

qCell T auto – die automatisierte QCM-D Plattform für Oberflächen-Analysen

Dr. Adam L.J. Olsson, Dr. Paula Braun, Jin Zhang, Dr. Hartmut Drechsel, Dr. Albert Sterck, Gudrun Prepens, Thomas Reiner, Dr. Frank K. Gehring

3T analytik, GmbH & Co.KG

Die hier dargestellte Untersuchung dient zur Einführung des qCell T auto, eine neue voll-automatisierte Quarzkristallmikrowaagen-Plattformtechnologie mit Dissipationsmonitoring (QCM-D) (Abbildung 1). Ein praktisches, verlässliches und effizientes Langzeit-Messinstrument, das die intensive Betreuung durch geschultes Personal überflüssig macht. Demonstriert wird dies hier anhand des graduellen Aufbaus von zwei unterschiedlichen Polyelektrolyt-Multilayer (PEMs). Die kombinierte Frequenz- und Dissipation/Damping-Messung ermöglichte die Erfassung der viskoelastischen Eigenschaften der PEMs sowie deren Schichtdicken.



Abb. 1: Das qCell T auto setup von 3T analytik in der 2-Kanal Konfiguration mit Potentiostatenanschluss für kombinierte elektrochemische sowie QCM-D Messungen. Es beinhaltet die voll automatisierte Proben- und Temperaturregelungstechnik.

Was ist QCM-D und wofür kann sie eingesetzt werden?

QCM-D ist eine oberflächenempfindliche Technik, die angewendet wird, um die Adsorption eines Materials an einem oszillierenden Quarzsensoren zu erfassen, indem Änderungen in seinem Schwingungsverhalten in Echtzeit beobachtet werden. Sie kann grundsätzlich für Untersuchungen beliebiger Oberflächenadsorptionserscheinungen angewendet werden, einschließlich, jedoch nicht beschränkt, auf molekulare Adsorption, bakterielle Adhäsion oder Nanopartikelanlagerung, wobei neue Anwendungen fortgesetzt entdeckt werden. Negative Verschiebungen der Resonanzfrequenz des Quarzsensors (Δf) korrelieren mit der adsorbierten Masse mit einer Empfindlichkeit von etwa einem Milliardstel eines Gramms.

Die Energie, die erforderlich ist um eine konstante Schwingungsamplitude aufrecht zu erhalten, hängt wiederum von den dissipativen Energieverlusten – alias Dämpfung – (Halbbandbreite des Oszillationspeaks, $\Delta\Gamma$) ab, induziert durch die adsorbierte Masse. Beide Parameter werden verwendet, um das adsorbierte Material zu charakterisieren (siehe Abbildung 2).

Die gleichzeitige Messung von Frequenz und Dämpfung ist ein wesentliches Merkmal bei QCM-D Messungen in Flüssigkeiten, da nur

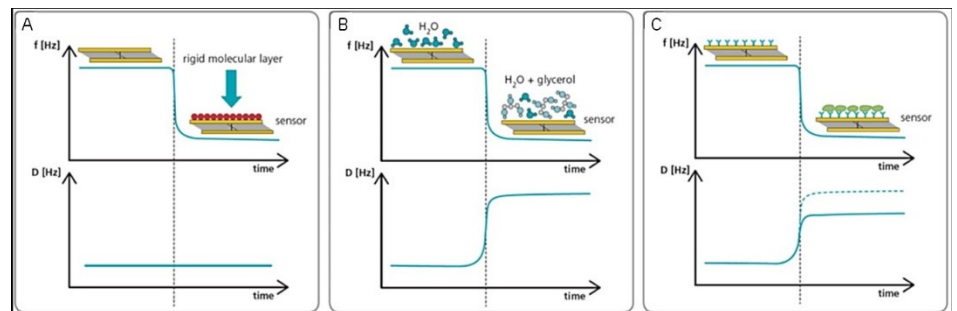


Abb. 2: Resonanzfrequenz- und Dämpfungsverhalten von drei charakteristischen Beispielen (A) Eine dünne, starre Schicht (z. B. eine dünne Proteinschicht oder Metallschicht) führt zu einer Verschiebung der Frequenz ohne Änderung der Dämpfung. (B) Eine Änderung der Viskosität von rein Newton'schen Flüssigkeiten (z. B. Wasser, Melasse, Milch oder Fruchtsaft) führt zu einer Abnahme der Frequenz und einer betragsgleichen Zunahme der Dämpfung. (C) Eine viskoelastische Schicht (z. B. Schichten von Polymeren, Biofilmen, Bakterien oder Zellen) resultiert ebenfalls in einer Frequenz- und Dämpfungsverschiebung in entgegengesetzten Richtungen, jedoch mit unterschiedlichen Amplituden.

so der Einfluss der Flüssigkeit auf die mechanischen Eigenschaften einer Probe berücksichtigt werden kann.

