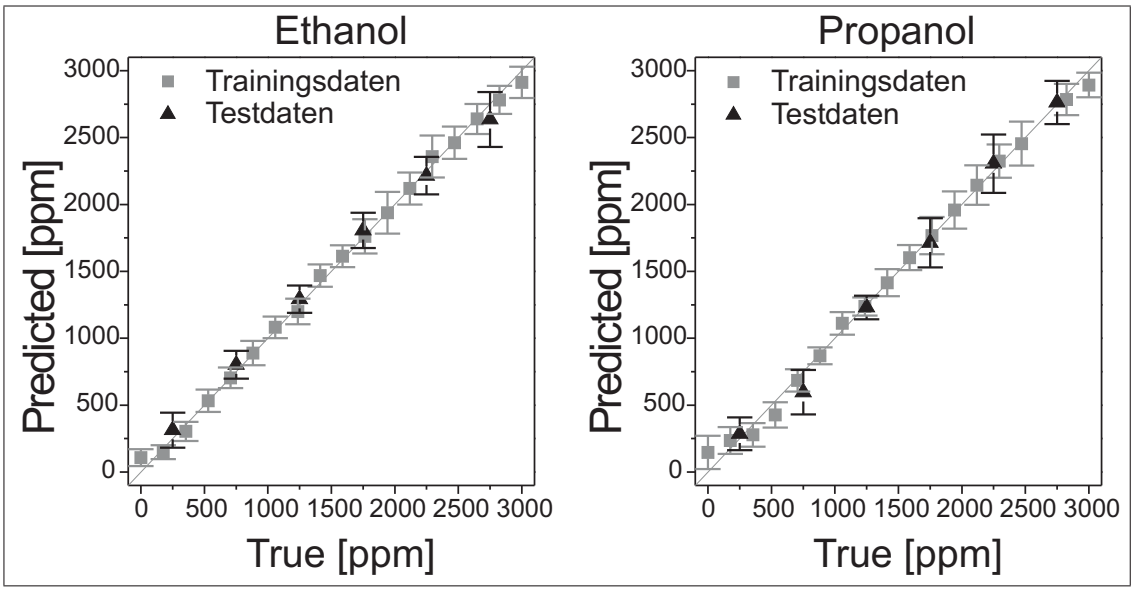

Abbildung 4.18: Durch künstliche neuronale Netze vorhergesagte Konzentrationen der Trainings- und Testdaten von Ethanol und 1-Propanol, wobei in den Testdaten Wasser enthalten ist, jeweils als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

Abbildung 4.18 zeigt die von den optimierten Netzen vorhergesagten Trainings- und Testkonzentrationen von Ethanol und 1-Propanol. Die systematischen Fehler sind relativ klein, während die zufälligen Fehler im Vergleich zu den Testdaten ohne Wasser etwas erhöht sind.

In Abbildung 4.19 ist die Entwicklung des Vorhersagefehlers der Testdaten bei der Vorhersage von Konzentrationen mit und ohne Wasser in den Testdatensätzen in

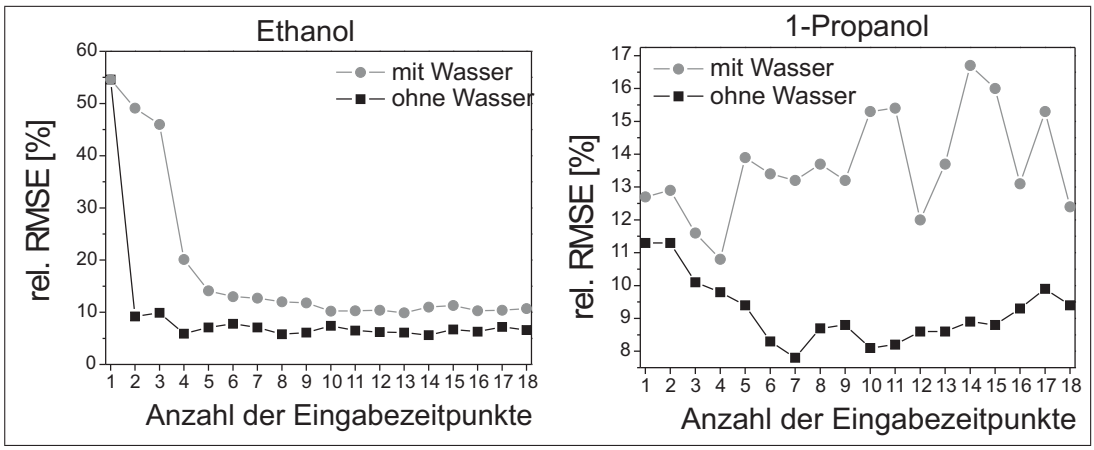

Abbildung 4.19: Entwicklung des Vorhersagefehlers bei Variation der Anzahl der Eingabeneuronen zwischen 1 und 18.

Abhängigkeit der Anzahl der verwendeten Eingabeneuronen aufgetragen. Für Ethanol erkennt man eine starke Abnahme des Vorhersagefehlers bei einer Erhöhung der Neuronenzahl bis zu einer Anzahl von fünf Eingabeneuronen. Danach sinkt der Fehler nur noch langsam, erreicht ein Minimum und steigt dann wieder leicht an. Die Vorhersage der Propanolkonzentration ist schon mit relativ wenigen Eingabeneuronen möglich. Sie erreicht ihr Fehlerminimum bei sieben bzw. vier verwendeten Eingabezeitpunkten, danach ist ein Anstieg des Vorhersagefehlers zu beobachten.

	Ethanol		1-Propanol	
Datensatz	Training C	Test B	Training C	Test B
ANN	5,6	11,7	8,1	12,9
ANN, wachsend	7,3	10,2	8,3	11,6
PCR	11,9	36,5	12,7	12,9

Tabelle 4.5: Relativer RMSE der Trainings- und Testdaten in % für Ethanol und 1-Propanol für den binären Trainingsplan mit Wasser in den Testdaten unter Verwendung von vollverknüpften und wachsenden neuronalen Netzen sowie PCR.

Wenn hingegen die Hauptkomponentenregression zur Auswertung verwendet wird, wird die Vorhersage der Ethanolkonzentrationen aus den Testdaten sehr viel schlechter, der Fehler nimmt auf 36,5 % zu. In Abbildung 4.20 sind die vorhergesagten Konzentrationen dargestellt. Für beide Diagramme erkennt man die systematischen Fehler in den Trainingsdaten, welche S-förmig um die Winkelhalbierende gewunden sind. Die Testdaten ohne Wasser als Verunreinigung zeigen einen ähnlichen systematischen Fehler. Die Testdaten mit Wasser zeigen einen sehr großen systematischen

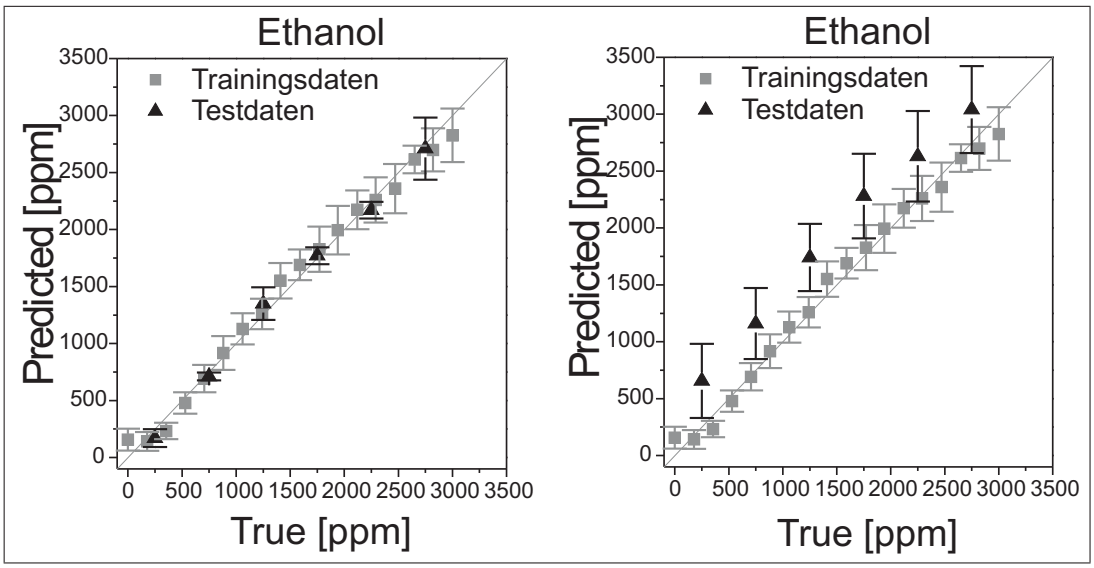

Abbildung 4.20: Durch PCR vorhergesagte Konzentrationen der Trainings- und Testdaten ohne (links) und mit (rechts) Wasser im Trainingsdatensatz. Zur Übersichtlichkeit jeweils als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

und zufälligen Fehler. Die Ethanolkonzentrationen werden generell viel zu hoch vorhergesagt und auch die Fehlerbalken sind sehr viel größer.

Der Einfluss der Verunreinigungen auf die Vorhersage von Ethanol ist deutlich größer als auf 1-Propanol. Hier unterscheiden sich die Fehler deutlich weniger von den Vorhersagefehlern der neuronalen Netze, allerdings findet sich auch hier ein systematischer Fehler.

4.1.3.5. Zusammenfassung

Durch die Messungen der vier vollfaktoriellen Gemischpläne konnte ein direkter Vergleich des Einflusses von Luftfeuchtigkeit auf die Leistungsfähigkeit des Makrolonsensors untersucht werden. Die Auswertung der Datensätze wurde so durchgeführt, dass ein Vergleich der neuronalen Netze, die mit und ohne Luftfeuchtigkeit trainiert wurden, möglich war. Es konnte gezeigt werden, dass die Quantifizierung von Alkoholen in einem binären Gemisch auch bei Anwesenheit von relativer Luftfeuchtigkeit in den Testdaten möglich ist, obwohl die neuronalen Netze ohne Wasser trainiert wurden. Durch eine Optimierung der neuronalen Netze können die Vorhersagefehler in allen vorgestellten Fällen gesenkt werden. Außerdem wurde ein Vergleich zur Auswertung mit der Hauptkomponentenregression vorgestellt. Diese versagt bei dem gegebenen Problem allerdings.

4.2. Poly-(n-butyl-methacrylat)

4.2.1. Einleitung

Das Verhalten von Polymeren in einem Bereich um die Glasübergangstemperatur T_G ist in den letzten Jahren Gegenstand von intensiven Untersuchungen gewesen. Viele Gruppen haben sowohl experimentell als auch theoretisch das Verhalten der Polymere an der Glasübergangstemperatur untersucht [70, 129]. Die Untersuchung des Verhaltens eines Polymers in der Nähe der Glastemperatur mit Hilfe der Oberflächenplasmonenresonanz sollte Informationen über die Wechselwirkung von leichtflüchtigen organischen Stoffen mit der Polymerstruktur liefern. Insbesondere Änderungen in der Wechselwirkungskinetik und Veränderungen in den Sorptionsisothermen der untersuchten Analyten sollen hier vorgestellt werden. Da die Glasübergangstemperatur T_G kein exakter Punkt ist [130], sondern sich über einen relativ großen Bereich erstreckt, ist auch für die SPR-Messungen kein scharfer Übergang von den glasartigen zu den gummiartigen Polymereigenschaften zu erwarten. Dieses Strukur-Eigenschafts-Verhältnis von Polymeren hängt sowohl von der Messmethode und der Vorgeschichte des Polymers als auch vom verwendeten Messzeitraum ab, weshalb Diskrepanzen zu den in der Literatur berichteten Werten möglich sind. Für das hier verwendete Poly-(n-butyl-methacrylat) gibt der Hersteller eine Glasübergangstemperatur von 293 K an. Dieser Wert findet sich auch in der Literatur [54] wieder. Die Messungen wurden im Temperaturbereich von 283 bis 298 K durchgeführt, da dieser Bereich zum einen mit Wasser als Thermostatisierungmedium gut abgedeckt werden kann und er zum anderen groß genug ist, um Unterschiede im Verhalten zwischen Polymer und den Analyten zu beobachten.

Die sensitiven PBMA-Schichten wurden durch Spincoating hergestellt, wobei die Parameter so gewählt wurden, dass die Schichtdicke 450 nm betrug. Die Schichtdicke wurde mit Hilfe des Alphasteppers und durch Spektrale Ellipsometrie bestimmt. Da die Polymerschichtdicke über der dreifachen Testtiefe des evaneszenten Feldes lag, wurden nur Wechselwirkungen der Analyte in der Polymerschicht detektiert, der Gasraum darüber wurde von den Messungen nicht mit erfasst. Exemplarisch sollen hier Messungen mit Ethanol und Toluol vorgestellt werden, da diese beiden Stoffklassen als Modellsystem leicht zugänglich sind und mit ihnen die Gemeinsamkeiten und Unterschiede bei Messungen ober- und unterhalb von T_G beobachtet werden können.

4.2.2. Messungen von Ethanol und Toluol

Zur Untersuchung der Wechselwirkungschrakteristika von PBMA wurden zunächst Alkohole vermessen, da diese Verbindungsklasse auch mit anderen Polymeren als sensitive Schichten bereits relativ ausführlich untersucht wurde, wodurch Vergleiche mit anderen, bei den jeweiligen Messbedingungen glas- bzw. gummiartigen Polymeren möglich sind. Im Folgenden sollen Messungen mit Ethanol vorgestellt werden, wobei die Messungen im Konzentrationsbereich von 0 bis 7250 ppm durchgeführt wurden. Jede Konzentration wurde zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit mindestens dreimal vermessen. Nach Vermessung des gesamten Konzentrationsbereichs bei einer Temperatur wurde die Messtemperatur und damit die Polymertemperatur um 2,5 K erhöht. Insgesamt wurden Messungen im Temperaturbereich von 283 bis 298 K durchgeführt.

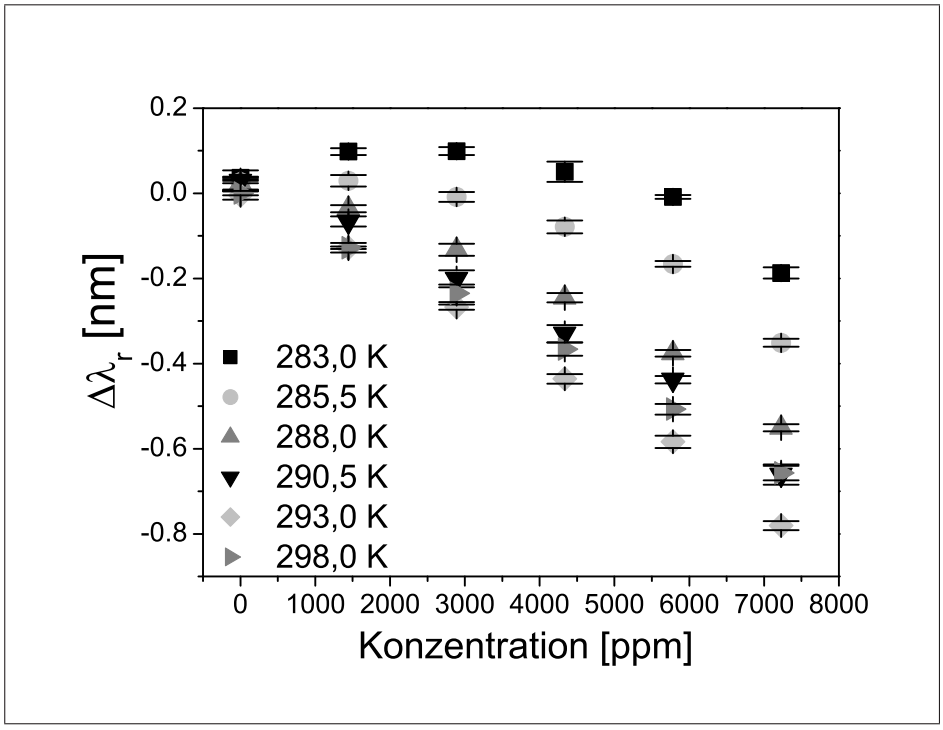

Abbildung 4.21: Kalibrierungskurven für Ethanol im Temperaturbereich von 283 bis 298 K.

Abbildung 4.21 zeigt die Mittelwerte der Sensorsignale von Ethanol im Temperaturbereich zwischen 283 bis 298 K. Konzentrationen zwischen 0 und 4000 ppm führen bei einer Messtemperatur von 283 K zu einer Zunahme des Brechungsindexes und damit zu einer Verschiebung der Resonanzwellenlänge zu höheren Wellenlängen. Dieses kann durch die Verdrängung von Luft bei dieser Messtemperatur aus dem glasartigen Polymer erklärt werden, der effektive Brechungsindex steigt dabei an.

Für höhere Konzentrationen beobachtet man, bedingt durch die Wechselwirkung von Ethanol mit der Polymermatrix, eine Abnahme des effektiven Brechungsindexes und damit eine Verschiebung der Resonanzwellenlänge zu kleineren Wellenlängen. Bei einer Erhöhung der Temperatur um 2,5 K wird bereits für eine Konzentration von 4000 ppm eine Verschiebung der Resonanzwellenlänge ins Negative beobachtet. Es liegt also bereits eine Veränderung der Polymerstruktur vor. Mit steigender Messtemperatur erkennt man deutlich die Zunahme der Verschiebung zu kleineren Resonanzwellenlängen und somit eine Zunahme des Signals mit der Temperatur. Für Temperaturen oberhalb der angegebenen Glastemperatur ist ein deutlicher Verlauf der Isothermen nach Flory-Huggins zu beobachten. Man erkennt den Übergang des Polymers vom glasartigen in den gummiartigen Zustand bei der Wechselwirkung mit Ethanol. Andere Alkohole zeigen entsprechende Ergebnisse.

