



universität
wien

DISSERTATION

Mikrostrukturierte Interdigitalkondensatoren zur
Typisierung und Charakterisierung von Erythrozyten
mittels kapazitativer und resistiver Messprinzipien und
massensensitiver Messungen

Verfasser

Mag.rer.nat. Stephan Aigner

angestrebter akademischer Grad

Doktor der Naturwissenschaften (Dr.rer.nat.)

Wien, März 2011

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 091 419

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Dr.-Studium der Naturwissenschaften Chemie

Betreuer:

O. Univ.-Prof. Dr. Franz L. Dickert

Vorwort

Meine Dissertation entstand in der Zeit von Juli 2009 bis März 2011 in der Abteilung für Chemosensoren und optische Molekülspektroskopie des Institutes für Analytische Chemie der Universität Wien, Währinger Straße 38, 1090 Wien, Österreich.

Die Betreuung der Dissertation und die wissenschaftliche Beratung erfolgten durch Herrn O. Univ.-Prof. Dr. Franz L. Dickert.

Danksagung

Besonderen Dank möchte ich an dieser Stelle Herrn O. Univ.-Prof. Dr. Franz L. Dickert aussprechen, der mir während meiner gesamten Dissertation mit fachlichem Rat zur Seite stand und mich in dieser Zeit unterstützt hat.

Einen speziellen Dank für die Bereitstellung der Blutproben für die Messungen während meiner Dissertation möchte ich Herrn Dr. Christof Jungbauer vom Österreichischen Roten Kreuz aussprechen.

Weiteren Dank ergeht an meine Kolleginnen und Kollegen in der Arbeitsgruppe insbesondere an Herrn Ao. Univ.-Prof. Dr. Peter Lieberzeit, Frau Dr. Alexandra Seifner und Frau Mag. Judith Wackerlig, für ihre Diskussionen und Hilfestellungen sowohl in praktischer als auch in theoretischer Hinsicht.

Zum Abschluss möchte ich noch meiner Familie und meinen Freunden für ihre Unterstützung in der Zeit meiner Dissertation und während meines Studiums danken.

Inhaltsverzeichnis

1. Einführung.....	9
2. Grundlagen	11
2.1. Einleitung Sensoren.....	11
2.2. Kapazitive und resistive Sensoren.....	14
2.2.1. Elektrischer Widerstand	14
2.2.2. Elektrische Kapazität	18
2.2.3. Parallel- und Reihenschaltungen von Kondensatoren und Widerständen	21
2.2.4. Interdigitalstrukturierte Kondensatoren (IDK).....	26
2.3. Massensensitive Sensoren	28
2.3.1. Quarz und der Piezoelektrische Effekt.....	28
2.3.2. Die Quarzmikrowaage (QCM).....	30
2.4. Molekulares Prägen (<i>molecular imprinting</i>)	34
2.5. Atomkraftmikroskopie	36
2.6. Blut	38
2.6.1. Der menschliche Blutkreislauf.....	38
2.6.2. Zusammensetzung des Blutes	40
2.6.3. Erythrozyten	42
2.6.4. Die Blutgruppen	45
3. Experimentelles	49
3.1. Reinigung und Vorbereitung der Blutproben.....	49
3.2. Bestimmung der Erythrozytenkonzentration bzw. Zellenzahl.....	51
3.3. Herstellung der Elektrodenstrukturen auf der Quarzmikrowaage	53
3.4. Beschichtung und Prägung der Sensoren.....	55
3.4.1. Polyvinylpyrrolidon.....	55
3.4.2. Polyurethan.....	57

3.4.3. Polyacrylat	58
3.4.4. Beschichtung und Prägung der Interdigitalstrukturkondensatoren	60
3.4.5. Beschichtung und Prägung der Quarzmikrowaage	61
3.5. Messung und Aufbau der Messapparaturen	62
3.5.1. Messaufbau für die IDK-Messungen.....	62
3.5.2. Messablauf bei der IDK-Messung	64
3.5.3. Messablauf für Durchflussmessungen mittels IDK.....	66
3.5.4. Messaufbau für die Quarzmikrowaagen-Messung	67
3.5.5. Messablauf bei der QCM-Messung	69
3.6. Messmodi am LCR-Meter HP 4284 A	72
4. Ergebnisse	75
4.1. Kurvenformen der Messungen	75
4.1.1. Kurvenform der Kapazitätsmessungen.....	75
4.1.2. Kurvenform der Widerstandsmessungen.....	79
4.1.3. Kurvenform der Quarz-Mikrowaagen-Messungen	84
4.2. Pumpeffekte bei der IDK-Messung	86
4.3. Einfluss des Polymers auf die Messungen	96
4.3.1. Messung mit einem unbeschichteten IDK.....	97
4.3.2. Messung mit Polyurethan als sensitive Schicht.....	105
4.3.3. Messung mit Polyacrylat als sensitive Schicht.....	109
4.3.4. Messung mit Polyvinylpyrrolidon als sensitive Schicht.....	113
4.3.5. Zusammenfassung der Tests der unterschiedlichen Polymere	118
4.4. Blutgruppendifferenzierung.....	121
4.4.1. Kapazitätsmessungen zur Blutgruppendifferenzierung.....	121
4.4.2. Widerstandsmessungen zur Blutgruppendifferenzierung.....	128
4.4.3. QCM-Messungen zur Blutgruppendifferenzierung.....	138