Homogene und vorwiegend elastische Schichten (z. B. kleine, steife und dehydrierte Moleküle) bewirken wenig oder keine Energie-dissipation, was zu einer Abnahme der

Frequenz bei praktisch unverändertem Dämpfungsverlauf führt (Abbildung 2A). Die Sauerbrey-Gleichung [1] wird in diesem Fall verwendet, um die adsorbierte Masse zu bestimmen. Rein viskose Schichten (Newton'sche Flüssigkeiten) führen zu einem hohen Energieverlust, was eine starke Abnahme der Frequenz bei gleichzeitiger starker Zunahme der Dämpfung

bewirkt (Abbildung 2B). Die Frequenz wird dann durch die Viskosität der Flüssigkeit bestimmt, wie durch die Kanazawa-Gleichung [2] beschrieben. Viskoelastische Schichten (z. B. große, "weiche" und hydratisierte Moleküle) besitzen sowohl viskoelastische als auch elastische Eigenschaften, folglich mit intermediärem Energieverlust. Dies führt zu einer Abnahme der Frequenz und einer Zunahme der Dämpfung, wenn auch mit reduzierter Amplitude (Abbildung 2C). In dieser Situation wird ein viskoelastisches Modul angewendet, um die adsorbierte Masse zu bestimmen [3].

Welches sind die Vorteile der von 3T analytik automatisierten QCM-D?

Die QCM, mit oder ohne Dissipations-Monitoring, hat sich als Werkzeug für die Untersuchung von Oberflächen-assoziierten Phänomenen etabliert. Die Anwendung auf großformatige Routinen erfordert jedoch effiziente und einfache Mittel für die Entwicklung und Umsetzung von Standardarbeitsanweisungen. Die Implementierung auf großflächiger Routinebasis löst 3T analytik mit einem ganzheitlichen Ansatz zur Optimierung der QCM-D: einfache Handhabung und Bedienung, automatisierte Funktionen für die experimentelle Ausführung in Verbindung mit hoch-standardisierter Datenaufzeichnung und -prozessierung sowie Datenmanagement.

Die automatische Probennahmeeinheit Einheit LiquiBox compact, die in der qCell T auto Konfiguration enthalten ist, ermöglicht eine beliebig oft wiederholbare, reproduzierbare Durchführung des Experiments. Parameter wie Durchflussraten, Probenauswahl, Temperatur und Auslöseimpulse an externe Geräte (z.B. an einen Potentiostaten für kombinierte QCM-D- und Elektrochemie-Messungen), werden automatisch über die Script-Funktion gesteuert, womit die reproduzierbare Ausführung benutzerdefinierter Standard-Betriebsabläufe (SOPs) gewährleistet wird. Die Versuchsdurchführung kann damit ohne die ständige Betreuung durch geschultes Personal stattfinden.

Langzeitmessungen können mittels Fernbedienung überwacht werden. Die Datenauswertung per Nachbearbeitung mit der qGraph-Viewer Software ermöglicht per bedienfreundlicher Methode u.a. Kurven zu überlagern, Massen, Schichtdicken, Nanopartikelgrößen und kinetische Konstanten zu berechnen, um im Anschluss die bereits verarbeiteten Daten mittels der integrierten Makro-Funktion nach Excel zu exportieren.