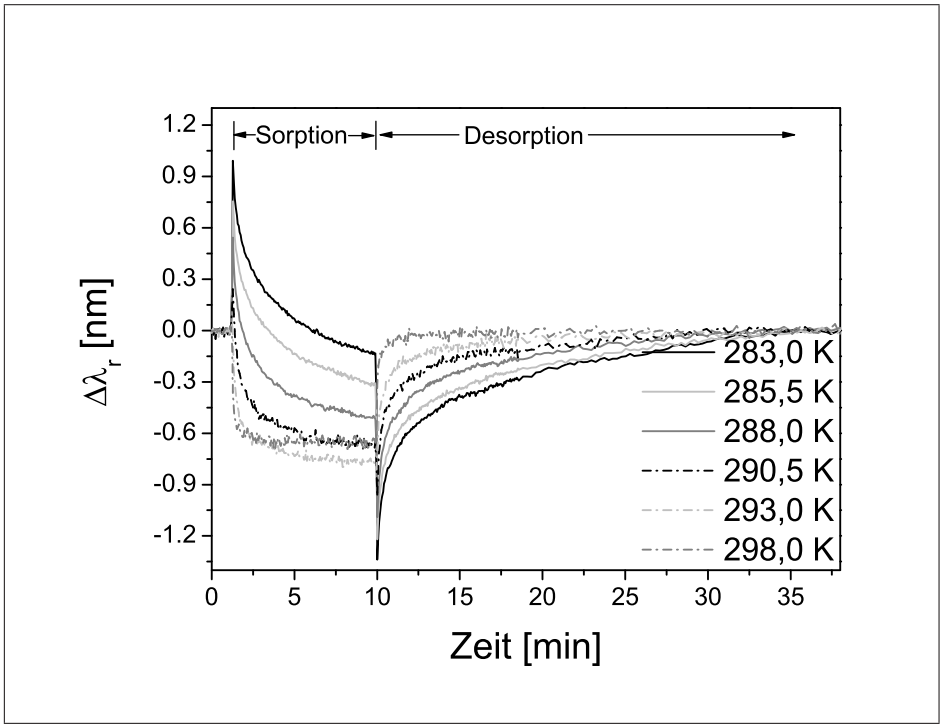

Abbildung 4.22: Wechselwirkungskinetiken von Ethanol im Temperaturbereich zwischen 283 bis 298 K mit PBMA bei einer Konzentration von 7200 ppm.

Die Wechselwirkungskinetiken von Ethanol mit dem PBMA-Polymer sind in Abbildung 4.22 ebenfalls für den Temperaturbereich von 283 bis 298 K für eine Konzentration von 7200 ppm dargestellt. Für Temperaturen unterhalb der Glastemperatur erkennt man zunächst einen starken Anstieg der Resonanzwellenlänge, welcher durch die Verdrängung von Luft aus dem Polymer erklärt werden kann. Für das glasartige Polymer Makrolon ist in [17] ein ebensolches Verhalten für die Wechselwirkung mit

Alkoholen beschrieben. Wenn die Luft verdrängt ist, können weitere Analytmoleküle mit der Polymermatrix wechselwirken. Dieses lässt sich durch einem Abfall des Signals und somit einer Abnahme des effektiven Brechungsindexes beobachten. Nach Beendigung der Analytexposition beobachtet man zunächst eine Verdrängung der Analyten aus der Porenstruktur, resultierend in einer starken Abnahme der Resonanzwellenlänge, gefolgt von einer Desorption der Analyten aus dem Polymer und damit einer Rückkehr des Signals auf die Basislinie. Die sprunghafte Änderung der Resonanzwellenlänge wird mit steigender Temperatur immer weniger beobachtet, und die Rückkehr auf die Basislinie verläuft in kürzeren Zeitspannen. Oberhalb der Glasübergangstemperatur ist diese sprunghafte Änderung nicht mehr zu beobachten. Stattdessen wird eine Einstellung des Gleichgewichts zwischen Gas- und Polymerphase innerhalb einiger Minuten beobachtet. Diese Beobachtungen sprechen für ein Aufweichen der Polymerstruktur mit steigender Temperatur und somit für einen Übergang vom glasartigen zum gummiartigen Zustand des Polymers. Die Geschwindigkeit der Wechselwirkungskinetik nimmt ebenfalls mit steigender Temperatur zu, sowohl die Einstellung des Sättigungssignals als auch die Rückkehr zur Basislinie verläuft schneller.

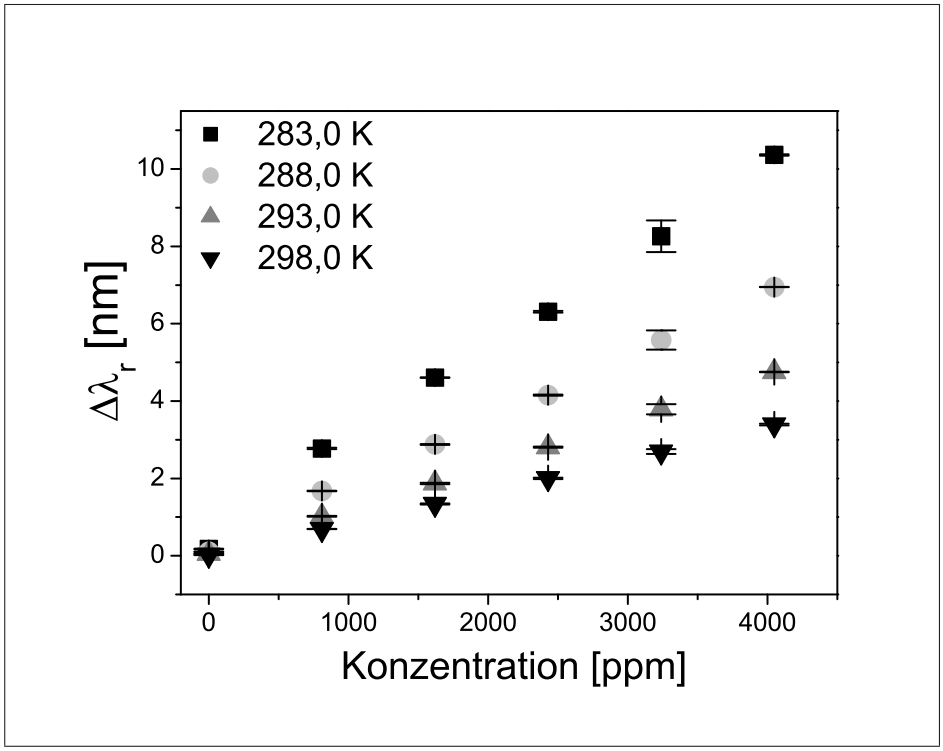

Abbildung 4.23: Kalibrierungskurven für Toluol im Temperaturbereich zwischen 283 bis 298 K.

Abbildung 4.23 zeigt die Gleichgewichtssignale von Toluol im Temperaturbereich zwischen 283 bis 298 K für sechs Konzentrationsstufen zwischen 0 und 4000 ppm.

Die Wechselwirkung von Toluol mit dem PBMA-Polymer führt generell zu einer Verschiebung der Resonanzwellenlänge zu größeren Wellenlängen, was eine Erhöhung des effektiven Brechungsindexes durch diesen Analyten bedeutet. Dieses kann durch den Brechungsindex von Toluol, der mit $n_D = 1{,}4961$ relativ hoch ist, erklärt werden. Bei Erhöhung des Messtemperatur weicht die Polymerstruktur auf und man beobachtet eine weniger ausgeprägte Dehnung des Polymernetzwerks durch Toluol, welches in einer Abnahme des Signals über den gesamten Konzentrationsbereich mit steigender Temperatur resultiert. Die Reproduzierbarkeit der Messungen ist jedoch über den gesamten Temperaturbereich sehr gut. Die Kalibrierungskurven verlaufen über den gesamten Konzentrationsbereich relativ linear.

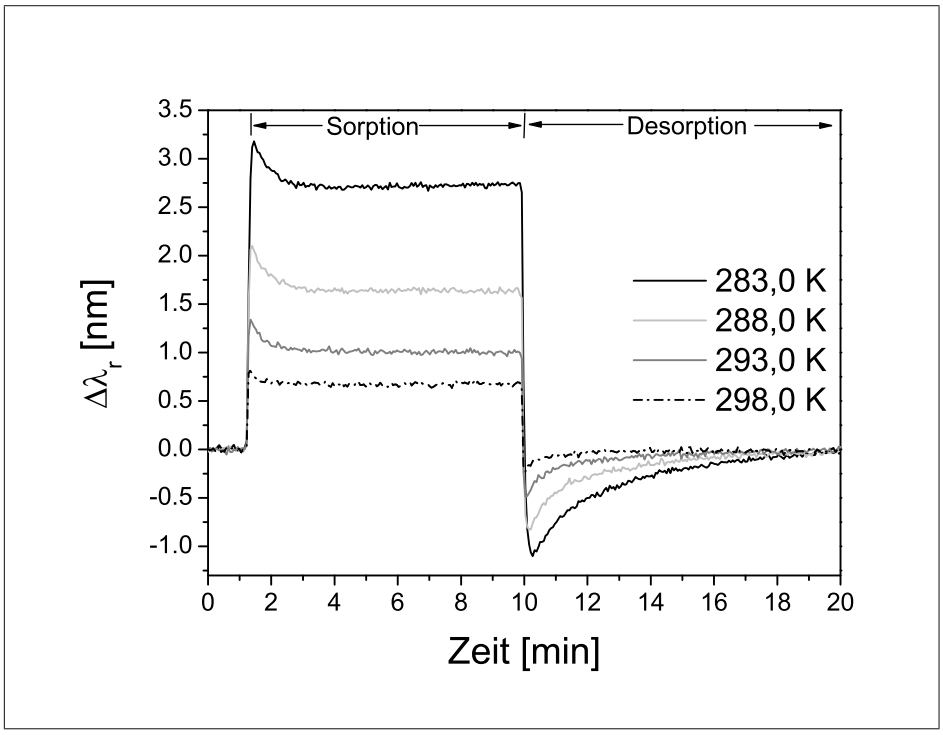

Abbildung 4.24: Wechselwirkungskinetiken von Toluol mit PBMA im Temperaturbereich zwischen 283 bis 298 K für eine Konzantration von 4000 ppm.

Bei Betrachtung der Kinetiken ist auch für die Wechselwirkung von Toluol mit Poly-(n-Butylmethacrylat) zunächst ein Anstieg der Resonanzwellenlänge mit anschließendem Abfall auf das Gleichgewichtssignal zu beobachten. Dieser Anstieg ist jedoch weniger stark als für Ethanol, da weniger Hohlräume im Polymer für Toluol zur Verfügung stehen. Die Form der Wechselwirkungssignale ist in Abbildung 4.24 dargestellt. Es findet sich ebenfalls eine Veränderung in Abhängigkeit von der Messtemperatur. Die Wechselwirkungsgeschwindigkeit erhöht sich mit zunehmender Temperatur deutlich, was besonders in der Phase der Desorption deutlich wird.

Während bei 298 K die Basislinie praktisch sofort erreicht wird, dauert dieses bei 283 K einige Minuten. Bei dieser Temperatur wird zunächst eine deutliche Abnahme des effektiven Brechungsindexes beobachtet, gefolgt von der Rückkehr des Signals auf die Basislinie verursacht durch die Desorption des Analyten aus dem Polymernetzwerks.

4.2.3. Zusammenfassung

Die Messungen von PBMA ober- und unterhalb der Glastemperatur geben einen interessanten Einblick in die Wechselwirkungsprinzipien zwischen Polymer und gasförmigen Analyten. Die Änderung des Wechselwirkungsverhaltens von Poly-(n-butyl-methacrylat) beim Überschreiten der Glastemperatur mit den beiden Analyten Ethanol und Toluol konnte deutlich beobachtet werden. Während unterhalb von T_G deutlich die Eigenschaften eines glasartigen Polymers dominieren und eine schlagartige Änderung des Brechungsindexes durch Analytexposition beobachtet wird, sind oberhalb der T_G Eigenschaften eines gummiartigen Polymers zu beobachten. Dieses hat sowohl Einfluss auf die Sorptionsisothermen als auch auf die Wechselwirkungskinetiken beider Analyten. Durch Veränderung der Messtemperatur können somit sensitive Schichten für die jeweiligen Analyten maßgeschneidert werden. Besonders eine Beeinflussung der Wechselwirkungskinetiken ist durch Variation der Temperatur möglich.

4.3. L-Chirasil-Calix

4.3.1. Einleitung

Da häufig nur ein Enantiomer einer chiralen Verbindung die nützliche Eigenschaften besitzt, ist eine Analyse von Produktionsprozessen und eine Überwachung von medizinischer Diagnostik sehr wichtig. Sensoren können hierbei einen wichtigen Beitrag leisten, da sie eine online-Überwachung ermöglichen. Die Detektion chiraler Stoffe ist eine große Herausforderung, da die physikalischen und chemischen Eigenschaften in einer nicht-chiralen Umgebung identisch sind. Im Gegensatz zur Trennung mit chromatographischen Methoden steht in der Sensorik nur ein theoretischer Boden für die Unterscheidung der Enantiomere zur Verfügung. Der Vorteil eines Sensors für diese Aufgaben ist jedoch die kontinuierliche und reversible Überwachungsmöglichkeit der zu untersuchenden Komponenten bei Raumtemperatur.

In diesem Kapitel wird die Anwendung eines Calixaren-Selektors in der SPR vorgestellt. Calixarene werden in der Chromatographie zur Trennung von Enantiomeren von Milchsäureestern, Aminosäurederivaten und diversen anderen Stoffklassen eingesetzt. Als Selektor wirkt hierbei die mit chiralen Amiden modifizierte becherartige Erkennungstruktur (siehe Kapitel 3.2.2.3). Die sensitiver Schichten für die Oberflächenplamonenresonanz wurde mittels Spincoating präpariert. Eine PDMS-Schicht wurde als Referenz mit Hilfe der Reflektometrischen Interferenzspektroskopie parallel vermessen. Somit war es möglich, Unterschiede im Verdampfungsverhalten der Enantiomere gegebenenfalls auszugleichen und die Aussagen der Sensorsignale statistisch zu untermauern.

Vermessen wurden Milchsäureester und Aminosäurederivate. Milchsäureester werden industriell hergestellt und sind somit beide Enantiomere kommerziell erhältlich. Sie sind ein gut verfügbares und kostengünstiges Modellsystem, um die Leistungsfähigkeit der sensitiven Schicht zu überprüfen. Aminosäuren spielen eine wichtige Rolle in der Natur. Die Wechselwirkung ihrer Derivate wurde ebenfalls untersucht. Es wurden jeweils die Sensorsignale im Gleichgewicht zwischen Polymer- und Gasphase ausgewertet und die Unterschiede in der Verschiebung der Resonanzwellenlänge bzw. des Extremums ausgewertet.

4.3.2. Lactatester

Das erste Ziel war es, die Fähigkeit von L-Chirasil-Calix zur Unterscheidung von Enantiomeren beim Einsatz in der Sensorik zu demonstrieren. Hierzu wurden Milchsäuremethylester mit Hilfe von SPR und RIfS vermessen. Die kleinen Trennfaktoren dieser Verbindungsklasse auf Calixarenphasen in der cGC machen sie zu einem guten System, um die Leistungsfähigkeit der Messmethoden zu testen.

Die sensitiven Schichten wurden mit abwechselnden Sequenzen von verschiedenen Konzentrationen an Lactatestern und getrockneter Luft begast. Die Sensorsignale wurden jeweils nach Einstellung des Gleichgewichts zwischen Polymer- und Gasphase ausgewertet. In Abbildung 4.25 sind die Sättigungssignale bei Exposition gegenüber drei verschiedenen Konzentrationen von D- und L-Methyllactatester im Konzentrationsbereich zwischen 330 und 560 ppm dargestellt. Die Sensorsignale für das D-Enantiomer sind über den gesamten Messbereich höher als die Signale des L-Enantiomers. Somit ist die Wechselwirkung zwischen L-Chirasil-Calix und dem D-Enantiomer des Milchsäureesters stärker als die Wechselwirkung zwischen sensitiver Schicht und dem L-Enantiomer. Diese Ergebnisse stehen in völliger Übereinstimmung mit gaschromatographischen Messungen. Dort wird auf einer L-Chirasil-Calix

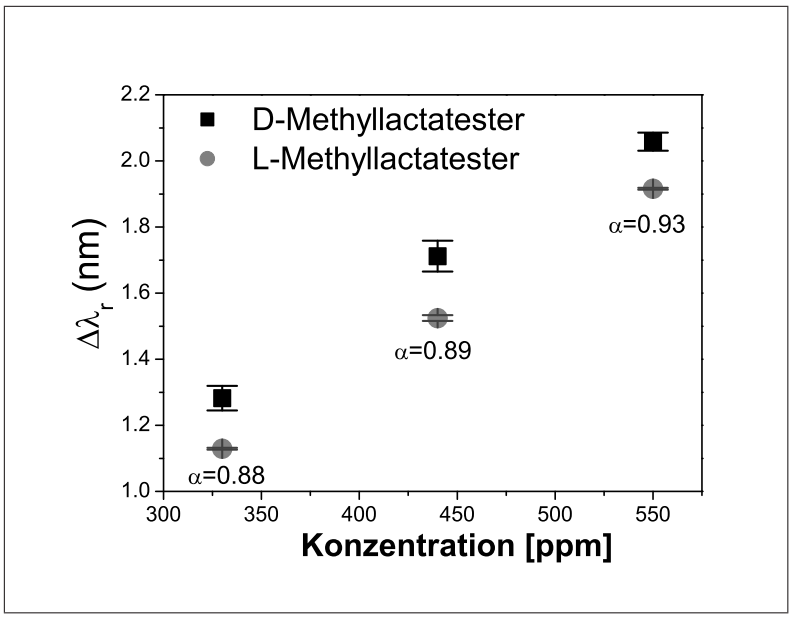

Abbildung 4.25: SPR-Messung von drei Konzentrationen zwischen 330 und 560 ppm von D- und L-Methyllactatester mit L-Chirasil-Calix. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung sowie die Trennfaktoren α.

Säule immer das L-Enantiomer vor dem D-Enantiomer eluiert [58]. Die Sensorsignale und die Eluationsreihenfolge in der cGC werden durch theoretische Betrachtungen des Komplexes zwischen Selektor und Analytmolekül bestätigt [77]. An den geringen Fehlerbalken der Messung erkennt man die gute Reproduzierbarkeit der Sensorsignale. Die für die Konzentrationen berechneten Trennfaktoren α sind für alle Konzentrationen kleiner als 1, da das D-Enantiomer auf dem L-Polymer das höhere Signal ergibt.