4.4.4. Zusammenfassung der Blutgruppendifferenzierung	145
4.5. Einflüsse auf die Widerstandsmessung	153
4.5.1. Frequenzabhängige Widerstandsmessung.....	155
4.5.2. Einfluss des Lösungsmittels (Ionenkonzentration)	163
4.6. Einfluss der Konzentration an Erythrozyten auf die Messung.....	169
4.6.1. Konzentrationsabhängigkeit der IDK-Messungen.....	169
4.6.2. Konzentrationsabhängigkeit der QCM-Messungen	179
4.6.3. Zusammenfassung der Konzentrationsabhängigkeit.....	181
4.7. Stabilitätstest des Sensors.....	182
4.7.1. Stabilitätsabhängigkeit von der Sensorschicht.....	182
4.7.2. Stabilitätsabhängigkeit von den Erythrozyten.....	192
4.7.3. Zusammenfassung der Stabilitätstests.....	213
5. Zusammenfassung	221
5.1. Zusammenfassung	221
5.2. Summary	223
6. Anhang	225
6.1. Chemikalienverzeichnis	225
6.2. Geräteverzeichnis	226
6.3. Abkürzungsverzeichnis	227
7. Literatur	229

1. Einführung

Die Weiterentwicklung und Optimierung von Sensoren haben zu einer schnellen und exakten Charakterisierung von komplexen Proben geführt und somit eine Verbesserung von Qualitäts- und Sicherheitsstandards erreicht. Die Anwendungsbereiche der Analysen reichen von der Umweltanalytik über die Qualitätskontrolle bis in den Bereich der Pharmazie und Medizin und decken so einen großen und vor allem weit gefächerten Bereich der Naturwissenschaften ab. Es ist immer öfter notwendig Analyseverfahren zu entwickeln, die eine Überschneidung der Fachbereiche Chemie, Biochemie, Elektrotechnik und Medizin mit sich bringen. Vor allem der Bereich der Echtzeit-Analyse beziehungsweise der Echtzeit-Überwachung wurde durch die immer stärker steigenden Kontrollen von Produktionsprozessen oder der Überwachung der Gesundheit von Patienten in Spitälern wichtiger.

Von entsprechenden Mess- und Sensoreinheiten werden eine hohe Selektivität, eine große Empfindlichkeit, eine möglichst geringe Nachweisgrenze und niedrige Querselektivitäten verlangt, wobei solche Messapparaturen möglichst klein, handlich und automatisierbar sein sollen. Dazu kommt die Anforderung nach einer möglichst kostengünstigen industriellen Herstellungsmöglichkeit und die einer Verwendung von möglichst umweltfreundlichen Materialien.¹

Aus diesen Gründen hat die IUPAC bereits im Jahr 1989 die Definition von Chemosensoren festgelegt:

*„Small device capable of continuously recognizing concentration of chemical constituents in liquids or gases and converting this information in real-time to an electrical or optical signal“.*²

Sensoren bieten durch ihre günstige Anschaffung und niedrige Betriebskosten eine billige Alternative zu kosten- und zeitaufwendigen Analysenmethoden. Besonders im medizinischen Bereich können durch Sensoren teure Antikörpertests eingespart werden und so mithelfen, dass Unternehmen oder die öffentliche Hand Kosten reduzieren können. Dazu kommen immer öfter synthetische Antikörper, wie sie bei der molekularen Prägung von Polymeren hergestellt werden können, zur Anwendung.

Die Vorzüge eines Sensors sind seine hohe Reversibilität der Sensorschicht, eine gute Selektivität bei gleichzeitig geringer Nachweisgrenze, einem geringen ökonomischen Aufwand in der Produktion und eine Reduzierung der Größe und somit eine Verwendung in miniaturisierten Messgeräten. Damit werden nicht nur Kosten reduziert, sondern auch Abfälle, welche bei der Herstellung oder bei der Anwendung – zum Beispiel bei der Verwendung von Einwegtests und Dosimetern – angesammelt werden, vermieden und trägt so zu einer Umweltschonung bei.