Die patentierte Sensorchip-Konstruktion ermöglicht die handliche Einführung des Sensorchips in die Messkammer. Durch die sensorspezifische Seriennummer, die mit

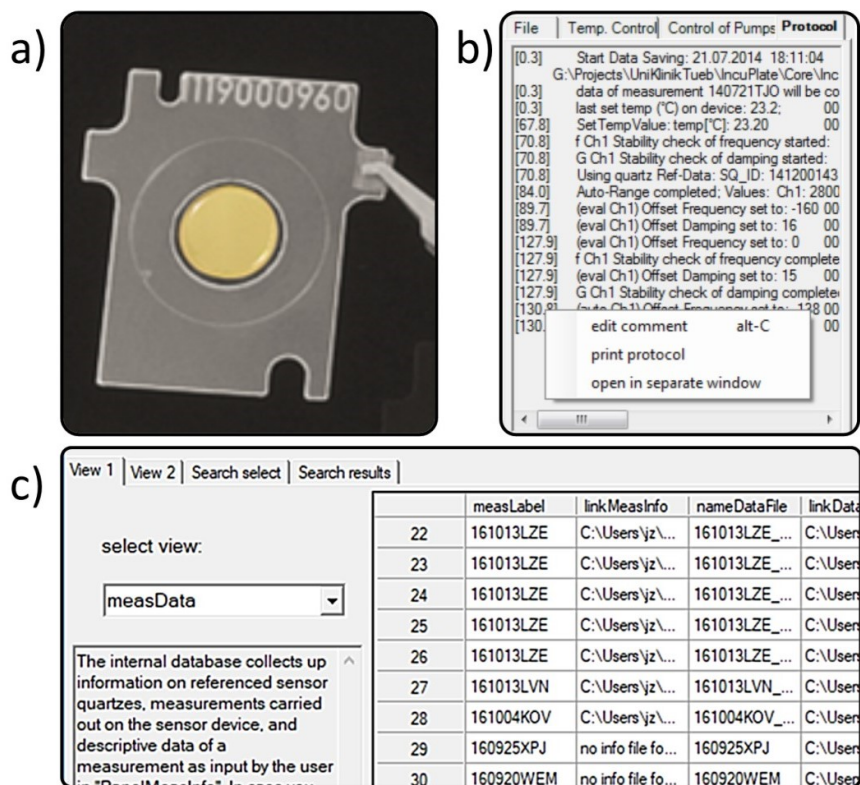


Abb. 3: 3T hat ein verlässliches Qualitätskontroll- und Datenmanagementsystem entwickelt durch die Implementierung von
 a) mit Seriennummern versehenen Sensorchips,
 b) elektronischen Logdateien aller Schritte während der Messungen und
 c) einfachen Zugriff auf Daten über eine interne Datenbank, die automatisch alle Messungen katalogisiert und organisiert.

jeder Messung verknüpft wird (Abbildung 3a), erhält jeder Sensor seine eigene Identität, und damit die Voraussetzung, ein verlässliches Datenmanagementsystem zu schaffen. Ein Referenzvorgang und eine Stabilitätsprüfung am Anfang jeder Messung sichert die Qualität des Sensors. Alle weiteren Änderungen, die innerhalb oder außerhalb der Messkammer am Sensor vorgenommen werden, werden vom Gerät erkannt.

Die Datenerfassungssoftware qGraph führt eine detaillierte und zeitaufgelöste Protokolldatei, die alle Schritte der Messungen standardisiert aufzeichnet und automatisch mit der Seriennummer, die auf jedem Sensorchip gedruckt ist, verknüpft. Die Daten der Messdatei können einfach mit der Protokolldatei navigiert werden (Abbildung 3b).

Darüber hinaus werden alle Messungen automatisch in einer eingebauten Datenbank katalogisiert und sortiert, um so den Zugriff auf eine Vielzahl von Parametern, einschließlich der Sensor-Seriennummer, Datum der Eingabe, Bediener, Probe, Substrat und weiterer benutzerdefinierter Kategorien zu ermöglichen (Abbildung 3c). Mit anderen Worten, die detaillierte Geschichte jedes Sensors wird standardmäßig sorgfältig dokumentiert

und handlich organisiert, womit arbeitsintensive und zeitraubende ‚Detektivarbeit‘ für das Suchen und die Analyse von Daten vermieden wird.