Konzentration [ppm]	330	440	550
L-Chirasil-Calix	0.88	0.89	0.93
PDMS-Referenz	0.93	0.96	0.97

Tabelle 4.6: Vergleich der Trennfaktoren α auf L-Chirasil-Calix und Referenzpolymer für Milchsäureester.

Die Ergebnisse der RIfS-Messung der Milchsäuremethylester auf dem nicht-chiralen PDMS-Referenzpolymer sind in Abbildung 4.26 dargestellt. Man erkennt, das mit diesem unchiralen Polymer keine Trennung der Sensorsignale möglich ist. Die Fehlerbalken beider Sensorsignale überlappen, somit ist keine statistische Unterscheidung der Enantiomere möglich. Die Trennfaktoren liegen deutlich dichter bei eins als für die L-Chirasil-Calix-Schicht.

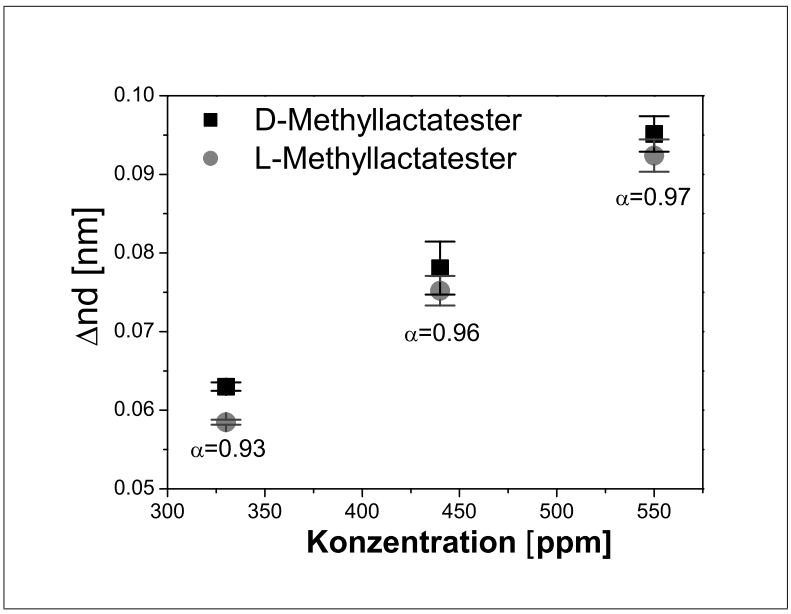

Abbildung 4.26: RIfS-Messung mit dem PDMS-Referenzsensor von drei Konzentrationen zwischen 330 und 560 ppm von D- und L-Methylester. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung sowie die Trennfaktoren α.

Die Trennfaktoren für die Milchesäuremethylester sind in Tabelle 4.6 noch einmal zusammengefasst. Man erkennt, dass die Trennfaktoren des L-Chirasil-Calix deutlich stärker von 1 abweichen, wodurch die Erkennungsfähigkeit der Enantiomere gezeigt werden konnte.

4.3.3. Aminosäurederivate

Die Trennung von derivatisierten Aminosäuren mit L-Chirasil-Calix ist gaschromatographisch gut untersucht [58]. Um Messungen in der Gasphase zu ermöglichen, müssen, wie in Kapitel 3.2.3 beschrieben, beide funktionelle Gruppen geschützt werden um den Dampfdruck erhöhen zu können. In der Gaschromatographie werden auf einer L-Chirasil-Calix-Säule zunächst die D-Aminosäurederivate eluiert. Die L-Enantiomere zeigen also die stärkere Wechselwirkung mit dem Selektormaterial und werden später eluiert. Es werden deutlich höhere Trennfaktoren als für die Milchsäureester erhalten [58].

Abbildung 4.27 zeigt die Verschiebung der Resonanzwellenlänge bei Exposition gegenüber der höchsten vermessenen Konzentration der beiden reinen Enantiomeren und dem racemischen Gemisch von N-TFA-Valin-OEt. Für alle Analyten wird eine Verschiebung zu höheren Wellenlängen und damit eine Erhöhung des effektiven Bre-

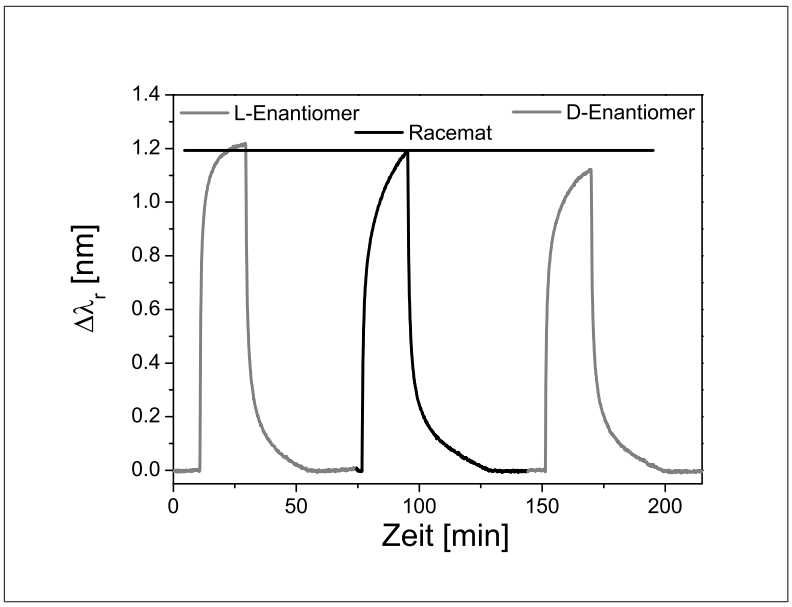

Abbildung 4.27: SPR-Signal von L-Chirasil-Calix bei Exposition gegenüber D-, L- und Racemat von N-TFA-Valin-OEt. Die Höhe des racemischen Signals ist zum Vergleich durch die schwarze Linie verdeutlicht.

chungsindexes beobachtet. Die Exposition des L-Enantiomers verursacht die größte Verschiebung der Resonanzwellenlänge, während das D-Enantiomer die kleinste hervorruft. Die Signalhöhe des Racemats wird durch den schwarzen Balken verdeutlicht. Sie liegt zwischen denen der beiden reinen Enantiomere. Diese Ergebnisse sind in Übereinstimmung mit cGC-Messungen und theoretischen Betrachtungen [58, 77].

Partialdruck [p_i/p_{i0}]	0,07	0,13	0,20	0,27	0,33
L-Chirasil-Calix	1,23	1,18	1,18	1,17	1,14
PDMS-Referenz	1,08	1,05	1,06	1,06	1,06

Tabelle 4.7: Vergleich der Trennfaktoren α auf L-Chirasil-Calix und Referenzpolymer für L-N-TFA-Valin-OEt.

Es wurden insgesamt fünf verschiedene Konzentrationen im Bereich von 0,07 bis 0,3 p_i/p_{i0} für D- und L-N-TFA-Valin-OEt vermessen. Die Oberflächenplasmonenresonanzmessungen mit L-Chirasil-Calix als sensitiver Schicht sind in Abbildung 4.28 dargestellt.

Man erkennt deutlich die im Vergleich zum D-Enantiomer höheren Signale für das L-Enantiomer über den gesamten Konzentrationsbereich. Die gefundenen Trennfaktoren sind deutlich größer als eins, was eine stärkere Wechselwirkung zwischen L-Enantiomer und L-Chirasil-Calix als zwischen L-Polymer und D-Enantiomer be-

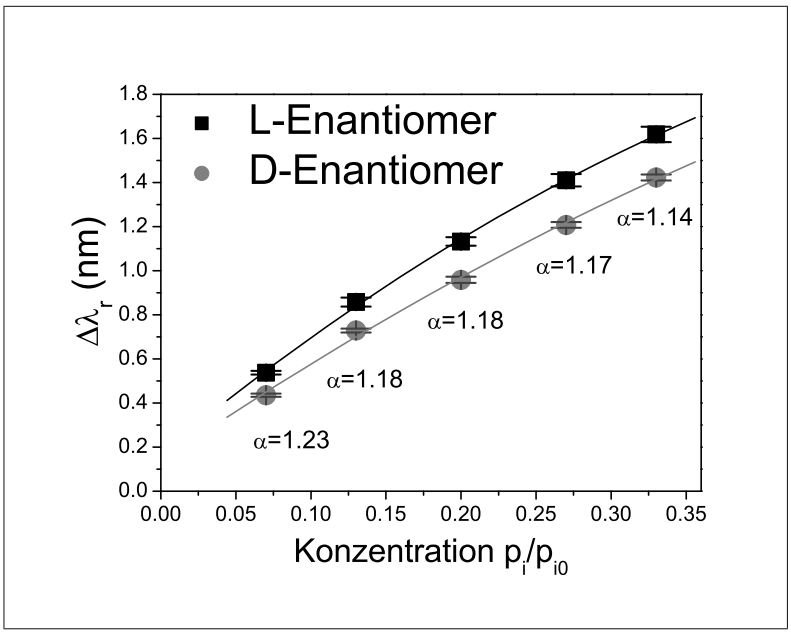

Abbildung 4.28: SPR-Signale im Konzentrationsbereich von 0,07 bis 0,3 p_i/p_{i0} für D- und L-N-TFA-Valin-OEt vermessen mit L-Chirasil-Calix, dargestellt als Mittelwert und Standardabweichung, sowie Trennfaktoren α.

deutet.

Abbildung 4.29 zeigt die RIfS-Signale des PDMS-Referenzpolymers, das im gleichen Konzentrationsbereich parallel vermessen wurde. Bedingt durch kleine Verunreinigungen im Analyten und eventuelle Schwankungen im Gasstrom sind auch die Trennfaktoren für das Referenzpolymer nicht exakt eins. Die Fehlerbalken dieser Messung überschneiden sich allerdings deutlich, womit keine signifikante Differenz der Sensorsignale messbar ist. Die Kalibrierungskurven des chiralen und des nicht-chiralen Polymers unterscheiden sich in ihrer Form deutlich. Während für das nicht-chirale PDMS-Polymer eine nahezu lineare Kalibrierungskurve gefunden wird, zeigt die Kalibrierungskurve für das L-Chirasil-Calix eine deutlich Krümmung. Die Steigung nimmt mit zunehmender Analytkonzentration ab, was durch die limitierte Anzahl an chiralen Bindungsstellen bedingt ist.

Die Trennfaktoren α nehmen ebenfalls in Übereinstimmung mit der Theorie mit zunehmender Konzentration ab (siehe Tabelle 4.7). Durch eine höhere Besetzung der Rezeptorstellen findet ihre Sättigung statt, wodurch die Fähigkeit zur chiralen Unterscheidung mit zunehmender Analytkonzentration abnimmt. Nach Sättigung der Rezeptoren kann eine weitere Zunahme des Signal nur noch auf die Wechselwirkung mit dem nicht-chiralen PDMS-Polymergerüst zurückgeführt werden.

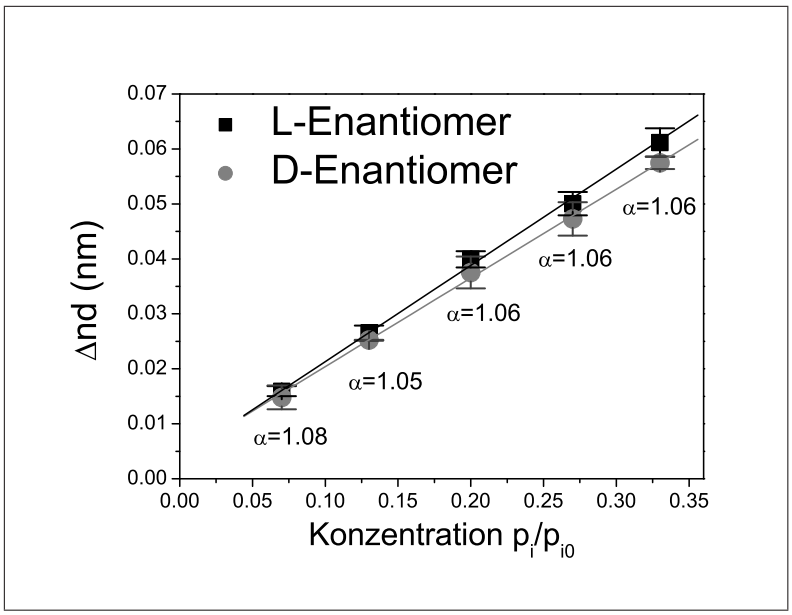

Abbildung 4.29: RIfS-Signale im Konzentrationsbereich von 0,07 bis 0,3 p_i/p_{i0} für D- und L-N-TFA-Valin-OEt vermessen mit dem PDMS-Referenzsensor als Mittelwert und Standardabweichung sowie Trennfaktoren α.

4.3.4. Zusammenfassung

Die erfolgreiche Anwendung der häufig in der Gaschromatographie verwendeten chiralen stationären Phase L-Chirasil-Calix in der optischen Sensorik wurde in diesem Kapitel demonstriert. Die Unterscheidung zwischen den Enantiomeren der Milchsäuremethylester und den derivatisierten Aminosäuren konnte gezeigt werden. Hierzu wurde auch das Wechselwirkungsverhalten im Vergleich zu einem nicht-chiralen PDMS-Referenzpolymer betrachtet und die Unterschiede aufgezeigt wurden. Beide Analytklassen konnten mit dem verwendeten chiralen Selektor unterschieden werden.

4.4. Molekulargeprägte Polymere

4.4.1. Einleitung

Der Einsatz von molekulargeprägten Polymeren in der Sensorik ermöglicht die Detektion einer großen Anzahl von interessanten Stoffklassen. Die in dieser Arbeit verwendeten molekulargeprägten Polymere wurden im Rahmen des EU-Projekts MENDOS (BioMimetic Optical Sensors for Environmental Endocrine Disruptor Screening) zur Detektion von endokrinen Disruptoren entwickelt. Die Präparation der molekulargeprägten Nanopartikel wurde von den Projektpartnern an der Technischen Universität München und der Universität von Lund durchgeführt. Im Rahmen dieser Arbeit wurde sowohl die Immobilisierung der bereitgestellten Nanopartikel auf SiO_2- als auch auf Goldoberflächen mit Hilfe von Ellipsometrie, AFM und SPR untersucht. Mit der Ellipsometrie konnte die Präparation des Schichtsystems, welches zur Immobilisierung der molekulargeprägten Nanopartikel notwendig ist, direkt beobachtet werden. Atomkraftmikroskopie bot die Möglichkeit, die Bedeckung der Oberfläche mit den Nanopartikeln zu überprüfen, während durch die SPR eine direkte Beobachtung der Immobilisierung auf der Oberfläche möglich war. Da die geprägten Nanopartikel bislang nicht für den Einsatz in Wasser hergestellt und optimiert wurden, der Einsatz in diesem Medium aber im Rahmen des Projekts gefordert wurde, sollte die Funktionsfähigkeit der MIP in Wasser getestet werden. Die Detektion von Benzo-[a]-Pyren in Wasser wurde mit Hilfe von Oberflächenplasmonenresonanz durchgeführt. Weiterhin war die Regeneration der Nanopartikel zum reversiblen und kontinuierlichen Einsatz auf der Sensoroberfläche Teil der Untersuchungen.

4.4.2. Immobilisierung auf Oberflächen

Die Immobilisierung des Schichtsystems und der Nanopartikel auf gereinigten Siliziumwafern wurde wie in Kapitel 3.3.6 beschrieben durchgeführt. Die Charakterisierung der modifizierten Oberflächen wurde zur Messungen des benötigten Schichtsystems mit Hilfe der Nullellipsometrie vorgenommen. Mit dieser Methode ist eine genaue und zerstörungsfreie Charakterisierung von sehr dünnen Schichten bis in den Monolagenbereich hinein möglich. Die Oberflächenbelegung wurde mit Hilfe der Atomkraftmikroskopie direkt überprüft, da die etwa 100 nm großen Nanopartikel mit Hilfe der AFM-Spitze auf der Oberfläche sichtbar gemacht werden können. Die Beobachtung der Immobilisierung der Nanopartikel mit Oberflächenplasmonen-

resonanz ist in Kapitel 4.4.4 beschrieben.

4.4.2.1. Ellipsometrie

Der erste Schritt zum Aufbau des Schichtsystems besteht in der Silanisierung der SiO_2-Oberfläche mit einem aminoterminierten Silan. Hierfür wurde 3-Amino-propyldimethylethoxysilan verwendet, welches relativ reaktionsträge ist, da nur eine funktionelle Gruppe zur Anbindung an die Oberfläche zur Verfügung steht. Daher wurden zunächst verschiedene Kontaktzeiten zur Absättigung der SiO_2-Oberfläche getestet. Ziel sollte die möglichst vollständige Ausbildung einer Silanmonolage auf der SiO_2-Oberfläche sein.

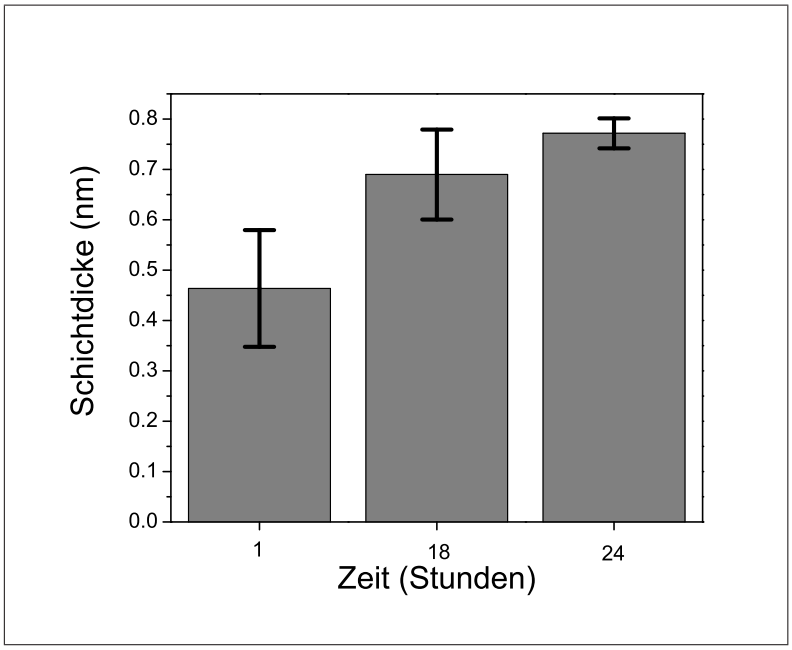

Abbildung 4.30: Schichtdicken bei der Immobilisierung von 3-Amino-propyldimethylethoxysilan auf SiO_2-Oberflächen für eine, 18 und 24 Stunden. Die Balken geben jeweils die Mittelwerte und Standardabweichungen der Nullellipsometriemessungen wieder.