Besonders die Weiterentwicklung von kleinen, mobilen Messeinheiten, welche eine ortsunabhängige Analyse ermöglicht, wurde in den letzten Jahren vorangetrieben. Damit wird angestrebt die Zeit zwischen Probenentnahme, Probenaufbereitung und dem eigentlichen Messschritt selbst zu reduzieren. Ergebnisse für umwelt- oder gesundheitsrelevante Parameter können so rasch und am Ort des Geschehens bestimmt und Entscheidungen getroffen werden. Gerade im medizinischen Bereich und hier in der Implantat- und Transfusionsmedizin ist es notwendig schnell und unkompliziert einen passenden Spender für die Blut- oder Organspende zu finden.

Deshalb habe ich mich mit der Entwicklung und Optimierung von resistiven, kapazitiven und massensensitiven Chemosensoren zur Charakterisierung, Typisierung und Differenzierung von Blutproben anhand deren blutgruppenabhängigen Antigenstrukturen der Zellmembran beschäftigt. Des Weiteren habe ich das Adsorptions- und Wanderungsverhalten von Erythrozyten auf Polymerschichten beobachtet und gemessen, um Aussagen über deren Ein- und Anlagerungsverhalten auf und in Polymerschichten zutreffen.

2. Grundlagen

2.1. Einleitung Sensoren

Sensoren sind, wie bereits in der Einleitung angesprochen, miniaturisierte Messeinheiten mit einem für die jeweilige Problemstellung ausgelegtem Erkennungssystem. Dieses kann zum Beispiel eine selektive Sensorschicht, welche auf ein bestimmtes Molekül reagiert, sein. Durch An- beziehungsweise Abwesenheit des jeweiligen Analyten zeigt diese Schicht ein unterschiedliches chemisches Verhalten. Über einen Transducer kann diese chemische Information in ein auswertbares – meist elektrisches – Signal umgewandelt und über eine Auswertelektronik verarbeitet werden. Dabei muss für jede Aufgabenstellung und Probenzusammensetzung das Sensorprinzip und das Transducerprinzip aufeinander abgestimmt sein, wie in der folgenden Tabelle 1 ersichtlich ist und einige Beispiele für verschiedene Prinzipien mit dem dazugehörigen Sensortypen zeigt.

Tabelle 1: Gegenüberstellung von Sensorprinzip und Sensortyp³

Sensorprinzip	Sensortyp
Leitfähigkeitsänderung	Metalloxid-Halbleiter Organische Halbleiter
Potentialänderung	ISE Festkörper-Gassensoren Feldeffekttransistoren
Stromänderung	Amperometrie (Clark- und Enzymelektroden, Immunsensoren, Festelektrolytsonden)
Resonanzfrequenzänderung	Piezoelektrische Waage SAW-Oberflächenakustische Wellen
Änderung optischer Größen	Transmission/Absorption Trübung Remission Fluoreszenz Lichtbrechung
Optothermische Wechselwirkungen	Photoakustischer Sensor
Wärmeeffekte	Thermische/kalorimetrische Sensoren Pelliston

Die Auswahl des jeweiligen Sensorsystems für die Aufgabenstellung soll so getroffen werden, dass eine gute Balance zwischen einer hohen Robustheit, einer guten Langzeitstabilität und einer geringe Temperaturabhängigkeit gegeben ist und die Produktion billig und wirtschaftlich erfolgen kann. Besonders elektrische Sensorprinzipien haben sich hierbei in den letzten Jahrzehnten immer öfter dafür geeignet gezeigt, da diese in der Herstellung kostengünstig sind

und ein breites Anwendungsspektrum besitzen. Dazu liefern die meisten elektrischen Sensorprinzipien eine für die Auswertelektronik gut verwendbare Sensorantwort, wie zum Beispiel eine Spannung, einen Strom oder eine Frequenz, welche gleich weiter verarbeitet werden kann. Daher sind diese besonders in der Echtzeitanalytik sehr beliebt.

Der Interdigitalkondensator (IDK) hat sich für die Bestimmung von physikalischen Parametern, wie dem elektrischen Widerstand beziehungsweise der elektrischen Leitfähigkeit oder der Kapazität, als geeignet gezeigt. Über einen entsprechenden Schaltungsbau der Auswertelektronik können so die Veränderung von Widerstand, Kapazität und Induktivität bei Anwesenheit des Analyten beobachtet werden. Dabei ist es auch möglich mehrere Messgrößen gleichzeitig zu registrieren, welches einen breiteren Anwendungsbereich und damit auch eine bessere Auswertung ermöglicht.