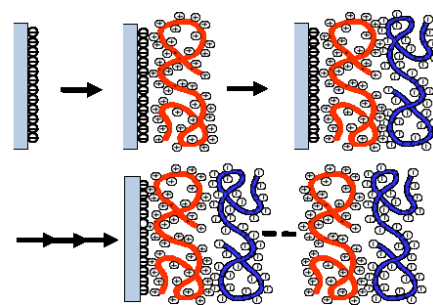


Abb. 4: Schematische Darstellung des Schicht-für-Schicht-Aufbaus von PEMs. Nach der Beschichtung einer geeigneten Oberfläche mit Primer (hellblau) werden die Multilayer in bis zu 12 Zyklen von aufeinanderfolgenden Spülschritten, Polykationenzusatz (rot), Spülung, Polyanionenzusatz (blau) und Endspülung aufgebaut.

Demonstration der qCell T auto-Funktionen anhand PEM Studien

Die Leistung des vollautomatischen qCell T auto Setups wird hier beispielhaft anhand der Bildung von Polyelektrolyt-Multilayern (PEMs), genauer gesagt der alternierenden Abscheidung von Polyanionen und Polykationen [4] wie in Abbildung 4 schematisch dargestellt, demonstriert.

PEMs haben in den vergangenen zehn Jahren erhebliche Aufmerksamkeit erlangt, da sie ein breites Anwendungsspektrum ermöglichen. Dieses erstreckt sich von Implantat-Beschichtungen bis hin zu Filtrationsgeräten oder spezialisierten optischen Beschichtungen. Die Multilayer sind sehr vielseitig einsetzbar und einfach auf Substrate nahezu jeder Form aufzubringen. Der Beschichtungsprozess kann jedoch zeitaufwendig sein, insbesondere, wenn der Film viele Schichten enthält und die Zyklen zwischen verschiedener Polyelektrolyten manuell bearbeitet werden.

Es gibt zwei Arten von PEM: diejenigen, deren Dicke linear mit der Anzahl der Abscheidungsschritte wächst [5] und denen, die exponentiell wachsen [6]. Linear wachsende Filme sind in der Regel dicht, gut geschichtet und undurchlässig für Makromoleküle. Exponentiell wachsende Filme sind hingegen zunehmend gelartig, weniger strukturiert und für bestimmte Polyelektrolyte und Proteine durchlässig [7].

Um die Bedeutung des Dissipations-Monitoring für die Unterscheidung zwischen verschiedenen Typen zu zeigen, haben wir hier Beispiele für beide Arten von PEM untersucht; nämlich das lineare Wachstum von Polystyrolsulfonat / Polyallylamin (PSS / PAH) und das exponentielle Wachstum von Poly-L-Glutaminsäure / Polyallylamin (PGA / PAH).

Die Polyelektrolytlösungen wurden durch Auflösen der entsprechenden Mengen an Polyelektrolyten in Tris-NaCl-Pufferlösung (Tris 20 mM, 150 mM NaCl, pH 7,4) hergestellt.

Die Konzentrationen der PEI (polyethylenimin) Lösung betrug 1 mg/ml und die der PAH, PGA und PSS Lösungen 0,5 mg/ml. Die In-situ-Überwachung des PEM-Aufbauprozesses wurde von der qCell T auto Vorrichtung gemäß eines benutzerdefinierten Skript-Protokolls durchgeführt, das automatisch zwischen den verschiedenen Polyelektrolyten wechselt.

Nachfolgende PEM-Massen- und Schichtdickenberechnungen wurden durchgeführt, um die Sauerbrey-Relation und das viskoelastische Modul mit der begleitenden Datenverarbeitungssoftware qGraph viewer zu implementieren.