In Abbildung 4.30 sind die mit Nullellipsometrie bestimmten Silanschichtdicken für eine Silanisierungsdauer von einer, 18 und 24 Stunden aufgetragen. Man erkennt, dass die Belegung der Oberfläche mit Aminosilan nach einer Reaktionszeit von einer Stunde noch nicht beendet ist. Auch die Reproduzierbarkeit der Oberflächenmodifikation ist relativ niedrig. Die Schichtdicke nach 18 Stunden ist deutlich höher als nach einer Stunde. Die Reproduzierbarkeit und die Schichtdicke allerdings noch geringer als nach einer Reaktionszeit von 24 Stunden. Reproduzierbarkeit sowie die

Belegung der Oberfläche mit ca. 0,77 ± 0,03 nm sind nach 24 Stunden am höchsten. Für die weiteren Untersuchungen wurden SiO_2-Oberflächen verwendet, die 24 Stunden lang silanisert wurden.

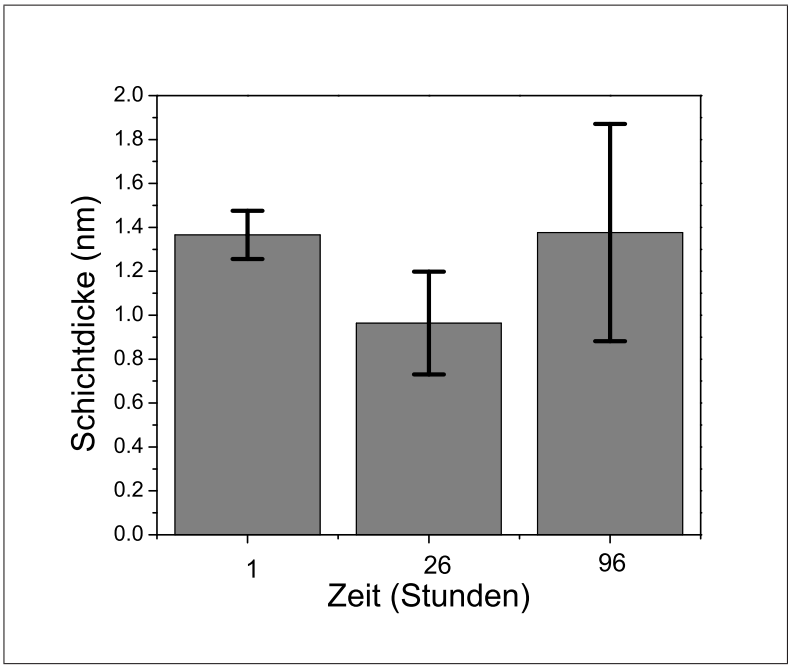

Abbildung 4.31: Immobilisierung der polyanionische PAMPS-Schicht und des aminoterminierten Silans auf Siliziumwafern dargestellt als Mittelwert der Gesamtschichtdicke und Standardabweichung.

Auf die Monolage des aminoterminierten Silans muss zur Immobilisierung der Nanopartikel durch elektrostatische Kräfte eine polyanionische Zwischenschicht aus Poly-2- acrylamido-2-methyl-1-propan-sulfonsäure aufgebracht werden. Dies geschieht aus einer wässrigen Lösung auf dem Rütteltisch. Auch hierbei spielen die Kontaktzeiten der aminosilanmodifizierten Siliziumwafer mit der PAMPS-Lösung eine wichtige Rolle in Hinblick auf Schichtdicke und Schichthomogenität. In Abbildung 4.31 sind die Dicken des Schichtsystems, bestehend aus Aminosilan und PAMPS, bei Reaktionszeiten von einer, 26 und 96 Stunden dargestellt. Die Ergebnisse mit der höchsten Reproduzierbarkeit liefert eine Reaktionszeit von einer Stunde. Man findet eine mittlere Schichtdicke von 1,37 ± 0,11 nm für das Schichtsystem aus Silan und PAMPS. Reaktionszeiten von einer Stunde sind also ausreichend. Im weiteren wird hiermit gearbeitet, da die Schichten durch eine längere Immobilisierungszeit deutlich inhomogener werden.

Abbildung 4.32 gibt den Aufbau des gesamten Schichtsystems, bestehend aus Aminosilan, PAMPS und molakulargeprägten Nanopartikeln auf Siliziumwafern wieder.

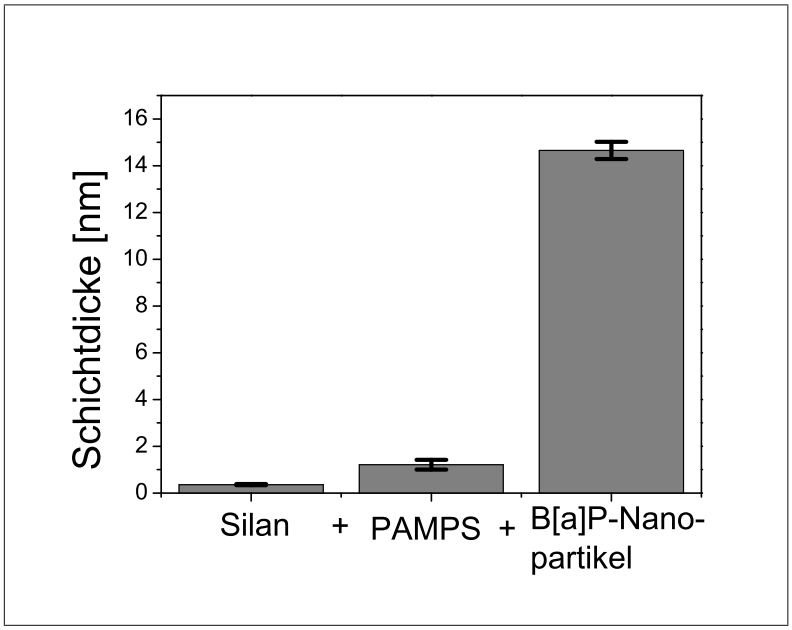

Abbildung 4.32: Aufbau des Schichtsystems aus Aminosilan, PAMPS und Nanopartikeln auf SiO_2-Wafern vermessen mit Nullellipsometrie.

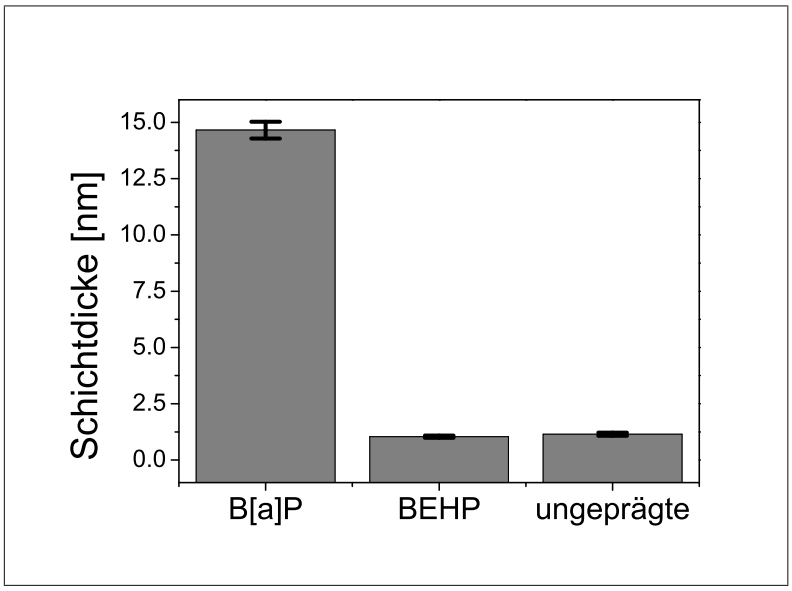

Abbildung 4.33: Vergleich der Schichtpräparation der Nanopartikel für B[a]P und BEHP sowie der nicht-molekulargeprägten Nanopartikel.

Man kann das Aufwachsen der Schichten auf dem Siliziumwafer deutlich beobachten. Auch die Reproduzierbarkeit der Schichtpräparation ist über die drei Schritte hinweg gut, wie man an den kleinen Fehlerbalken erkennt. Für das Schichtsystem ergibt sich eine Gesamtschichtdicke von 14,7 ± 0,4 nm. Da die Nanoparktikel aber eine mittlere Größe von 100 nm besitzen, erwartet man eine deutlich höhere Schichtdicke bei möglichst vollständiger Bedeckung der Oberfläche durch eine Monolage. Die gefundene Schichtdicke spricht für eine nur sehr partielle Bedeckung der Oberfläche (siehe hierzu auch 4.4.2.2).

Neben den Nanopartikeln für Benzo-[a]-pyren wurden von den Projektpartnern auch solche für BEHP (Bis(2-ethylhexyl)-phthalat) und nicht-molekulargeprägte Nanopartikel zur Verfügung gestellt. Diese Nanopartikel besitzen eine mittlere Größe von 200 nm. Es wurde versucht, sie nach der gleichen Vorschrift wie die B[a]P molekulargeprägten Nanopartikel zu immobilisieren. In Abbildung 4.33 wird jedoch für BEHP- und die nicht-molekulargeprägten Nanopartikel deutlich, dass eine Immobilisierung mit dieser Präparationsmethode auf der Siliziumoberfläche nicht möglich ist. Die erhaltene Schichtdicke entspricht in etwa der Summe aus aminoterminiertem Silan und PAMPS (siehe Abbildung 4.31).

4.4.2.2. AFM

Zur Überprüfung der Belegung der Oberfläche mit molekulargeprägten Nanopartikeln wurden AFM-Messungen an den vorher mit Ellipsometrie vermessenen Siliziumwafern durchgeführt.

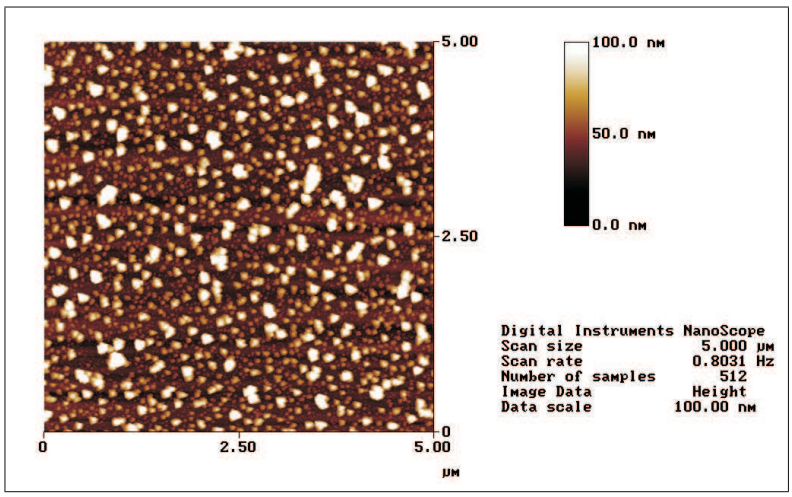

Abbildung 4.34: AFM-Messung einer mit molekulargeprägten Nanopartikeln beschichteten Siliziumoberfläche.

In Abbildung 4.34 ist eine mit auf B[a]P molekulargeprägten Naonopartikeln belegte

Siliziumwaferoberfläche dargestellt. Man erkennt die etwa 100 nm großen Partikel auf der Oberfläche. Allerdings wird ebenfalls deutlich, dass die Oberfläche nicht homogen mit Nanopartikeln bedeckt ist. Die Nanopartikel sind in Abbildung 4.34 als weiße Punkte zu erkennen und besitzen eine maximale Höhe von etwa 100 nm. Dies steht in Übereinstimmung mit den erwarteten Werten. Der Bedeckungsgrad ist relativ niedrig, was auch die geringere, ellipsometrisch bestimmte Schichtdicke erklärt (siehe Abbildung 4.32).

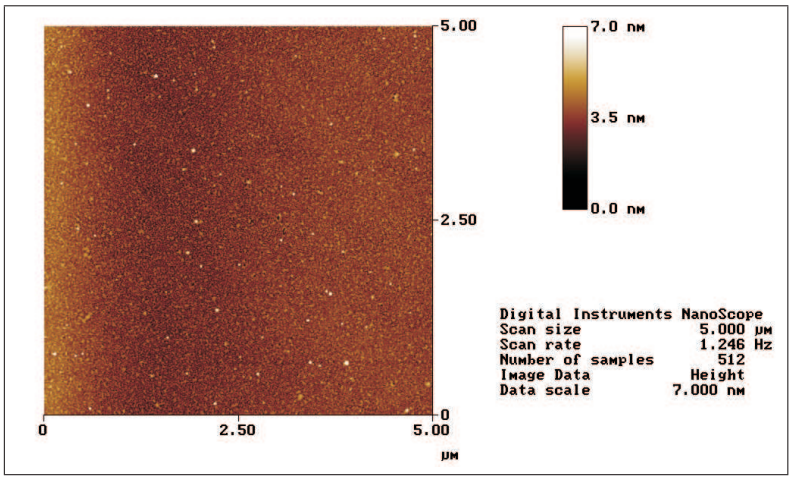

Abbildung 4.35: AFM-Messung einer mit nicht-molekulargeprägten Nanopartikeln modifizierten Siliziumoberfläche.

Ein mit nicht-molekulargeprägten Nanopartikeln behandelter Siliziumwafer ist in Abbildung 4.35 dargestellt. Auf der Oberfläche befinden sich keine Partikel. Dieses Ergebnis stimmt mit den Ergebnissen aus der Ellipsometrie überein (siehe Abbildung 4.33). Nanopartikel mit einer Größe von 200 nm lassen sich also nicht mit dem beschriebenen Verfahren auf der Oberfläche immobilisieren. Für diese Nanopartikel muss für die Immobilisierung auf der Oberfläche und damit für den Einsatz in der Sensorik entweder eine andere Präparationsmethode entwickelt oder die Größe der Nanopartikel reduziert werden.

4.4.3. Regenerierung der Nanopartikel

Die Regenerierung der sensitiven Schicht ist für den kontinuierlichen Einsatz als Sensoroberfläche von zentraler Bedeutung. Die geringe Löslichkeit von Benzo-[a]-Pyren in Wasser verhindert eine Autoregeneration der Nanopartikel praktisch vollständig [131]. Zur Aufreinigung der sensitiven Schicht nach der Messung des Analyten wurden verschiedene Ansätze getestet:

- Regeneration mit Acetonitril

Bei der Entfernung des Benzo-[a]-pyrens aus den Nanopartikeln mit Acetonitril wurden die Partikel teilweise und irreproduzierbar von der Oberfläche abgelöst. Eine Regenerierung auf diesem Wege ist also ausgeschlossen.

- Regeneration mit Methanol

Der Ansatz der Partikelregenerierung mit Methanol ist recht vielversprechend, denn die Partikel werden durch Methanol nicht von der Oberfläche abgelöst. Eine stabile Sensoroberfläche ist also gewährleistet und die Löslichkeit von B[a]P in Methanol ist wesentlich höher als in Wasser.

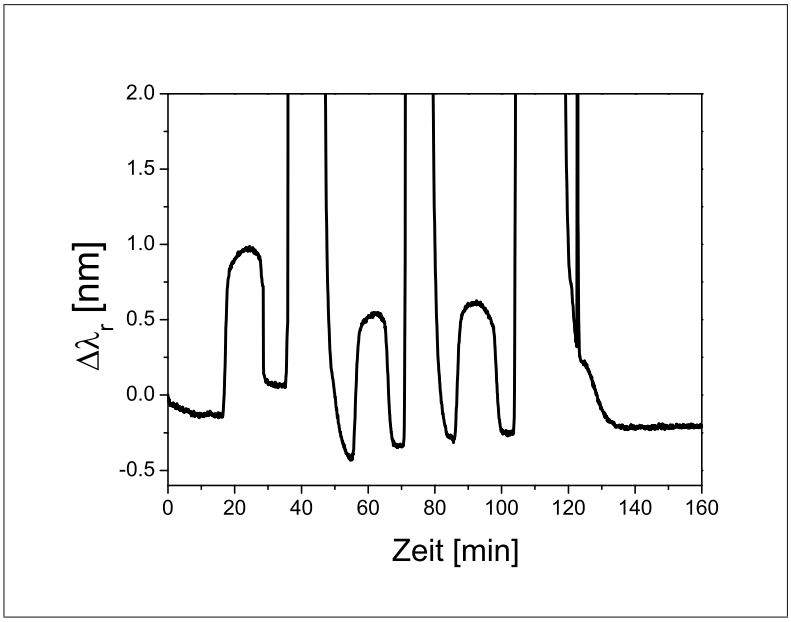

Abbildung 4.36: Regenerierung der Sensoroberfläche mit Methanol. Die Messzelle wurde jeweils alternierend mit Benzo-[a]-pyren und Methanol gespült. Die kleinen Signale zeigen die Wechselwirkung des Benzo-[a]-pyrens mit den Nanopartikeln, die großen die Regenerierung mit Methanol.

In Abbildung 4.36 ist eine Messung von Benzo-[a]-pyren in Wasser mit den entsprechenden Nanopartikeln dargestellt. Nach der Bindung des Benzo-[a]-pyrens mit den Partikeln wurde versucht, diese mit reinem Methanol zu regenerieren. Dargestellt ist eine Dreifachmessung, jeweils mit anschließendem Spülschritt. Die Reproduzierbarkeit der Messsignale ist nicht gegeben, die Sensorsignale werden mit jeder Messung kleiner. Bereits nach der dritten Messung ist praktisch kein Sensorsignal für die Bindung des Benzo-[a]-pyrens an die Nanopartikel mehr zu beobachten.