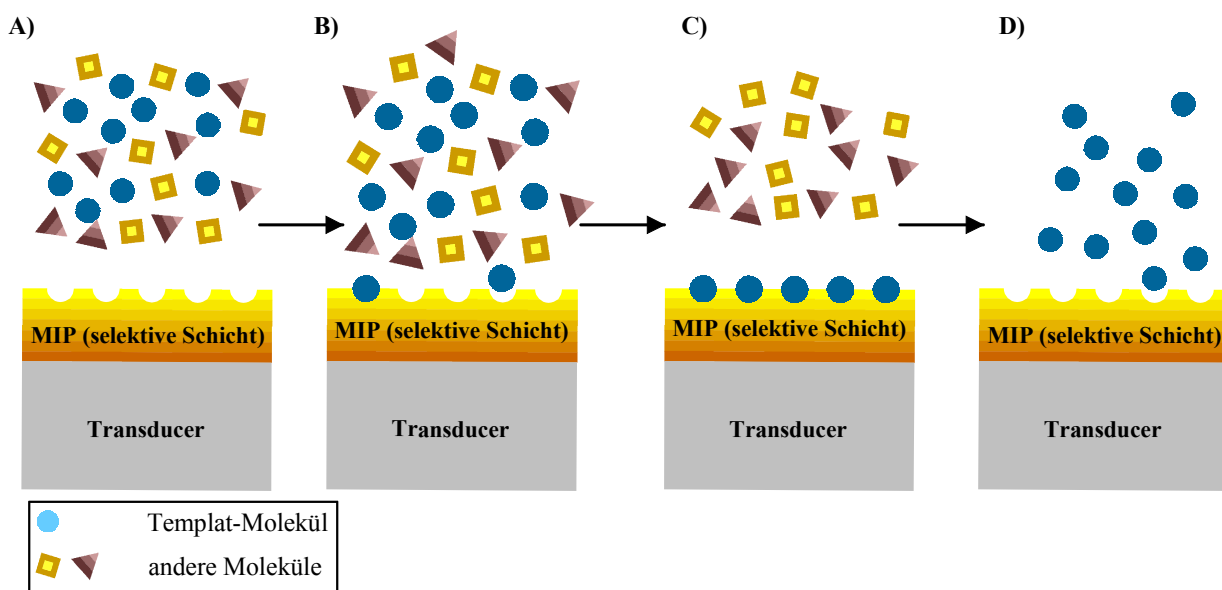


Abb. 1: Schematische Darstellung des Extraktionsverlaufs der Templat-Moleküle mittels einer molekular geprägten Polymerschicht (*molecular imprinted polymer; mip*); **A:** Probelösung mit Templat-Molekül und anderen Moleküle werden auf die selektive Schicht aufgetragen/in die Messzelle eingebracht; **B:** das Templat-Molekül wird aus der Lösung in das Polymer extrahiert; **C:** Alle Kavitäten in der selektiven Schicht sind mit dem Analyten besetzt; andere Moleküle werden aus der Messzelle entfernt (gespült) **D:** Durch einen Wasch- bzw. Reinigungsprozess (z.B.: Herausspülen oder Verdampfen) lässt sich der Analyt wieder entfernen und der Sensor kann wieder verwendet werden

Um die Analytmoleküle aus der Probenlösung zu extrahieren und die Selektivität des Systems zu erhöhen, muss die Oberfläche der Interdigitalstruktur entsprechend verändert werden. Die Modifikation der Schicht erfolgt durch Wechselwirkungen des Polymers mit dem Analyten bei

der Polymerisation. Dazu wird ein Präpolymer auf die Interdigitalstruktur aufgetragen und mit einem Templat, welches dem Analytmolekül entspricht, beziehungsweise eine ähnliche chemische Struktur besitzt, versetzt. Durch die Interaktion der Templatsubstanz mit dem Präpolymer bilden sich beim Aushärteprozess dreidimensionale Abdrücke, sogenannte Kavitäten, des Target-Analyten mit den jeweiligen spezifischen Bindungsstellen. Diese Methode wird auch molekulares Prägen (*molecular imprinting*) beziehungsweise die daraus resultierende Schichten als molekular geprägte Polymere (*molecular imprinted polymers; mip*) genannt. Durch diese Wechselwirkungsstellen im Polymer können nun Analytmoleküle aus der Probelösung extrahiert und reversibel in die Kavitäten eingelagert werden. Durch entsprechende Waschbeziehungsweise Reinigungsprozessen (zum Beispiel durch das Verdampfen des Analyten) lassen sich diese wieder herauslösen und die Sensorschicht steht für weitere Messungen zur Verfügung. Dieser Prozess ist in Abb. 1 schematisch dargestellt.^{4,5,6}