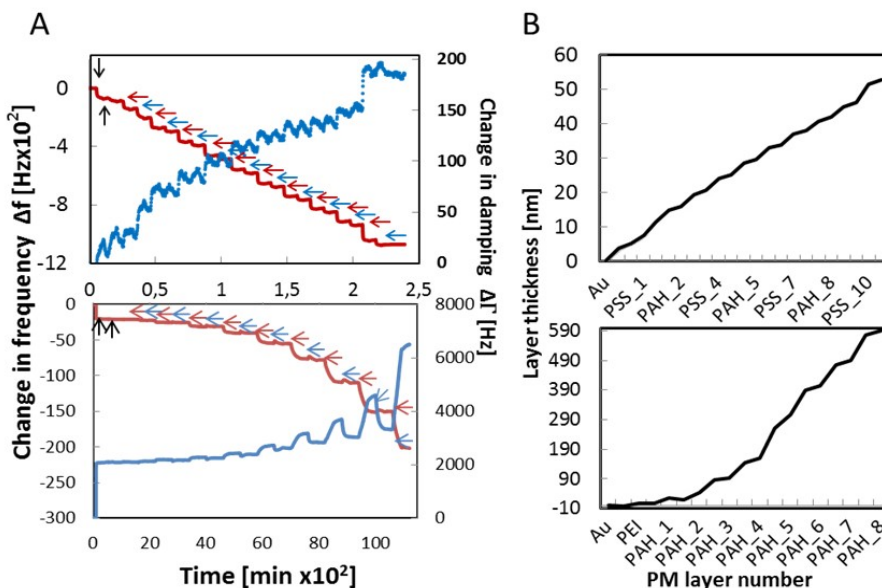


Abb. 5: Echtzeit Monitoring des Schicht-für-Schicht-Aufbaus von PEI-(PSS / PAH) und PEI-(PGA / PAH) Multilayern.

(A) Progression der Frequenz- (rote Linie) und der Dämpfungs-Signale (blaue Linie), gemessen mit 3T analytik QCM-D, als Funktion der Zeit. Die Pfeile zeigen auf die Polyelektrolyt (PE) Zugaben (PEI schwarz, PSS / PGA rot, PAH blau). Beachten Sie, dass 10 Zyklen für den Aufbau der PSS / PAH (oberes Panel) und acht Zyklen für den Aufbau der PGA / PAH Multilayer (unteres Panel) durchlaufen wurden.

(B) Die PSS / PAH- und PGA / PAH- Filmschichtdicke als Funktion der PE-Zugabe. Die PEM-Schichtdicke der PSS / PAH wurde durch die Anwendung des Sauerbrey-Modul-Verfahrens (B, oberes Panel) und die der PGA / PAH durch Anwendung des viskoelastischen Modul-Verfahrens (B, unteres Panel) bestimmt, die im dazugehörigen Softwarepaket qGraph zur Verfügung stehen. Die Filmdichte wurde bei 1 g/cm³ für das Sauerbrey-Modul fixiert und für das viskoelastische Modul wurde die Schichtdicke auf 1 g/cm³, die Flüssigkeitsdichte auf 1 g/cm³ und die flüssige Viskosität auf 1 mPa · s festgelegt. Beachten Sie die zehnfache Erhöhung der Schichtdicke der PGA / PAH im Vergleich zur PSS / PAH PEM.

Ergebnisse der PEM-Bildung per 3T analytik qCell T auto

Die Progression der QCM-D-Signale, Frequenzverschiebung und Dämpfungsentwicklung während des Aufbaus der PEI-PSS / PAH-Multilayer sind in Abbildung 5A (oben) gezeigt. Die negative Frequenzverschiebung entspricht einer Massenerhöhung, der Dämpfungsverlauf korreliert mit der Dissipationsenergie der Kristalloszillation. Ein kleiner, proportionaler Anstieg des Dämpfungswertes entspricht der Abscheidung eines starren Films (Abbildung 5A, oben, blaue Linie). Auffällig ist, dass der Aufbau der PEI-PGA / PAH-Multilayer einer exponentiellen Kurve mit einer ausgeprägten initialen Frequenzverschiebung folgt (Abbildung 5A, unten, rote Linie), die auf die exponentiell zunehmende Massenablagerung hindeutet. Gleichzeitig steigt das Dämpfungssignal exponentiell drastisch an (blaue Linie), was einen progressiv viskosen Zustand der PGA / PAH-Multilayer anzeigt.

Die Dicke der PSS / PAH-Multilayer wird nach 10 Zyklen der PSS / PAH-Abscheidung nach dem Sauerbrey-Modul-Verfahren [1] (Abbildung 5B, oben) auf etwa 50 nm bestimmt.