- Regeneration mit Methanol / Wasser

Um die Reproduzierbarkeit der Sensorsignale zu erreichen, wurde eine Regenerierung der sensitiven Oberflächen mit einem 50:50 Gemisch aus Methanol und Wasser getestet. Die Regenerierung mit diesem Gemisch funktioniert mit reproduzierbaren Ergebnissen. In Abbildung 4.37(c) ist die Regenerierung mit dem 50:50 Gemisch aus Methanol und Wasser dargestellt. Das Sensorsignal nimmt nicht, wie bei der Regenerierung mit Methanol, nach jeder Messung ab. Kontinuierliche Messungen sind also möglich.

4.4.4. Messungen von Benzo-[a]-Pyren

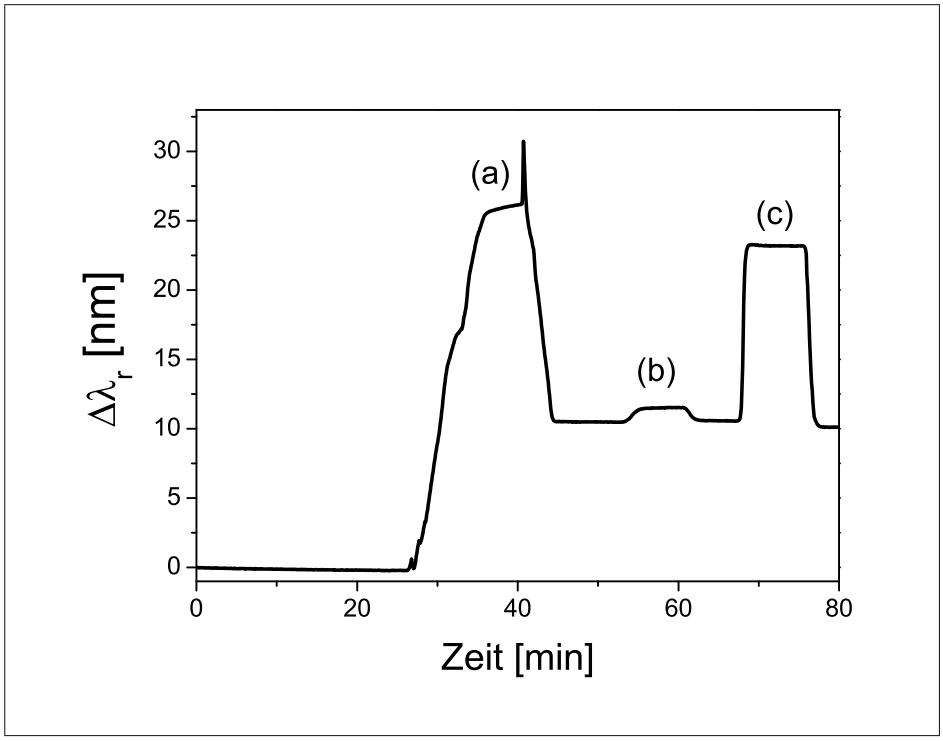

Abbildung 4.37: Immobiliserung und Messung von B[a]P beobachtet mit SPR.
(a) Bindung der Nanopartikel auf der Oberfläche
(b) Messung von B[a]P
(c) Regenerierung mit Methanol / Wasser

Die Messungen von B[a]P in wässrigen Lösungen durch Oberflächenplasmonenresonanz mit den zur Verfügung stehenden Nanopartikeln wurde mit den in Kapitel 4.4.2 beschriebenen sensitiven Schichten durchgeführt. Ziel war es, sowohl die Immobilisierung mit SPR auf der Oberfläche zu beobachten als auch die Funktionsfähigkeit

der molekulargeprägten Strukturen in wässrigen Lösungen zu zeigen. SPR als sehr empfindliche Methode zur Detektion der Änderungen des Brechungsindexes in der Nähe der Oberfläche schien hierzu besonders geeignet, da sich zwar der Brechungsindex durch Wechselwirkung zwischen geprägter Struktur und Templatmolekül ändert, die Schichtdicke der sensitiven Schicht hiervon jedoch weit weniger beeinflusst wird.

In Abbildung 4.37(a) ist die Immobilisierung der Nanopartikel auf dem Schichtsystem aus Cysteamin und PAMPS durch eine Verschiebung der Resonanzwellenlänge zu höheren Wellenlängen und somit eine Erhöhung des Brechungsindexes in der Nähe der Oberfläche zu beobachten. Zunächst wird eine Verschiebung um etwa 27 nm beobachtet. Dieses resultiert aus dem Brechungsindex der Lösung der Nanopartikeln in Acetonitril. Es werden etwa zehn Minuten lang Nanopartikel über die aktivierte Oberfläche gepumpt. Danach wird wieder mit destilliertem Wasser gespült und man beobachtet eine effektive Verschiebung der Resonanzwellenlänge um circa 10 nm, gefolgt von einer stabilen Basislinie. Die Immobilisierung kann also mit dieser Methode direkt beobachtet werden.

Da die Löslichkeit von Benzo-[a]-pyren in Wasser sehr gering ist, wurden Messungen mit einer gesättigten, wässrigen B[a]P-Lösung durchgeführt. Abbildung 4.37(b) zeigt die Sensorantwort auf 0,271 ppb B[a]P, wobei der Peak in Abbildung 4.37 die Unterschiede der Brechungsindizes der Lösungen darstellt. Das eigentliche Signal ist der Unterschied in der Resonanzwellenlänge vor und nach Aufgabe der B[a]P-Lösung. Das Sensorsignal und damit die Änderung des effektiven Brechungsindex ist also sehr klein.

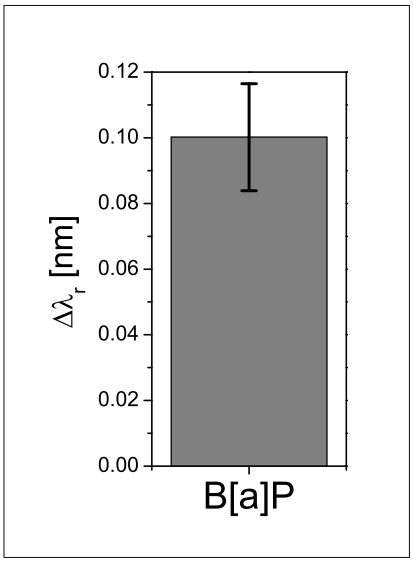

Abbildung 4.38: Reproduzierbarkeit der Messung von B[a]P bei Regenerierung der Nanopartikel mit 50:50 Methanol/Wasser.

Abbildung 4.38 zeigt die Reproduzierbarkeit der Messung von B[a]P, dargestellt als Mittelwert und Standardabweichung für vier Messungen. Man erhält für die Konzentration von 0,271 ppb B[a]P ein mittleres Sensorsignal von 0,1 nm. Die Regenerierung der Nanopartikel ist ebenfalls in Abbildung 4.37(c) dargestellt. Die Nanopartikel wurden zwischen den Messungen mit einem 50:50 Gemisch aus Methanol und Wasser regeneriert.

4.4.5. Zusammenfassung

Die Immobilisierung der auf Benzo-[a]-Pyren molekulargeprägten Nanopartikel auf SiO_2- und Goldoberflächen konnte erfolgreich mit Ellipsometrie, AFM und SPR charakterisiert werden. Unterschiedliche Reaktionszeiten zur Optimierung des Schichtsystems und zur Steigerung der Oberflächenbelegung wurden untersucht. Mit Hilfe der Ellipsometrie konnte das Aufwachsen der Schichtsysteme auf den Oberflächen beobachtet werden, während die Atomkraftmikroskopie die Visualisierung der Nanopartikel auf der Oberfläche ermöglichte. SPR konnte sowohl zur Beobachtung der Immobilisierung als auch zum Nachweis von B[a]P aus wässrigen Lösungen eingesetzt werden. Darüber hinaus wurde die Regenerierung der Nanopartikel zwischen den Messungen untersucht und optimiert. Die Beobachtung von Bindungskinetiken ist also mit dieser Sensormethode nicht möglich, da die Änderungen der Brechungsindizes der verwendeten Lösungsmittel zu groß sind. Es können also nur die Gleichgewichtssignale ausgewertet werden.

4.5. Poly-(ethylen-co-acrylsäure)-Copolymere

Die meisten Trennprobleme der Reversed-Phase High-Performance-Flüssigchromatographie (RP-HPLC) können mit konventionellen C_{18}-Phasen gelöst werden [132–134]. Zur Auftrennung bestimmter Stoffe und Stoffklassen sind allerdings chromatographische Phasen mit bestimmten Eigenschaften erforderlich. Stoffe, die sich nicht in ihrer Polarität unterscheiden, wie z.B. cis- und trans-Provitamin A und Tocopherolhomologe, können beispielsweise mit C_{30}-Phasen aufgetrennt werden [135, 136]. Eine Kopplung von Kapillar-HPLC und NMR konnte mit diesen Phasen realisiert werden. Für die online-Detektion in der NMR-Spektroskopie mit einem akzeptablen Signal-Rausch-Verhältnis muss allerdings eine hohe Analytkonzentration gewährleistet werden [137]. C_{30}-Phasen können zwar hoch beladen werden, jedoch kann durch die Verwendung von polymerbasierten Chromatographiephasen die Beladung

der stationären Phasen signifikant gesteigert werden. Unterschiedliche Polymerphasen wurden in den letzten Jahren in der Literatur vorgestellt [7, 138–144]. Von Wegmann et. al. wurde eine Poly-(ethylen-co-acrylsäure)-Phase entwickelt, die sich kovalent mit verschiedenen Kettenlängen und über unterschiedliche Spacermoleküle an SiO_2-Oberflächen anbinden lässt [145]. Für das Verständnis der Fähigkeit dieser Polymerphasen zur Trennung von Stoffgemischen ist eine Kenntnis der Anordnung der Polymere auf Silziumoberflächen notwendig. Aus der Literatur ist bekannt, dass Poly-(ethylen-co-acrylsäure)-copolymere mit unterschiedlicher Kettenlänge und Säuremassenanteil in so genannten Domänen auf der Oberfläche vorliegen. Bei einer Säuremassenfraktion von 5 % treten sowohl rigide (trans) als auch bewegliche (gauche) Domänen auf. Diese Domänen finden sich unabhängig vom für die Anbindung verwendeten Spacermolekül. Bei einem Säureanteil von 10 % bzw. 15 % finden sich nur mobile gauche-Domänen. Die Untersuchungen dieser Domänen wurden im Rahmen dieser Arbeit in Kooperation mit Christoph Meyer aus dem Arbeitskreis von Prof. Albert durchgeführt. Hierdurch gelang es, spektroskopische Methoden zur Oberflächencharakterisierung, Kontaktwinkelmessungen und NMR-Messungen an den unterschiedlichen Copolymerphasen durchzuführen. Die Ergebnisse sollen im Folgenden vorgestellt und miteinander korreliert werden, um ein besseres Verständnis der Polymerkonformation auf der SiO_2-Oberfläche zu erhalten.

4.5.1. Modifizierung der SiO_2-Oberflächen

Alle Immobilisierungsreaktionen der unterschiedlichen Polymere wurden sowohl auf Kieselgel als auch auf Siliziumwafern nach den gleichen Vorschriften durchgeführt. Zur kovalenten Anbindung der Poly-(ethylen-co-acrylsäure)-derivate wurden Siliziumwafer wie in Kapitel 3.3.1 gereinigt und getrocknet. Anschließend wurden die aktivierten Oberflächen eine Stunde lang mit 20 μl 3-Aminopropylsilan (APS) bzw. 3-Glycidoxypropylsilan (GOPS) in 20 ml Toluol modifiziert. In Abbildung 4.39 ist die Anbindung an die Oberflächen schematisch dargestellt.

Die Copolymere mit den Acrylsäure-Massenfraktionen von 5, 10 und 15 % wurden durch eine Peptidkopplungsreaktion auf die mit APS modifizierten Wafer angebunden [57]. Die hieraus entstehenden Phasen werden im Weiteren mit A (5 % Säureanteil), B (10 % Säureanteil) und C (15 % Säureanteil) benannt. Die Anbindung an die mit GOPS modifizierten Wafer ist ebenfalls in [57] detailliert beschrieben, die Phase wird mit D (5 % Säureanteil) bezeichnet. Phase A und D unterscheiden sich also nur durch die Silanspacergruppe. Der Einfluss der unterschiedlichen Anbindungenmethoden auf die Konformation wird ebenfalls untersucht.

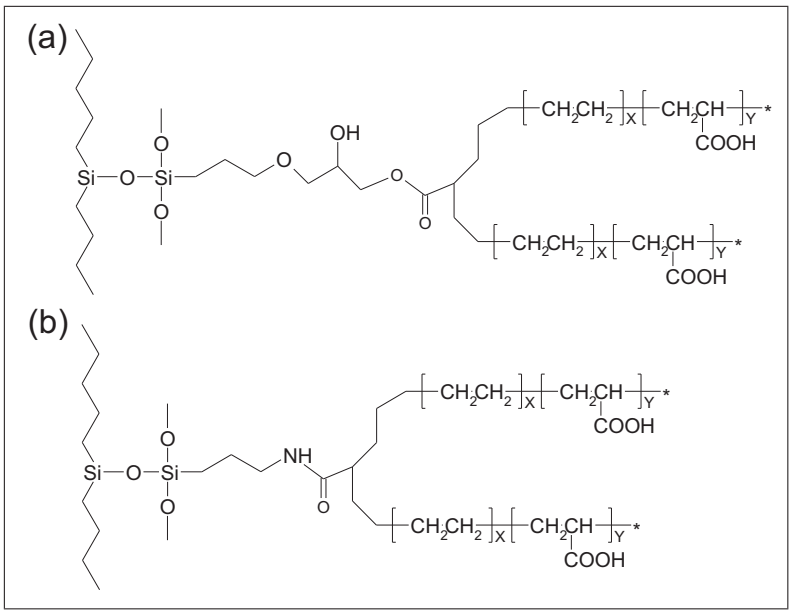

Abbildung 4.39: Schema der an Siliziumwafer gebundenen Copolymere:
(a) Anbindung über 3-Glycidoxypropylsilan
(b) Anbindung von Poly-(ethylen-co-acrylsäure) über 3-Aminopropylsilan.

4.5.2. Charakterisierung der SiO_2-Oberflächen

Zur Charakterisierung der Phasen A bis D wurden zunächst Kontaktwinkelmessungen mit Wasser durchgeführt (siehe Tabelle 4.8). Durch diese Untersuchungen konnten die unterschiedlichen Oberflächenpolaritäten in Abhängigkeit der Kettenlänge und des Säureanteils untersucht werden. Der Kontaktwinkel von Phase B ist geringer als der Kontaktwinkel von C. Dieses kann mit der erhöhten Oberflächenpolarität von Phase C, bedingt durch den höheren Säureanteil, erklärt werden. Der für Phase A und D gefundene Kontaktwinkel liegt zwischen den Werten für Phase B und C. Dies zeigt den Einfluss der Bereiche mit der rigiden (trans) Anordnung der Alkylketten auf der Oberfläche. Hierdurch kommt der Wassertropfen stärker mit den unpolaren Teilen der Polymerketten in Kontakt. Es konnte also ein Zusammenhang zwischen der Oberflächenpolarität vom Säureanteil und der Kettenkonformation gezeigt werden.

Eine wichtige Größe, die die Eigenschaften der Polymerphasen hinsichtlich ihrer Trenneigenschaften beeinflusst, ist die Anordnung der Polymerketten. Über ihre Anordnung kann durch Untersuchungen der Schichtdicken der Polymere auf Siliziumwafern eine Aussage gemacht werden. Die Schichtdicke wurde durch Nullellipsometrie untersucht, da diese Methode eine schnelle, zerstörungsfreie und sehr genaue Möglichkeit zur Bestimmung sehr geringer Schichtdicken darstellt. Hierbei ist es

Phase	Polymer-kettenlänge x	y	Säure-anteil [%]	Kettenkon-formation	Schichtdicke [nm]	Kontaktwinkel
A	119	2,4	5	trans/gauche	10,6 (± 0,3)	67,7 ° (± 1,0 °)
B	77	3,3	10	gauche	6,5 (± 0,5)	103,4 ° (± 8,1 °)
C	33	2,3	15	gauche	4,3 (± 0,3)	54,8 ° (± 2,6 °)
D	119	2,4	5	trans/gauche	9,9 (± 0,1)	80,0 ° (± 1,0 °)

Tabelle 4.8: Eigenschaften der modifizierten Siliziumwafer

allerdings notwendig, den Brechungsindex der Polymerschicht zu kennen oder realistisch abzuschätzen. Für die Untersuchungen wurde ein Brechungsindex von 1,40 angenommen, da dieses einen realistischen Wert für einen organischen Polymerfilm darstellt.

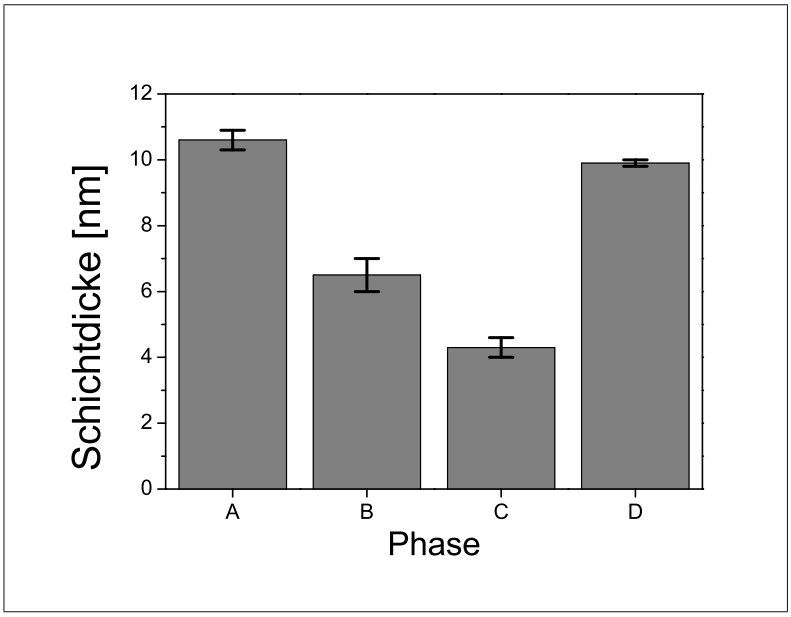

Abbildung 4.40: Schichtdicke der vier Phasen auf Siliziumwafern, bestimmt mit Hilfe von Ellipsometrie. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

Die Schichtdicken der Messungen sind in Abbildung 4.40 und in Tabelle 4.8 als Mittelwerte und Standardabweichungen dargestellt. Die Schichtdicken der Phasen B und C stehen mit 6,5 bzw. 4,3 nm im Einklang mit den modellierten Kettenlängen für die mobilen gauche-Anordnungen dieser Copolymere. Es gilt, je höher der Säureanteil des Polymers, desto kürzer die gefundene Kettenlänge auf der Oberfläche, da durch die höhere Anzahl an Säuregruppen auch mehr Möglichkeiten für die Bindung an die Oberfläche vorhanden sind. Es ist ebenfalls möglich, dass die Copolymere mehrfach

an die Oberfläche gebunden werden. Die Schichtdicken der Phasen A und D liegen mit 10,6 bzw. 9,9 nm signifikant höher. Dieses kann sowohl mit der größeren mittleren Kettenlänge des Copolymers bzw. geringerem Säureanteil als auch mit der trans- und gauche-Konformation der Polymerketten auf der Oberfläche erklärt werden. Der Einfluss dieser Größen soll im Folgenden diskutiert und mit Spindiffusionsmessungen korreliert werden.