Mittels dieser Methode lassen sich für eine Vielzahl an Templatmolekülen selektive Schichten herstellen. Diese können sich sowohl von der Größe (von sehr kleinen Molekülen – wie polyzyklische Aromaten – über makromolekulare Verbindungen bis hin zu Proteinen, Zellen und Pollen), als auch von der Beschaffenheit (polare und unpolare Verbindungen) unterscheiden. Dadurch besteht ein großes Anwendungsspektrum für die Verwendung des molekularen Prägens, welches sich auch in den stark wachsenden Gebieten der Analytischen Chemie und Medizintechnik, vor allem im Bereich der Entwicklung von chemischen Sensoren und in der Separationstechnik, widerspiegelt.^{7,8,9,10,11}

2.2. Kapazitive und resistive Sensoren¹²

Kapazitive und resistive Sensoren arbeiten auf Grundlage der Änderung der Kapazität oder des Widerstandes. Meistens werden dazu Strom- oder Frequenzmessungen durchgeführt, welche für die Messtechnik gut und schnell verwertbare Signale darstellen. Vor allem bei einem direkten Stromsignal werden Arbeitsschritte zur Umwandlung von zum Beispiel Lichtsignalen in elektrische Impulse umgangen, wodurch eine wesentlich schnellere Messauswertung mit kompakterem Geräteaufbau ermöglicht wird.

Bei der Auswahl der Analyte stellt dieses jedoch eine gewisse Beschränkung dar, da nur jene Moleküle oder Zellen, wie Bakterien oder Erythrozyten, nachgewiesen werden können, welche entweder selbst eine Rolle bei der elektrischen Leitung spielen (wie Ionen oder Biopartikeln mit einer geladenen Oberfläche beziehungsweise Membran) oder indirekt durch deren Anwesenheit eine Veränderung von elektrischen Parametern, wie jene der Dielektrizitätskonstante oder der elektrischen Leitfähigkeit, erfolgt (wie Moleküle mit Dipolmomenten).

2.2.1. Elektrischer Widerstand¹³

Jede elektrische Schaltung und jedes elektrische Bauteil fungiert als ein elektrischer Widerstand, das heißt, dass eine gewisse Spannung notwendig ist, um einen Stromfluss in diesem System zu erreichen. Diese Proportionalität, dass die Spannung U proportional zum Strom I ist, wurde von Georg Simon Ohm durch das Ohmsche Gesetz beschrieben, das wie folgt lautet:

$$U \sim I$$

Gleichung 1

wobei

U ... Stromspannung [V]

I ... Stromstärke [A]

darstellt.

Dabei wird der Widerstand R als der Proportionalitätsfaktor für das gleichbleibende Verhältnis von Spannung und Strom definiert:

$$R = \frac{U}{I}$$

Gleichung 2

Wird der Widerstand in einem Wechselstromsystem betrachtet, so muss dieser komplex beschrieben werden. Die Impedanz, der komplexe Widerstand, besteht aus einem Realteil, der Resistanz, und einem Imaginärteil, der Reaktanz, und kann mit der folgenden Gleichung beschrieben werden:

$$\underline{\vec{Z}} = R + i \cdot X$$

Gleichung 3

wobei

Z	...	Impedanz [Ω]
R	...	Resistanz, Wirkwiderstand [Ω]
X	...	Reaktanz, Blindwiderstand [Ω]
i	...	imaginäre Einheit

darstellt.

Wird die Impedanz in einer komplexen Ebene als ein Zeiger betrachtet, welcher durch die Resistanz und die Reaktanz zusammengesetzt wird, so ergibt sich folgende graphische Darstellung:

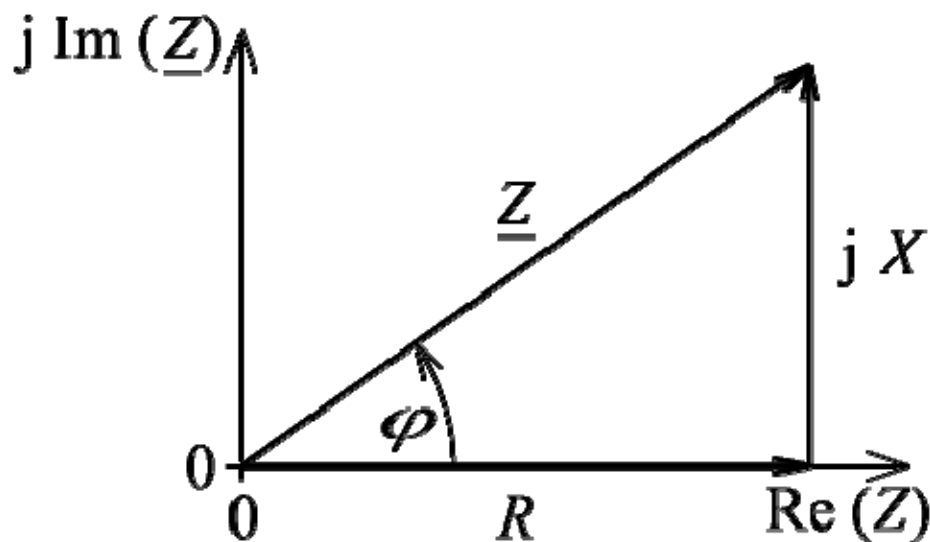


Abb. 2: Vektordarstellung der Impedanz

Die Reaktanz kann als eine Funktion der Phasenverschiebung (φ) der Wechselspannung, welche Werte zwischen $+90^\circ$ bis -90° annehmen kann, beschreiben und wie folgt formuliert werden:

$$X = \frac{U}{I} \cdot \sin \varphi$$

Gleichung 4

wobei

X	...	Reaktanz, Blindwiderstand [Ω]
U	...	Stromspannung [V]
I	...	Stromstärke [A]
φ	...	Phasenverschiebung [rad] (-90° bis $+90^\circ$)

darstellt.

Wie in der oben angeführten Graphik (Abb. 2) zu erkennen ist, ist die Resistanz durch eine Phasenverschiebung von $\varphi=0^\circ$ definiert. Daher kann die Reaktanz auf Widerstandswerte der Kapazität und der Induktivität zurück geführt werden. Diese sind über die Kreisfrequenz mit der Phasenverschiebung verbunden und damit von der Wechselspannung abhängig. Dabei lässt sich die Kreisfrequenz (ω) unter der Annahme einer gleichbleibenden Winkelgeschwindigkeit mit der Phasenverschiebung, wie folgt verknüpfen:

$$\omega = 2 \cdot \pi \cdot f = \frac{\varphi}{t}$$

Gleichung 5

wobei

f	...	Kreisfrequenz [Hz]
φ	...	Phasenverschiebung [rad] (-90° bis $+90^\circ$)
t	...	Zeit [s]

darstellt.

Daraus ergibt sich für die die Impedanz eines Kondensators, also für die kapazitätsabhängige Impedanz, folgende Formulierung:

$$\overrightarrow{Z_C} = \frac{1}{i \cdot C \cdot \omega}$$

Gleichung 6

wobei

Z_c	...	Impedanz des Kondensators [Ω]
C	...	Kapazität [C]
i	...	imaginäre Einheit
ω	...	Kreisfrequenz [rad s^{-1}]

darstellt.

Für die induktivitätsabhängige Impedanz ergibt sich folgende Beschreibung:

$$\overrightarrow{Z_L} = \omega \cdot i \cdot L$$

Gleichung 7

wobei

Z_L	...	Impedanz einer Spule [Ω]
L	...	Induktivität [H]
i	...	imaginäre Einheit
ω	...	Kreisfrequenz [rad s^{-1}]

darstellt.

Für die Messung von Widerständen werden oft Brückenschaltungen verwendet. Beispiele für Brücken zur Ermittlung von Widerstandswerte sind die Wheatstonsche Messbrücke (für mittlere beziehungsweise hohe Widerstände) oder die Thomson-Brücke (für kleine Widerstände). Bei der Wheatstonschen Messbrücke wird dabei ein unbekannter Widerstand in eine Brücke aus insgesamt 4 Widerständen integriert und die Schaltung abgeglichen, das bedeutet, dass in der Brückenschaltung der Stromfluss zwischen den zwei Brückenteilen gleich ist, das heißt, kein Strom von einem Brückenteil in den anderen fließt. Wenn dieses erreicht ist, kann durch das Vergleichen der Widerstände der unbekannte Widerstand ermittelt werden.