Bemerkenswerter Weise beträgt die Schichtdicke im Fall der PGA / PAH-Multilayer etwa 590 nm nach acht Zyklen von PE-Abscheidungen nach Bestimmung durch das viskoelastische Modul [8] (Abbildung 5B, unten). Der dramatische Unterschied der PGA / PAH Schichtdicke im Vergleich zu der von PSS / PAH wurde bisher durch Unterschiede im Aufbaumodus erklärt [5]. Bei der Abscheidung von PGA diffundieren die PGA-Ketten in den Film, und bilden ein Reservoir. Wenn PAH abgelagert wird, diffundieren PGA-Ketten, aus dem Film und bilden mit PAH einen Komplex wobei die neue Schicht gebildet wird. Die PGA-Ketten des Reservoirs werden durch H₂O Moleküle ersetzt, wodurch die Viskosität des gebildeten Films erhöht wird. Die Schichtdicke nimmt mit der Anzahl der Abscheidungsschritte aufgrund der Zunahme der Filmdicke (des Reservoirs) zu, was zu einem exponentiellen Wachstum der PGA / PAH-Schichtdicke führt. Insgesamt sind die Eigenschaften von PSS / PAH- und PGA / PAH-PEMs, den der bisher veröffentlichten Daten sehr ähnlich. [9 & 10]

Zusammenfassung / Schlussfolgerungen

Der Aufbau von zwei unterschiedlichen PEMs wurde in Echtzeit per 3T analytik QCM-D Technologie erfolgreich verfolgt. Auto-Setup-Messungen ermöglichten die Minimierung des Hands-on-Zeitaufwands auf etwa 5 min.

Die beobachteten Frequenzverschiebungen und Dämpfungsverläufe der zwei getesteten PEMs, PSS / PAH- und PGA / PAH, weisen auf einen linearen bzw. exponentiellen Aufbau von 10 und 8 Schichten unterschiedlicher physikalischer Zustände hin. Die Filmdicke der PSS / PAH- und PGA / PAH-Multilayer auf der Sensoroberfläche wurde durch die 3T analytik qGraph viewer-Software auf jeweils ~50 nm bzw. ~590 nm bestimmt.

Schließlich stellt diese Studie das qCell T auto als zuverlässiges und effizientes Werkzeug für QCM-D Langzeitmessungen vor. Das experimentelle Setup ermöglicht schnelle standardisierte Messungen, die bei manueller Probenhandhabung zeitaufwendig gewesen wären. Die Auto-Setup-Messung ermöglicht eine bedeutende Minimierung der praktischen Arbeit.

Danksagung

Die Autoren danken Dr. Fouzia Boulmedais aus dem Labor von Prof. Dr. Gero Decher am Institut Charles Sadron, Universität Straßburg, für ihren wertvollen Beitrag.

Referenzen

- [1] G. Sauerbrey, *Zeitschrift für Physik*, 1959, 155, 206 – 222.
- [2] K. K. Kanazawa, J.G. Gordon II, *Anal. Chim. Acta*, 1985, 99, 175.
- [3] F. K. Gehring, *Schwingquarzsensoren in Flüssigkeiten*, Cuvillier Verlag Göttingen, 2006, ISBN 3865378722
- [4] G. Decher, *Science*, 1997, 277, 1232-1237.
- [5] G. Decher, J. D. Hong and J. Schmitt, *Thin Solid Films*, 1992, 210/211, 831-835.
- [6] (a) P. Lavalle, C. Picart, F. J. G. Cuisinier, G. Decher, P. Schaaf and J.-C. Voegel, *Biophys. J.*, 2002, 82, 53a-53a; (b) P. Lavalle, C. Picart, J. Mutterer, C. Gergely, H. Reiss, J.-C. Voegel, B. Senger and P. Schaaf, *J. Phys. Chem. B*, 2004, 108, 635-648.
- [7] J. Méndez Garza, P. Schaaf, S. Muller, V. Ball, J.-F. Stoltz, J.-C. Voegel and P. Lavalle, *Langmuir*, 2004, 20, 7298-7302.
- [8] E. Guzman, F. Ortega, M. G. Prolongo, V. M. Starov, R. G. Rubio, *Influence of the molecular architecture on the adsorption onto solid surfaces: comb-like polymers*, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2011, 13, 16416-16423.
- [9] A. E. El Haitami, D. Martel, V. Ball, H. C. Nguyen, E. Gonthier, P. Labbé, J.C. Voegel, P. Schaaf, B. Senger and F. Boulmedais, *Langmuir*, 2009, 25, 2282-2289.
- [10] D. Grieshaber, J. Voros, T. Zambelli, V. Ball, P. Schaaf, J.-C. Voegel and F. Boulmedais, *Langmuir*, 2008, 24, 13668-13676.