Die maximale Länge einer Polymerkette l_{max} kann als eine all-trans-Konformation aufgefasst werden und nach Gleichung 4.1 berechnet werden:

$$l_{max} = Nl \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \tag{4.1}$$

Mit einer C-C-Bindungslänge l von 0,154 nm, einem Bindungswinkel θ von 111,5 ° sowie einer mittleren Bindungsanzahl N von 245 ergibt sich eine maximale Kettenlänge l_{max} von 31,2 nm. Die für die Phasen A und D gemessenen Schichtdicken entsprechen allerdings nur etwa einem Drittel der berechneten Kettenlänge. Dies lässt sich zum einen durch zufällige Verteilung der Säuregruppen und somit auch durch die zufällige Anbindung an APS- bzw. GOPS-modifizierten Oberflächen erklären. Bei einer statistischen Anbindung der Ketten in der Mitte des Makromoleküls ergibt sich eine berechnete halbe Kettenlänge von 15,6 nm. Die Differenz zwischen diesem berechneten Wert und dem gemessenen Werten kann durch das Vorhandensein von gauche- und trans-Domänen erklärt werden.

Durch die Messungen der Spindiffusion können sowohl das Vorhandensein von Domänen bestätigt als auch deren Größe bestimmt werden. Die Grundlagen der Spindiffusionsmessungen sind in [146] beschrieben. Dabei wird angenommen, dass die mobilen und die rigiden Ketten durch einen NMR-Puls gesättigt werden und anschließend durch eine geeignete Pulsfolge die Magnetisierung nur auf den mobilen Teil der Ketten übertragen werden kann. Hieraus resultiert nur noch ein Signal im ^{13}C-Spektrum (Abbildung 4.41, unten) [147, 148]. Die Magnetisierung wird nun durch dipolare Wechselwirkungen zwischen benachbarten Kernen übertragen, die eigentliche Spindiffusion. Während der Diffusionsmischzeit t_m wird ein Anwachsen der Magnetisierung in den rigiden Domänen durch NMR-Spektroskopie beobachtet, während die Magnetisierung der mobilen Komponente abnimmt. Zu einem bestimmten Zeitpunkt ist ein Gleichgewicht zwischen mobiler und rigider Phase erreicht. Für Phase D wird dieses Gleichgewicht nach 150 ms erreicht. Der Gleichgewichtszustand ist durch den obersten Graphen in Abbildung 4.41 dargestellt.

Je kleiner die auf der Oberfläche vorhandenen Domänen sind, desto schneller kann

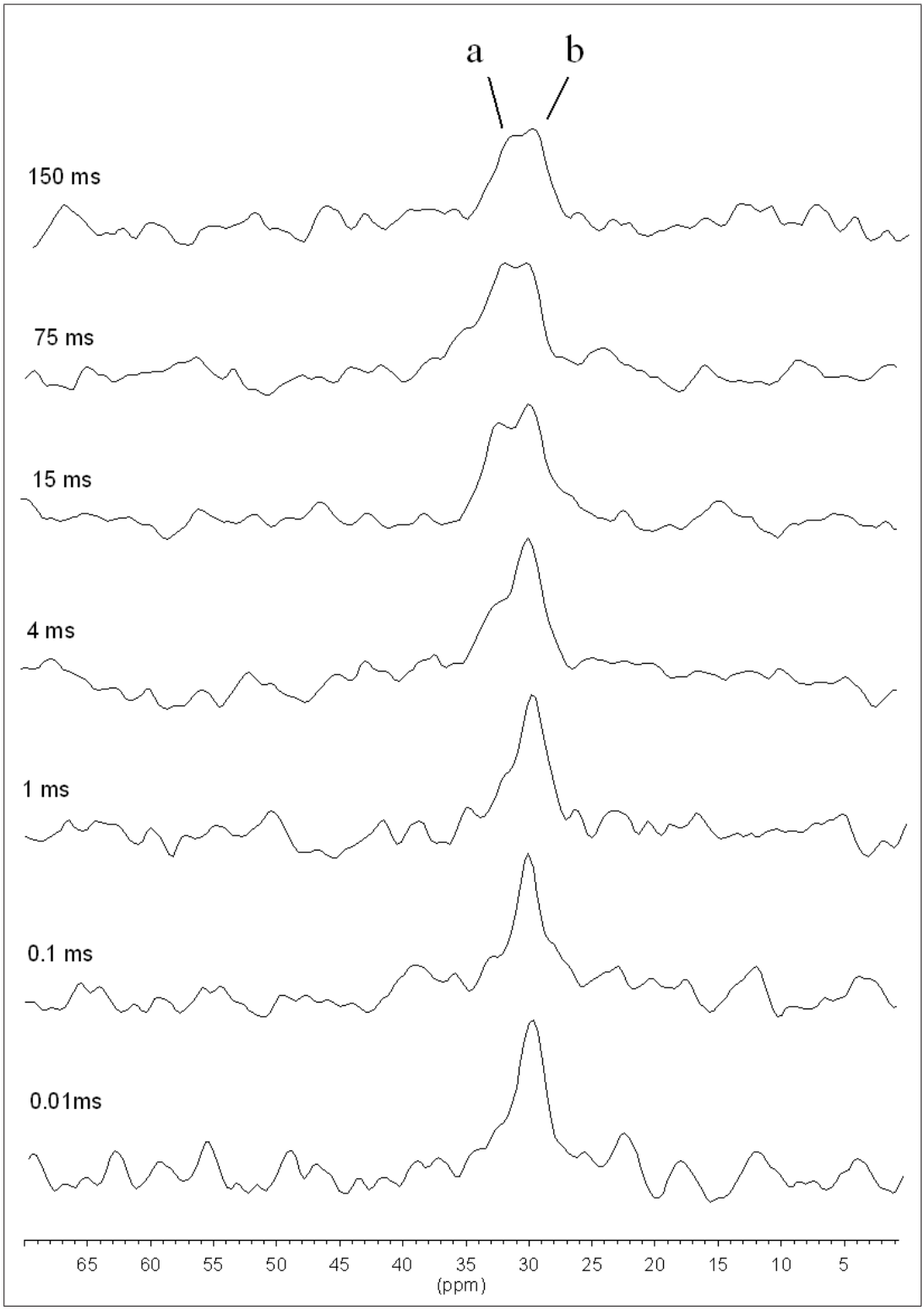

Abbildung 4.41: Spindiffusions-NMR-Experiment für Phase D mit variabler mixing time t_m und einer Temperatur von 295 K (a: trans-Konformation; b: gauche-Konformation).

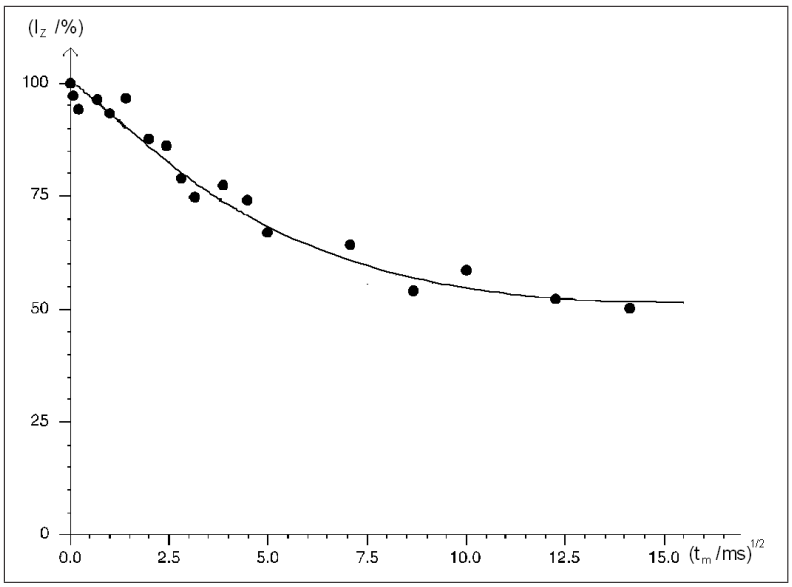

Abbildung 4.42: Vergleich von experimentellem (Punkte) und modelliertem (Linie) Abfall der Signalintensität der mobilen Komponente der Phase D.

die Spindiffusion stattfinden, und der Gleichgewichtszustand zwischen beiden Domänen wird schneller erreicht. Für die hier betrachtete Phase D ergibt sich eine Zeit von 150 ms bis zum Erreichen des Gleichgewichtszustandes. Durch Kenntnis dieser Zeitspanne kann die Größe der Domänen mit Hilfe eines Computerprogramms berechnet werden [146].

Die Abnahme der Magnetisierung der mobilen Komponente ist in Abbildung 4.42 dargestellt. Ebenfalls dargestellt ist der mit dem Computerprogramm simulierte Abfall der Magnetisierung für Diffusionskonstanten von 15 Å/s für die mobilen und 80 Å/s für die rigiden Domänen. Mit Hilfe des mittleren Molekulargewichts des Poly-(ethylen-co-acrylsäure)-copolymers konnte eine Domänengröße von 16,0 ± 2,0 nm für die mobile Komponente und 3,2 ± 0,4 nm für die rigide Komponente berechnet werden.

Die Morphologie der Phase D ist in Abbildung 4.43 visualisiert, wobei sowohl rigide als auch mobile Komponenten dargestellt sind. Bedingt durch die unterschiedlichen Domänen auf der Oberfläche wird durch Ellipsometrie nur die mittlere Schichtdicke im vermessenen Bereich ermittelt. Der rote Kreis symbolisiert den Messbereich der Ellipsometrie. Dargestellt sind außerdem die mittleren Domänengrößen und die mittlere Schichtdicke. Die Visualisierung wurde freundlicherweise von Herrn Dipl.-Chem. Norbert Welsch vorgenommen.

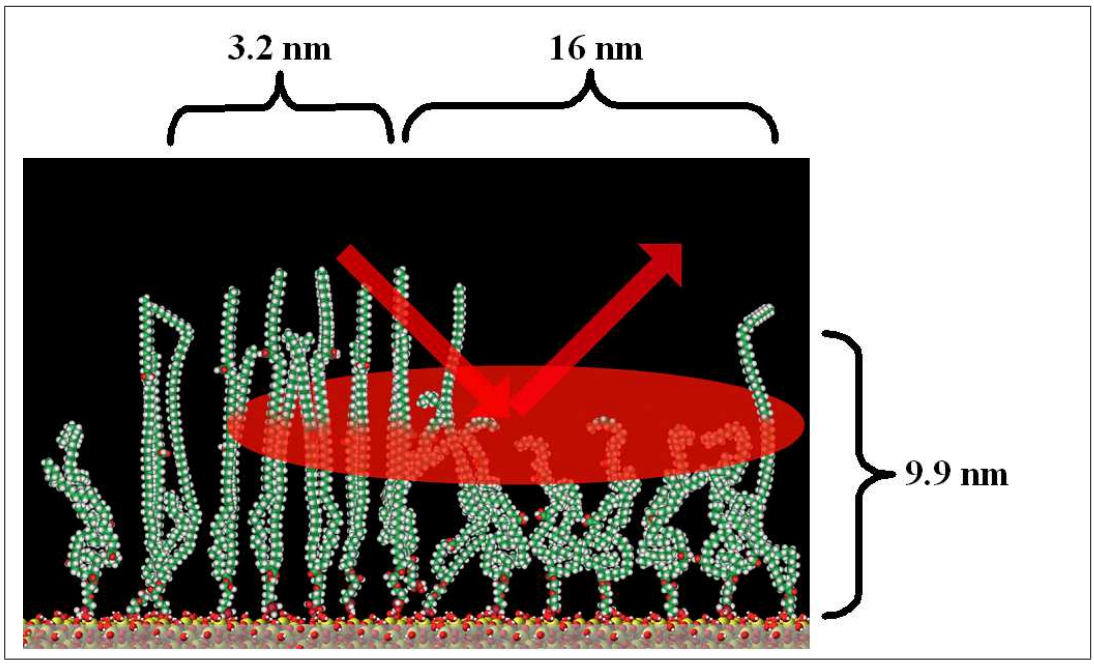

Abbildung 4.43: Visualisierung der Oberflächenmorphologie der Phase D. Bedingt durch die unterschiedlichen Domänen auf der Oberfläche wird durch Ellipsometrie nur die mittlere Schichtdicke bestimmt. Die rote Fläche symbolisiert den Messbereich der Ellipsometrie.

4.5.3. Zusammenfassung

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Ergebnisse der unterschiedlichen Copolymere mit der Kettenlänge und der Kettenkonformation der Alkylketten mit den unterschiedlichen Untersuchungsmethoden übereinstimmen. Mit Hilfe komplementärer Untersuchungsmethoden wie ^{13}C-NMR-Spindiffusionsmessungen, Ellipsometrie und Kontaktwinkelmessungen konnten wichtige Informationen über die Eigenschaften für einen Einsatz in der Chromatographie gewonnen werden. Die Konformationen der auf die Oberfläche gebundenen Polymere konnte mit den verwendeten Methoden aufgeklärt werden. Die Ergebnisse stehen miteinander in Übereinstimmung, welches durch die Visualisierung verdeutlicht werden konnte.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden Ergebnisse von fünf mit unterschiedlichen Erkennungstrukturen modifizierten Oberflächen vorgestellt. Als Untersuchungsmethoden kamen hierbei neben der Hauptmethode der Oberflächenplasmonenresonanz zusätzlich Methoden wie RIfS, Ellipsometrie und AFM zum Einsatz. Durch diese zum Teil komplementären Methoden konnten sich ergänzende Informationen über die Oberflächenmodifikationen und -konformationen gewonnen werden.

Die Untersuchungen des Wechselwirkungsverhaltens der Alkohole Methanol, Ethanol und 1-Propanol mit Schichten des ultramikroporösen Polymers Makrolon in verschiedenen Dicken liefert Informationen über die beteiligten Wechselwirkungsmechanismen. Die Füllung der Poren mit Analytmolekülen konnte ebenso wie die Wechselwirkung mit dem Polymernetzwerk beobachtet werden. Je nach Molekülgröße waren unterschiedliche Überlagerungen des Wechselwirkungsverhaltens nach Henry bzw. Langmuir zu beobachten. Es findet sich jedoch bei allen drei Alkoholen eine Überlagerung der Sorptionsisothermen, wobei beide Teile unterschiedlich ausgeprägt waren. Die Anwendung eines solchen Einzelsensors für die Quantifizierung eines quartären Alkoholgemisches konnte erfolgreich demonstriert werden. Hierbei konnten die Vorteile bei der Verwendung von neuronalen Netzen im Vergleich zur PCR aufgezeigt werden. Abschließend wurde demonstriert, dass dieses robuste Sensorsystem sogar in Gegenwart von Luftfeuchtigkeit funktioniert, auch wenn dieses im Training der neuronale Netze nicht berücksichtigt wurde.

Temperaturaufgelöste Messungen von Poly-(n-butyl-methacrylat) ober- und unterhalb der Glasübergangstemperatur vermittelten einen Einblick in die Änderungen der Wechselwirkungsmechanismen zwischen Polymer und gasförmigen Analyten beim Überschreiten dieser Temperatur. Die Änderung des Wechselwirkungsverhaltens mit den beiden Analyten Ethanol und Toluol konnte beobachtet werden. Während unterhalb von T_G die Wechselwirkung der eines glasartigen Polymers entspricht und man eine schlagartige Änderung des Brechungsindexes durch Analytexposition beobachtet, sind oberhalb der Glasübergangstemperatur deutlich die Eigenschaften eines gummiartigen Polymers zu beobachten. Ein Einfluss auf Sorptions-

isothermen und Wechselwirkungskinetiken beider Analytklassen wurde beobachtet.

L-Chirasil-Calix konnte erfolgreich zur Unterscheidung der Enantiomere von Lactatmethylester und von derivatisierten Aminosäuren eingesetzt werden. Diese häufig in der Gaschromatographie verwendete chirale stationäre Phase zeigt hierbei in der optischen Sensorik ähnliche Trennfaktoren wie in der cGC. Die Sensorsignale im Vergleich zu einem nicht-chiralen PDMS-Referenzpolymer wurden betrachtet und die Unterschiede im Sensoransprechverhalten und in den Sättigungssignalen für die beiden Enantiomere wurden aufgezeigt. Beide Enantiomere beider Analytklassen konnten mit dem verwendeten chiralen Selektor unterschieden werden.

Die Oberflächenmodifikation mit auf Benzo-[a]-Pyren molekulargeprägten Nanopartikeln auf SiO_2- und Goldoberflächen wurden erfolgreich durchgeführt. Die Immobilisierungen konnten mit Ellipsometrie, AFM und SPR charakterisiert und unter Verwendung unterschiedlicher Reaktionszeiten optimiert werden. Der Grad der Oberflächenbelegung konnte durch die Optimierung erhöht werden. Das Aufwachsen des Schichtsystems auf der Oberfläche konnte mit Ellipsometrie beobachtet werden. Atomkraftmikroskopie ermöglichte die Visualisierung der Nanopartikel auf der Oberfläche. SPR konnte sowohl zur Beobachtung der Immobilisierung als auch zum Nachweis von B[a]P in wässrigen Lösungen eingesetzt werden.