2.2.2. Elektrische Kapazität^{14 15 16}

Die elektrische Kapazität beschreibt die Fähigkeit eines elektrischen Bauelementes elektrische Ladung zu speichern. Zu den bekanntesten Bauteilen zählen die Kondensatoren, welche in einer großen Anzahl in unterschiedlichen Bauformen existieren. Dabei werden im Kondensator zwei elektrische Leiter durch eine nicht leitende Schicht, auch Dielektrikum genannt, voneinander getrennt und durch das Anlegen einer Spannung zwischen den beiden Elektroden diese aufgeladen, das heißt die elektrische Ladung wird in dem Bauelement gespeichert. Es tritt bei jeder elektrischen Schaltung oder Bauanordnung einen Einfluss von kapazitiven Kräften auf, wodurch diese nie vernachlässigt werden darf. Die Kapazität wird durch das Verhältnis von Ladungsmenge zu angelegter Spannung beschrieben, wie in folgender Gleichung dargestellt:

$$C = \frac{Q}{U}$$

Gleichung 8

wobei

C	...	Kapazität [F]
Q	...	Ladungsmenge [C]
U	...	angelegte Spannung [V]

darstellt.

Die einfachste Bauform für einen Kondensator ist der Plattenkondensator, bei dem zwei planare elektrisch leitende Platten parallel zu einander angeordnet werden. Bei einer angelegten Spannung wird zwischen den Platten ein elektrisches Feld ausgebildet und der Kondensator wird aufgeladen. Je nachdem, wie weit die Platten entfernt sind und wie groß die Fläche ist, kann eine unterschiedliche Ladungsmenge gespeichert werden. Im einfachsten Fall ist ein Vakuum zwischen den beiden Flächen, wobei die Dielektrizitätskonstante (ϵ_0) des Vakuums in der Berechnungsformel verwendet wird. Jedoch kann der Zwischenraum des Plattenkondensators auch mit einem speziellen Dielektrikum ausgefüllt werden, welches einen Einfluss auf die gespeicherte Ladungsmenge besitzt. Dabei wird in die Berechnung für das Dielektrikum eine materialspezifische Dielektrizitätszahl (ϵ_r) eingesetzt.

Die Kapazität des Plattenkondensators lässt sich mit folgender Gleichung berechnen:

$$C = \frac{Q}{U} = \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_r \cdot \frac{A}{d} \quad \text{Gleichung 9}$$

wobei

C	...	Kapazität [C]
ε_0	...	Dielektrizitätskonstante des Vakuums [F m^{-1}] ($\varepsilon_0=8,8542 \cdot 10^{-12} \text{ F m}^{-1}$)
ε_r	...	materialspezifische Dielektrizitätszahl
A	...	Fläche der Elektroden [m^2]
d	...	Abstand der Elektroden zueinander [m]

darstellt.

Für die Berechnung des elektrischen Feldes, welches zwischen den beiden Elektrodenflächen im Plattenkondensator aufgebaut wird, gilt, dass das elektrische Feld der angelegten Spannung durch den Abstand der Elektrodenplatten entspricht:

$$E = \frac{U}{d} \quad \text{Gleichung 10}$$

wobei

E	...	elektrische Feld [V m^{-1}]
U	...	angelegte Spannung [V]
d	...	Abstand der Elektroden zueinander [m]

darstellt.

Formt man die zwei oben angeführten Gleichungen um, so führt dieses zur folgenden Formulierung für das elektrische Feld:

$$E = \frac{Q}{A \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_r} \quad \text{Gleichung 11}$$

Damit ist das elektrische Feld von der Ladungsmenge, der Fläche der Elektroden und der Dielektrizitätszahl des Dielektrikums abhängig. Dieses gilt jedoch nur für einfache Bauarten wie dem Plattenkondensator. Für Zylinder- oder Kugelkondensatoren wird die Formel komplexer, wie in Tabelle 2 zusammengefasst dargestellt. Bei einem Zylinderkondensator wird dabei ein Ganzkörperzylinder mit dem Radius R_1 von einem Hohlzylinder mit einem Innenradius von R_2 umgeben. Das Dielektrikum füllt den Zwischenraum aus und hat eine Dicke von $R_2 - R_1$. Bei einem Kugelkondensator ist eine Kugel mit dem Radius R_1 in einer hohlen Kugel mit Innenradius R_2 konzentrisch eingebaut und der Zwischenraum mit einem Dielektrikum ausgefüllt. Das elektrische Feld beim Zylinderkondensator und beim Kugelkondensator ist nicht homogen, das heißt, das elektrische Feld ist vom Abstand r abhängig. Weiters gilt bei den Formeln für das elektrische Feld die Annahme, dass es sich um einen idealen Kondensator handelt, bei dem kein elektrisches Feld außerhalb des Kondensators verursacht wird.