Die Immobilisierung der Copolymere mit unterschiedlichem Säuregehalt auf SiO_2-Oberflächen lässt sich mit Hilfe der Nullellipsometrie und von Kontaktwinkelmessungen charakterisieren. Die Ergebnisse für die Kettenlängen und Kettenkonformation der Alkylketten mit den unterschiedlichen Untersuchungsmethoden stimmen überein und die Ergebnisse von ^{13}C-NMR-Spindiffusionsmessungen konnten mit den Ergebnissen der Charakterisierung des Schichtsystems korreliert werden. Diese komplementären Untersuchungsmethoden lieferten wichtige Informationen über die Eigenschaften für den Einsatz dieser polymerbasierten stationären Phasen in der Flüssigkeitschromatographie.

6. Abkürzungverzeichnis

A, B, C	Cauchy-Parameter
A, B, C	Antoine-Parameter
AFM	Atomkraftmikroskopie
c	Lichtgeschwindigkeit
c	Konzentration
cGC	Kapillargaschromatographie
d	physikalische Schichtdicke
E	elektrisches Feld
I	Intensität
I_e	Intensität des eingestrahlten Lichts
I_r	Intensität des reflektierten Lichts
IFS	Interferenzspektroskopie
k_x	Wellenvektor entlang der x-Achse
k_{zv}	Wellenvektor senkrecht zur Oberfläche ins Medium ν reichend
$k_{x,i}$	Imaginärteil des Wellenvektors entlang der x-Achse
$k_{x,re}$	Realteil des Wellenvektors entlang der x-Achse
l	Anzahl der Konzentrationsschritte
m	Masse
n	Anzahl der Datensätze
n	Brechungsindex
n_D	Brechungsindex bei der Wellenlänge der Na-D-Linie ($\lambda = 590$ nm)
p	Partialdruck
PALS	Positronenlebensdauerspektroskopie
PDMS	Polydimethylsiloxan
ppm	parts per million
ppb	parts per billion
r	Fresnelkoeffizient
r	Abstand
r_p	Fresnelkoeffizient für parallel polarisiertes Licht
r_s	Fresnelkoeffizient für senkrecht polarisiertes Licht

R_p	Reflexionsgrad des parallel polarisierten Lichts (transversal magnetisch)
R_s	Reflexionsgrad des senkrecht polarisierten Lichts (transversal elektrisch)
RMSE	Root Mean Square Error
RIfS	Reflektometrische Interferenzspektroskopie
SPR	Oberflächenplasmonenresonanz
t	Zeit
T	Temperatur
T_G	Glastemperatur
V	Volumen
V_0	von den Polymersegmenten besetztes Volumen
V_f	freies Volumen eines Polymers
x_i	vorhergesagter, berechneter Wert
$\widehat{x}_i$	wahrer Wert
x	Molenbruch
x	Anzahl der Analyte
α	Trennfaktor
Δ	ellipsometrischer Winkel
Δ	Differenz
δ	Phasenverschiebung
δ_z	Eindringtiefe entlang der z-Achse
ϵ	Dielektrizitätskonstante
ϵ_{re}	Realteil der Dielektrizitätskonstante
ϵ_i	Imaginärteil der Dielektrizitätskonstante
λ	Wellenlänge
λ_r	Wellenlänge der Oberflächenplasmonen
θ	Winkel
ρ	Dichte
ω	Kreisfrequenz
Ψ	ellipsometrischer Winkel
σ	Teilchendurchmesser

7. Literaturverzeichnis

[1] Göpel W, Hesse J, Zemel J, *Sensors: a comprehensive survey, Vol. 2, chemical and biochemical sensors, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 1991*

[2] Janata J, Josowicz M, Vanýsek M*Anal. Chem. 70, 1998, 179*

[3] Dieterle F , *Anal. Bioanal. Chem. 378, 2004, 66*

[4] *www.makrolon.de*

[5] Gauglitz G , *Anal. Bioanal. Chem. 381(1), 2005, 141*

[6] Buchhold R, *Bimorphe Gassensoren, Dissertation, Technische Universität Dresden, 1999*

[7] Alpert A J, *J. Chrom. 359, 1986, 85*

[8] Fresnel A, *Oeuvres Complètes, Vol. 2, Paris, 1865*

[9] Maxwell J C, *Treatise on electricity and megnetism, Claredon Press, Oxford, 1873*

[10] Ritchie R H, *Phys. Rev. 106, 1957, 874*

[11] Otto A, *Z. Phys. 216, 1968, 398*

[12] Kretschmann E, Raether H, *Z. Naturforsch. 23a, 1968, 2135*

[13] Nylander C, Liedberg B, Lind T, *Sens. Actuators B3, 1982, 79*

[14] Liedberg B, Nylander C, Lundström I, *Sens. Actuators B4, 299, 1983*

[15] Homola J, Yee S S, Gauglitz G, *Sens. Actuators B54, 1999, 3*

[16] Raether H, *Phys. Thin Films 9, 1977, 145*

[17] Kieser B, *Charakterisierung sensitiver Schichten zur Selektivitätssteigerung optischer Chemosensoren, Dissertation, Eberhard-Karls-Universität Tübingen, 2002*

[18] Raether H, *Surface Plasmon on Smooth and Rough Surfaces and on Gratings, Springer Verlag, Berlin, 1988*

[19] Wolter H, *Optik dünner Schichten in: Handbuch der Physik, Band XXIV, 461-472, Springer Verlag, Berlin, 1956*

[20] Johansen K, Arwin H, Lundström I, Liedberg B, *Rev. Sci. Instr. 71(9), 2000, 3530*

[21] Jung L S, Campbell C T, Chinowsky T M, Mar M N, Yee S S, *Langmuir 14, 1998, 5636*

[22] Jurs P C, Bakken G A, McClelland H E, *Chem. Rev. 100, 2000, 2649*

[23] Despagne F, Massart D L, *Analyst 123, 1998, 157R*

[24] Witten I H, Frank E , *Data Mining, Morgan Kaufmann Publishers, San Francisco, 1999*

[25] Esbensen K H, *Multivariate Data Analysis - In Practice, 5th Edition, Camo Process AS, Norway, 2001*

[26] Hervàs C, *J. Chem. Inf. Comput. Sci. 40, 2000, 724*

[27] Zampronio C G, Rohwedder J J R, Poppi R J, *Chemom. Intell. Lab. Syst. 62, 2002, 17*

[28] Faber N M, Song X-H, Hopke P K, *TRAC - Tren. Anal. Chem. 22(5), 2003, 330*

[29] Chen Z P, Liang Y Z, Jiang J H, Li Y, Qian J Y, Yu R Q, *J. Chemometrics 13, 1999, 15*

[30] Eastman H T, Krzanoski W J, *Technometrics 24, 1982, 73*

[31] Martens H, Martens M, *Food Qual. Prefer. 11, 2000, 5*

[32] Martens H, Hoy M, Westad F, Folkenberg B, Martens M, *Chemom. Intell. Lab. Syst. 58, 2001, 151*

[33] Martens H, Naes T, *Multivariate Calibration, John Wiley & Sons Inc., New York, 1989*

[34] Martens H, Martens M, *Multivariate Analysis of Quality - An Introduction, John Wiley & Sons Inc., New York, 2000*

[35] Esbensen K H, *Multivariate Data Analysis - In Practice, 5th edn., Camo Process AS, Norway, 2001*

[36] Shaw A D, di Camillo A, Vlahov G, Jones A, Bianchi G, Rowland J, Kell D B, *Anal. Chim. Acta 348, 1997, 357*

[37] Lindberg W, Persson J-A, Wold S, *Anal. Chem. 55, 1983, 643*

[38] Haaland D M, Thomas E V, *Anal. Chem. 60, 1988, 1193*

[39] Geladi P, Kowalski B R, *Anal. Chim. Acta 185, 1986, 1*

[40] Zupan J, Gasteiger J, *Anal. Chim. Acta 248, 1991, 1*

[41] Katemann G, *Chemom. Intell. Lab. Syst. 19, 1993, 135*

[42] Lavine B K, *Anal. Chem. 70, 1998, 209R*

[43] Lavine B K, *Anal. Chem. 72, 2000, 91R*

[44] Zell A, *Simulation Nauronaler Netzwerke, Addison-Wesley, Bonn, Paris, 1994*

[45] Zupan J, Gasteiger J, *Neural networks in chemistry and drug design, 2nd edn., Wiley-VCH, Weinheim, 1999*

[46] Patterson D, *Artificial Neural Networks, theory and applications, Prentience Hall Inc., Upper Saddle River, 1996*

[47] Principe J, Euliano N, Lefebvre W, *Neural and adaptive systems: Fundamentals through simulations, John Wiley & Sons Inc., New York, 2000*

[48] Kaykin S, *Neural networks a comprehensive foundation, Prentice Hall Inc., Upper Saddle River, 1999*

[49] Dieterle F J, *Multianalyte Quantification by Means of Integration of Artificial Neural Networks, Genetic Algorithms and Chemometrics for Time-Resolved Analytical Data, Dissertation, Eberhard-Karls-Universität Tübingen, 2003*

[50] Vinod V V, Ghose S, *Neurocomputing 10, 1996, 55*

[51] Gauglitz G, Nahm W, *Fresenius Z. Anal. Chem. 341, 1991, 279*

[52] Kraus G, *Reflektometrisch-interferometrische Bestimmung organischer Verbindungen, Dissertation, Eberhard-Karls-Universität Tübingen, 1993*

[53] Rathgeb F, *Charakterisierung von Wechselwirkungsprozessen in sensitiven Schichten, Dissertation, Eberhard-Karls-Universität Tübingen, 1999*

[54] Cao C, Lin Y , *J. Chem. Inf. Comput. Sci. 43, 2003, 643*

[55] Dlubek G, Clarke A, Fretwell H, Dugdale S B, Alam M A, *Phys. Status Solidi A 157, 1996, 351*

[56] Ruderisch A, Pfeiffer J, Schurig V, *Tetrahedron: Assymetrie 12, 2001, 2025*

[57] Meyer C, Skogsberg U, Welsch N, Albert K, *Anal. Bioanal. Chem. 382, 2005, 679*

[58] Pfeiffer J, Schurig V, *J. Chromatogr. A 840, 1999, 145*

[59] Azzam R M A, Bashara N M, *Ellipsometry and polarized light, North-Holland Physics Publishing, Amsterdam, 1989*

[60] Tompkins H G, *A user's guide to Ellipsometry, Academic Press, Boston, 1993*

[61] Herold M, *Modifikation von Festkörperoberflächen und ihre Charakterisierung durch Ellipsometrie, Dissertation, Eberhard-Karls-Universität Tübingen, 2001*

[62] Wiesendanger R, *Scanning Probe Microscopy and Spectroscopy, Cambridge University Press, 1994*

[63] Magonov N, Whangbo M-H, *Surface Analysis with STM and AFM, VCH Verlagssgesellschaft, Weinheim, 1996*

[64] Wiesendanger R, *Scanning Probe Microscopy, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 1998*

[65] Mutschler T, *Charakterisierung bio- und chemosensitiver Schichten mit Ellipsometrie und AFM, Dissertation, Eberhard-Karls-Universität Tübingen, 2002*

[66] Lechner M D, Gehrke K, Nordmeier E H, *Makromolekulare Chemie, Birkhäuser Verlag, Basel, 1996*

[67] Elias H-G, *Makromoleküle, Hüthig & Wepf, Heidelberg, 1996*

[68] Maier G, *Angew. Chem. 110, 1998, 3128*

[69] Belge G T, *Charakterisierung von mikroporösen Polymeren zur Diskriminierung von Freonen und weiteren organischen Substanzen, Diplomarbeit, Universität Tübingen, 2000*

[70] Toshima N, *Polymers for Gas Separation, VCH, Weinheim, 1992*

[71] Henderson G M, Rule H G, *J. Chem. Soc., 1939, 1568*

[72] Gil-Av E, Feibush B, Charles-Sigler R, *Tetrahedron Lett. 35, 1966, 1009*

[73] Pu L, *Chem. Rev. 104, 2004, 1687*

[74] Bodenhöfer K, Hierlemann A, Seemann J, Gauglitz G, Christian B, Koppenhoefer B, Göpel W, *Nature 387, 1997, 577*

[75] Kieser B, Fietzek C, Schmidt R, Belge G, Weimar U, Schurig V, Gauglitz G, *Anal. Chem. 74, 2002, 3005*

[76] Feibush B, Gil-Av E, *Tetrahedron 26, 1970, 1361*

[77] Beitler U, Feibush B, *J. Chromatogr. 123, 1976, 149*

[78] Schreier P, Bernreuther A, Huffer M, *Analysis Applications, Walter de Gruyter, Berlin/New York, 1995*

[79] Nopper D, Lammershop O, Wulff G, Gauglitz G, *Anal. Bioanal. Chem. 377, 2003, 608*

[80] Haupt K, Mosbach K, *Chem. Rev. 100, 2000, 2495*

[81] Bodenhöfer K, Hierlemann A, Seemann J, Gauglitz G, Christian B, Koppenhoefer B, Göpel W, *Anal. Chem. 69, 1997, 3058*

[82] Dlubek G, Stejny J, Alam M A, *Macromolecules 31, 1998, 4574*

[83] Dubinin M M, *Chem. Rev. 60, 1960, 235*

[84] Mahony J O, Nolan K, Smyth M R, Mizaikoff B, *Anal. Chim. Acta 534, 2005, 31*

[85] Wulff G, Sarhan A, *Angewandte Chemie 84, 1972, 364*

[86] Wulff G, Sarhan A, Zabrocki K, *Tetraderon Lett. 44, 1973, 4329*

[87] Methew-Krotz J, Shea K, *J. Am. Chem. Soc. 188, 1996, 8154*

[88] Marty J D, Mauzac M, *Advances in Polymer Science 172, 2005, 1*

[89] Kriz D, Kempe M, Mosbach K, *Sens. Actuators B33, 1996, 178*

[90] Sergeyeva T, Piletsky S, Brovko A, Slinchenko E, Sergeyeva L, El'skaya A, *Anal. Chim. Acta 392, 1999, 105*

[91] Dickert F, Forth P, Lieberzeit P, Tortschanoff M, *Fres. J. Anal. Chem. 360, 1998, 759*

[92] Dickert F, Tortschanoff M, Bulst W, Fischerauer G, *Anal. Chem. 71, 1999, 4559*

[93] Ji H-S, McNiven S, Ikebukuro K, Karube I, *Anal. Chim. Acta 390, 1999, 93*

[94] Kriz D, Ramström O, Svensson A, Mosbach K, *Anal. Chem. 67, 1995, 2142*

[95] Dickert F, Besenböck H, Tortschanoff M, *Adv. Mater. 10, 1998, 149*

[96] Yoshida M, Uezu K, Goto M, Furusaki S, *J. Appl. Polym. Sci. 78, 2000, 695*

[97] Kim H, Spivak D A, *J. Am. Chem. Soc. 125, 2003, 11269*

[98] Jakush M, Janotta M, Mizaikoff B, *Anal. Chem. 71, 1999, 4786*

[99] Taniwaki K, Hyakutake A, Aoki T, Yoshikawa M, Guiver M D, Robwertson G P, *Anal. Chim. Acta 489, 2003, 191*

[100] Henry O Y F, Cullen D C, Piletsky S A, *Anal. Bioanal. Chem. 382, 2005, 947*

[101] Jenkins A L, Bae S Y, *Anal. Chim. Acta 542, 2005, 32*

[102] Piletsky S, Piletskaya E, Panasyuk T, El'skaya A, Leve R, Karube I, Wulff G, *Macromolecules 31, 1998, 2137*

[103] Vlatakis G, Andersson L, Müller R, Mosbach K, *Nature 361, 1993, 645*

[104] Ye L, Cormack A, Mosbach K, *Anal. Commun. 36, 1999, 35*

[105] Wulff G, *Angewandte Chemie 107, 1995, 1958*

[106] Sellergren B, Lepistö M, Mosbach K, *J. Am. Chem. Soc. 110, 1988, 5853*

[107] Sarhan A, Wulff G, *Makromol. Chem. 183, 1982, 1603*

[108] Dickert F L, Tortschanoff M, Bulst W E, Fischerauer G, *Anal. Chem. 71, 1999, 4559*

[109] Dickert F L, Achatz P, Halikas K, *Fresen. J. Anal. Chem. 371, 2001, 11*

[110] Kirsch N, Hart J P, Bird D J, Luxton R W, McCalley D V, *Analyst 126, 2001, 1936*

[111] Lai J P, Niessner R, Knopp D, *Anal. Chim. Acta 522, 2004, 137*

[112] Wegmann J, *Synthese von polymermodifizierten Kieselgelen - Spektroskopische Methoden zur Untersuchung ihrer Trenneigenschaften und zur Charakterisierung von technischen Carotinoidmikronisaten, Dissertation, Eberhard-Karls-Universität Tübingen, 2000*

[113] Kasper M, Busche S, Dieterle F, Belge G, Gauglitz G, *Meas. Sci. Technol. 15, 2004, 540*

[114] Kaspar S, *Thermodynamik und Kinetik der Quellung von Polymeren - Untersuchungen mit RIfS Dissertation, Eberhard-Karls-Universität Tübingen, 1997*

[115] Longfellow D G, Seifried H E, *Handbook of Analytical an Spectral Data for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Volume I, Midwest Research Institute, Kansas City, 1993*

[116] Mackay D, Shiu W Y, *J. Chem. Eng. Data. 22, 1977, 399*

[117] Letzel T, *Analytik partiell oxidierter polyzyklische Kohlenwasserstoffe und Abbau von Benz[a]pyren auf Rußaerosolpartikeln durch Ozon, Dissertation, Technische Universität München, 2001*

[118] Fellenberg G, *Chemie der Umweltbelastung, B.G. Teubner, Stuttgart, 1992*

[119] Riddick A, Bunger R, *Physical properties and methods of purification, Wiley Interscience, New York, 1986*

[120] Mutschler T, *Charakterisierung von Polymeren für die Chemosensorik und integriert optisch wellenleitenden Schichten, Diplomarbeit, Eberhard-Karls-Universität Tübingen, 2001*

[121] Belge G, Beyerlein D, Betsch C, Eichhorn K-J, Gauglitz G, Grundke K, Voit B, *Anal. Bioanal. Chem. 374, 2002, 403*

[122] Kieser B, Dieterle F, Gauglitz G, *Anal. Chem. 74, 2002, 4781*

[123] Busche S, *Optimierung von sensitiven Schichten zur Charakterisierung der Freone R22 und R134a durch Oberflächenplasmonenresonanz, Diplomarbeit, Eberhard-Karls-Universität Tübingen, 2002*

[124] Busche S, Kasper M, Mutschler T, Leopold N, Gauglitz G, *Progress in Colloid and Polymer Science, Springer Verlag, Berlin, in press*

[125] Busche S, Dieterle F, Kieser B, Gauglitz G, *Sen. Actuators B89, 2003, 192*

[126] Vollprecht M, Dieterle F, Busche S, Gauglitz G, *Anal. Chem. 77(17), 2005, 5542*

[127] Bender F, Skrypnik A, Voigt A, Marcoll J, Rapp M, *Anal. Chem. 75, 2003, 5262*

[128] Delpha C, Lumbreras M, Siadat M, *Sens. Actuators B80, 2001, 59*

[129] Dubreuil A C, Doumec F, Guerrier B, Allain C, *Macromolecules 36, 2003, 5157*

[130] Marj J E, Eisenberg A, Graessley W W, Mandelkern L, Koenig J L, *Physical Properties of Polymers, Chapter 2, American Chemical Society, Washington DC, 1984*

[131] Jäger S, *Charakterisierung von Oberflächen und Polymerschichten sowie deren sensorische Anwendung in der Reflektometrischen und Totalreflektometrischen Interferenzspektroskopie, Diplomarbeit, Universität Tübingen, 2005*

[132] Sander L C, Wise S A, *Anal. Chem. 56, 1984, 504*

[133] Unger K K, *Packings and Stationary Phases in Chromatographic Techniques, Vol 47, Marcel Dekker Inc., New York, 1990*

[134] Meyer V, *Praxis der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie, 5. Auflage , Diesterweg Sauerländer Frankfurt am Main, 1998*

[135] Sander L C, Sharpless K E, Craft N E, Wise S A, *Anal. Chem. 66, 1994, 1667*

[136] Albert K, *Trends Anal. Chem. 17, 1998, 648*

[137] Albert K, *Online LC NMR and Related Techniques, John Wiley & Sons Ltd., Chichester, 2002*

[138] Krasilnikov I, Borisova V, *J. Chrom. 446, 1988, 211*

[139] Jilge G, Unger K K, Esser U, Schafer H J, Ratherberger G, Mueller J, *J. Chrom. 476, 1989, 37*

[140] Kennedy L A, Kopaciewic W, Regnier F E, *J. Chrom. 359, 1986, 73*

[141] Kolla P, Kohler J, Schomburg G, *Chromatogr. 23, 1987, 465*

[142] Cserhati T J, Forgacs E, *J. Chrom. 728, 1996, 67*

[143] Millot M, Sebille B J, *Chromatogr. 408, 1987, 263*

[144] Vanderkam S K, Bocarsly A B, Schwartz J, *Chem. Mater. 10, 1998, 685*

[145] Wegmann J, Albert K, Pursch M, Sander L C, *Anal. Chem. 73, 2001, 1814*

[146] Raitza M, Wegmann J, Bachmann S, Albert K, *Angew. Chem. Int. Ed. 39, 2000, 3486*

[147] Goldman M, Shen L, *Phys. Rev. 144, 1961, 321*

[148] Clauss J, Schmidt-Rohr K, Spiess H W, *Acta. Polym. 44, 1993, 1*

Abbildungsverzeichnis

2.1. Kretschmann-Konfiguration 5
2.2. Dispersionsrelation von Licht 6
2.3. Feedforward-Backpropagation Netzwerk 15
2.4. Freies Volumen in Abhängigkeit der Temperatur 21
2.5. Porengrößenverteilung im Polymer 22
2.6. Sorptionsisothermen von Gasen 24
2.7. Komplex zwischen Aminosäurederivate und Diamidphase 27
2.8. Schematische Darstellung des nicht-kovalenten Prägens 31
2.9. Monomere für nicht-kovalentes Prägen 32
2.10. Quervernetzer zur Polymerisation 33
2.11. Schichtsystem für molekulargeprägte Polymere 34

3.1. SPR-Aufbau nach Kretschmann 35
3.2. Schematischer Aufbau des RIfS-Aufbaus 36
3.3. Schematische Zeichnung der Gasmischanlage 37
3.4. SPR-Aufbau für Messungen in der flüssigen Phase 38
3.5. Struktur eines Makrolonmonomers 39
3.6. Struktur eines Poly-(n-butyl-methacrylat)-Monomers 40
3.7. Schematische Darstellung von L-Chirasil-Calix 40
3.8. Struktur der Poly-(ethylen-co-acrylsäure)-copolymers 41
3.9. Struktur von Polydimethylsiloxan 42
3.10. Strukturformel von Benzo-a-Pyren 44

4.1. Änderungen in der Schichtdicke und im Brechungsindex 50
4.2. Sättigungssignale einer 200 nm dicken Makrolonschicht 51
4.3. Methanol-Signale für fünf verschiedene Schichtdicken 52
4.4. Ethanol-Signale für fünf verschiedene Schichtdicken 53
4.5. 1-Propanol-Signale für fünf verschiedene Schichtdicken 53
4.6. Kalibrierungskurven der vier Alkohole 55

4.7. Zeitabhängigkeit der Verschiebung der Resonanzwellenlänge 56
4.8. Sensorantworten für die reinen Alkohole 57
4.9. Resultierendes Signal der vier Alkohole 58
4.10. 3D-Plots der vier Alkohole 60
4.11. Selektionshäufigkeit quartäres Gemisch 61
4.12. True-Predicted-Plots quartäres Gemisch mit PCR 62
4.13. Sensorsignale von Ethanol, 1-Propanol und Wasser 65
4.14. True-Predicted-Plots für Ethanol, 1-Propanol und Wasser 68
4.15. Selektionshäufigkeit für Wasser, Ethanol und 1-Propanol 69
4.16. Selektionshäufigkeit für Ethanol und 1-Propanol 70
4.17. True-Predicted-Plots binäres Gemisch ohne Wasser 71
4.18. True-Predicted-Plots binäres Gemisch mit Wasser 72
4.19. Entwicklung des Vorhersagefehlers für 1 bis 18 Neuronen 73
4.20. True-Predicted-Plots binäres Gemisch mit PCR 74
4.21. Wechselwirkungsverhalten von Ethanol mit PBMA 76
4.22. Wechselwirkungskinetiken von Ethanol mit PBMA 77
4.23. Wechselwirkungsverhalten von Toluol mit PBMA 78
4.24. Wechselwirkungskinetiken von Toluol mit PBMA 79
4.25. SPR-Messung von D- und L-Methyllactatester 82
4.26. RIfS-Messung mit dem PDMS-Referenzsensor 83
4.27. SPR-Signal von D-, L- und Racemat von N-TFA-Valin-OEt 84
4.28. SPR-Signale für D- und L-N-TFA-Valin-OEt 85
4.29. RIfS-Signale für D- und L-N-TFA-Valin-OEt 86
4.30. Immobilisierung von 3-Amino-propyldimethylethoxysilan auf SiO_2 . . 88
4.31. Immobilisierung der polyanionische PAMPS-Schicht 89
4.32. Schichtsystems aus Aminosilan, PAMPS und Nanopartikeln 90
4.33. Vergleich der Schichtpräparation 90
4.34. AFM-Messung von molekulargeprägten Nanopartikeln 91
4.35. AFM-Messung von nicht-molekulargeprägten Nanopartikeln 92
4.36. Regenerierung der Sensoroberfläche 93
4.37. Immobiliserung und Messung in Wasser 94
4.38. Reproduzierbarkeit der Messung von BaP 95
4.39. Schema der gebundenen Copolymere 98
4.40. Schichtdicke auf Siliziumwafern 99
4.41. Spindiffusions-NMR-Experiment 101
4.42. Experimenteller und modellierter Abfall der Signalintensität 102
4.43. Visualisierung der Oberflächenmorphologie 103

Tabellenverzeichnis

2.1. Klassifizierung der Porengröße nach IUPAC. 24
2.2. Zusammenfassung der Vor- und Nachteil von nicht-kovalent geprägten Polymeren beim Einsatz in der Analytik 29

3.1. Eigenschaften der Poly-(ethylen-co-acrylsäure)-copolymere 41
3.2. Eigenschaften der verwendeten Alkohole 42
3.3. Chemische und physikalische Eigenschaften von BaP 44

4.1. Relative RMSE der Validierdaten in % für alle vier Alkohole und der Mittelwert der Vorhersage für verschiedene Datenanalysemethoden . . 59
4.2. Trainings- und Testdatensätze für die Datenauswertung 66
4.3. Relativer RMSE der Trainings- und Testdaten in % für Ethanol, 1-Propanol und Wasser für den vollfaktoriellen ternären Gemischplan unter Verwendung von vollverknüpften und von wachsenden neuronalen Netzen sowie PCR 67
4.4. Relativer RMSE der Trainings- und Testdaten in % für Ethanol und 1-Propanol für den binären Trainingsplan ohne Wasser unter Verwendung von vollverknüpften, wachsenden neuronalen Netzen und PCR . 71
4.5. Relativer RMSE der Trainings- und Testdaten in % für Ethanol und 1-Propanol für den binären Trainingsplan mit Wasser in den Testdaten unter Verwendung von vollverknüpften und wachsenden neuronalen Netzen sowie PCR 73
4.6. Vergleich der Trennfaktoren für Milchsäureester 82
4.7. Vergleich der Trennfaktoren für L-N-TFA-Valin-OEt 84
4.8. Eigenschaften der modifizierten Siliziumwafer 99

A. Anhang

A.1. Publikationen

- Interaction behavior between a Resorcin[4]aren-PDMS-system and polar analytes characterized by microcalorimetry and spectroscopic methods - sensory applications, M. Vollprecht, K. Wöllner, N. Leopold, S. Busche, M. Kasper, G. Gauglitz, in preparation.

- Enantiomeric Separation by Polymeric Chirasil-Calix Layers with Optical Sensing Devices, S. Busche, M. Kasper, A. Ruderisch, V. Schurig, G. Gauglitz, in preparation.

- Interaction Behaviour of the Ultramicroporous Polymer Makrolon by Optical Spectroscopic Methods, S. Busche, M. Kasper, T. Mutschler, N. Leopold, G. Gauglitz, Progress in Colloid and Polymer Science, in press.

- Quantification of quaternary mixtures of low alcohols in water: Time-resolved measurements with microporous and hyperbranched polymer sensors allow reduced number of sensors, M. Vollprecht, F. Dieterle, S. Busche, G. Gauglitz, K.-J. Eichhorn, B. Voit, Anal. Chem. 77(17), 2005, 5542.

- Contact angle, ellipsometric and spin-diffusion solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopic investigations of copolymeric stationary phases immobilized on SiO2 surfaces, C. Meyer, S. Busche, N. Welsch, J. Wegmann, G. Gauglitz, K. Albert, Anal. Bioanal. Chem. 382(7), 2005, 1465.

- Different approaches to multivariate calibration of nonlinear sensor data, F. Dieterle, S. Busche, G. Gauglitz, Anal. Bioanal. Chem. 380, 2004, 383.

- Quantification of quaternary mixtures of alcohols: a comparison of reflectometric interference spectroscopy and surface plasmon resonance spectroscopy, M. Kasper, S. Busche, F. Dieterle, G. Belge, G. Gauglitz, Meas. Sci. Technol. 15(3), 2004, 540.

- Growing neural networks for a multivariate calibration and variable selection of time-resolved measurements, F. Dieterle, S. Busche, G. Gauglitz, Anal. Chim. Acta 490(1-2), 2003, 71.

- Quantification of binary mixtures of the freones R22 and R134a by surface plasmon resonance, S. Busche, F. Dieterle, B. Kieser, G. Gauglitz, Sens. Actuators B89, 2003, 192.

A.2. Buchbeitrag

- Kapitel: „Optical sensing of enantiomers“, M. Kasper, S. Busche, G. Gauglitz, in „Frontiers in Chemical Sensors“, Springer Series on Chemical Sensors and Biosensors, Vol. 3, G. Orellana, M. C. Moreno-Bondi (Editoren) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2005

A.3. Patent

- Vorrichtung und Verfahren zur Untersuchung von Sorptionsvorgängen an Fest-Flüssiggrenzflächen eines Probensystems, M. Vollprecht, K. Grundke, G. Gauglitz, K.-J. Eichhorn, S. Michel, K. Pöschel, S. Busche, Patentanmeldung, Deutsches Patent- und Markenamt, München, 2004

A.4. Vorträge

- Artificial Neural Networks: tools for the optimisation of chemical and biochemical sensors, S. Busche, F. Dieterle, M. Kasper, G. Gauglitz, 2nd International Workshop on Integrated Soil and Water Protection: Risks from Diffuse Pollution (SOWA), 2004, Prague, Czech Republic

- Enantiomeric Separation by Polymeric Chirasil-Calix Layers with Optical Sensing Devices, S. Busche, M. Kasper, A. Ruderisch, V. Schurig, G. Gauglitz, Europt(R)ode VII, 2004, Madrid, Spain

- Quantifizierung von Kühlmittelgemischen durch optische Spektroskopie, S. Busche, F. Dieterle, M. Kasper, G. Gauglitz, InCom, 2003, Düsseldorf

- Charakterisierung des Sorptionsverhaltens von mikroporösen Polymeren als optische Sensoren, M. Kasper, S. Busche, T. Mutschler, M. P. Thomas, G. Gauglitz, InCom, 2003, Düsseldorf

A.5. Poster

- Einfluss von Störfaktoren wie Messtemperatur- und Luftfeuchtigkeitsschwankungen auf die Quantifizierbarkeit von Gemischen, M. Kasper, S. Busche, G. Gauglitz, 7. Dresdner Sensor-Symposium 2005, Dresden

- Application and Optimization of Artificial Neural Networks for Modelling at the River Basin Scale for early identification of trends from highly variable data sets, S. Busche, G. Gauglitz, 2nd European Conference on Natural Attenuation, Soil and Groundwater Risk Management, 2005, Frankfurt

- Charakterisierung des Wechselwirkungsverhaltens eines Resorcinaren-PDMS-Systems mittels Isothermer Titrationskalorimetrie (ITC), Spektroskopie und optischer Sensorik, K. Wöllner, M. Vollprecht, N. Leopold, S. Busche, M. Kasper, G. Gauglitz, 16. Ulm-Freiberger Kalorimetrietage, 2005, Freiberg

- Parallel Detection of R22 and its Substitutes by Reflectometric Interference Spectroscopy, M. Kasper, S. Busche, F. Dieterle, G. Gauglitz, Europtrode VII, 2004, Madrid, Spanien

- Kinetische Untersuchungen von Mehranalytgemischen - ein neuer Ansatz zur Datenauswertung, S. Busche, F. Dieterle, G. Belge, M. Vollprecht, M. Kasper, G. Gauglitz, 6. Dresdner Sensor-Symposium, 2003, Dresden.

- Makrolon als größenselektive Sensorbeschichtung-Charakterisierung des Quellverhaltens mittels SPR, Ellipsometrie und RIfS, T. Mutschler, S. Busche, M. Kasper, G. Gauglitz, Anakon, 2003, Konstanz.

- Quantifizierung von homologen Alkoholgemischen in der Gasphase durch einen polymerbasierten Oberflächenplasmonensensor, S. Busche, M. Kasper, F. Dieterle, G. Gauglitz, Anakon, 2003, Konstanz.

- Simultaneous quantification of mixtures of volatile organic compounds by dynamic single sensor set-ups, F. Dieterle, C. Betsch, B. Kieser, G. Belge, S. Busche, M. Harbeck, G. Gauglitz, IMCS, 2002, Boston, USA.

- Quantification of binary mixtures of the freones R22 and R134a by surface plasmon resonance, S. Busche, F. Dieterle, G. Gauglitz, Europtrode VI, 2002, Manchester, UK.

A.6. Akademische Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren:

K. Albert, D. Christen, H. Eckstein, G. Gauglitz, F. Gönnenwein, W. Göpel, G. Häfelinger, M. Hanak, V. Hoffmann, W. Jäger, G. Jung, D. Krug, N. Kuhn, E. Lindner, M. E. Maier, H. A. Mayer, H.-J. Meyer, U. Nagel, W. Nakel, H. Oberhammer, D. Oelkrug, H. Pauschmann, H. Pommer, G. Reinhardt, V. Schurig, E. Schweda, F. F. Seelig, J. Strähle, W. Voelter, K.-P. Zeller, C. Ziegler

A.7. Lebenslauf

Name	Stefan Busche
Geburtsdatum	15.04.1976
Geburtsort	Bremen
Nationalität	deutsch
Familienstand	ledig

Bildungsweg:

1982 - 1986	Grundschule in Bremen
1986 - 1992	Schulzentrum Gottfried-Menken-Straße, Bremen
1992 - 1995	Gymnasium an der Delmestraße, Bremen
Mai 1995	Abitur
1995 - 1996	Zivildienst beim Arbeiter-Samariter-Bund Bremen-Nord
1996 - 2002	Chemiestudium an der Eberhard-Karls-Universität, Tübingen
1999	Erasmusstipendium in Salamanca, Spanien
2001 - 2002	Diplomarbeit: Optimierung von sensitiven Schichten zur Charakterisierung der Freone R22 und R134a durch Oberflächenplasmonenresonanz in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Günter Gauglitz, Eberhard-Karls-Universität, Tübingen
2002 - 2006	Promotion: Polymere und molekulargeprägte Polymere für den Einsatz auf Oberflächen und deren Anwendung in der Oberflächenplasmonenresonanz in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Günter Gauglitz, Eberhard-Karls-Universität, Tübingen