Tabelle 2: Auflistung verschiedener Kondensatortypen und die Berechnung deren elektrisches Feld und der Kapazität des Kondensators

Kondensatortyp	Elektrische Feld	Kapazität
Plattenkondensator	$E = \frac{Q}{A \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_r}$	$C = \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_r \cdot \frac{A}{d}$
Zylinderkondensator	$E_{(r)} = \frac{Q}{2 \cdot \pi \cdot r \cdot l \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_r}$	$C = 2 \cdot \pi \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_r \cdot \frac{l}{\ln\left(\frac{R_2}{R_1}\right)}$
Kugelkondensator	$E_{(r)} = \frac{Q}{4 \cdot \pi \cdot r^2 \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_r}$	$C = 4 \cdot \pi \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_r \cdot \frac{R_2 \cdot R_1}{R_2 - R_1}$

Für die Messung von Kapazitätswerten werden unter anderem Wechselspannungsbrücken, wie zum Beispiel die Wien-Brücke, herangezogen. Dabei werden, wie bei der Wheatstonschen Messbrücke, vier Widerstände in einer Brücke angeordnet. Jedoch bestehen diese Widerstände, da es sich um einen Wechselstromkreis handelt, aus einem ohmschen Widerstand und einem Kondensator welcher für die Reaktanz steht. Damit sind die daraus resultierenden vier Widerstände komplex also Impedanzen. In der Wien-Brücke wird dabei der Kondensator parallel zum ohmschen Widerstand eingebaut. Nach dem Abgleichen der Schaltung, das heißt es darf kein Strom zwischen den beiden Brückenteilen fließen, kann durch Vergleichen der Impedanzen die Kapazität ermittelt werden.

2.2.3. Parallel- und Reihenschaltungen von Kondensatoren und Widerständen¹⁷

Werden nun Kondensatoren und Widerstände in einer Schaltung eingebaut, muss deren Einfluss aufeinander berücksichtigt werden. Dabei wird zwischen paralleler und serieller Anordnung in der Schaltung unterschieden. Bei einer parallelen Anordnung, oder auch Parallelschaltung, ist an jedem Bauteil die gleiche Spannung angelegt:

$$U_{parallel,gesamt} = U_1 = U_2 = U_3 = \dots = U_n \quad \text{Gleichung 12}$$

Der Gesamtstrom $I_{parallel,gesamt}$ der Parallelschaltung lässt sich, nach der Kirchhoffschen Knotenregel, als Summe der Einzelströme durch jeden Zweig der Schaltung berechnen:

$$I_{parallel,gesamt} = \sum_{k=1}^n I_k = I_1 + I_2 + \dots + I_n \quad \text{Gleichung 13}$$

Bei der seriellen Anordnung, oder auch Reihenschaltung, ist der Strom an jedem Bauelement gleich:

$$I_{seriell,gesamt} = I_1 = I_2 = I_3 = \dots = I_n \quad \text{Gleichung 14}$$

Bei der Spannung kann man, nach der Kirchhoffschen Maschenregel, die Gesamtspannung $U_{seriell,gesamt}$ als Summe der Teilspannungen berechnen:

$$U_{seriell,gesamt} = \sum_{k=1}^n U_k = U_1 + U_2 + \dots + U_n \quad \text{Gleichung 15}$$

Diese vereinfachten Aussagen für die Berechnung der Spannung und des Stroms in Schaltungen wird durch die Verwendung von Wechselstrom in eine komplexe Form abgewandelt, da hier die Addition der Spannung (bei Reihenschaltungen) und des Stroms (bei Parallelschaltungen) vektoriell erfolgen muss, wie weiter unten beschrieben wird. Im einfachsten Fall werden nur Widerstände oder Kondensatoren in einer Schaltung verbaut. Wird ein Widerstand mit einem

anderen Widerstand in einer seriellen Reihung zusammengefügt, so können diese als ein zusammengefügt Widerstand vorstellt werden, durch diesen der Strom fließen muss. Der Gesamtwiderstand R_{gesamt} wird daher aus der Summe der Einzelwiderstände gebildet:

$$R_{\text{seriell,gesamt}} = R_1 + R_2 + \dots + R_n = \sum_{k=1}^n R_k \quad \text{Gleichung 16}$$

Werden die Widerstände parallel zueinander geschalten, so addieren sich die reziproken Widerstandswerte zu einem reziproken Gesamtwiderstand. Dabei kann der reziproke Widerstand als Leitwert G definiert werden. Für die Berechnung des Gesamtwiderstands lässt sich folgende Gleichung heranziehen:

$$\frac{1}{R_{\text{parallel,gesamt}}} = \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} + \dots + \frac{1}{R_n} = \sum_{k=1}^n \frac{1}{R_k} \quad \text{Gleichung 17}$$

Bei der Kapazität wird die Gesamtkapazität C_{gesamt} in einer parallelen Schaltung von Kondensatoren durch die Summe aller Einzelkapazitäten gebildet, da dieselbe Spannung an den Bauteilen anliegt:

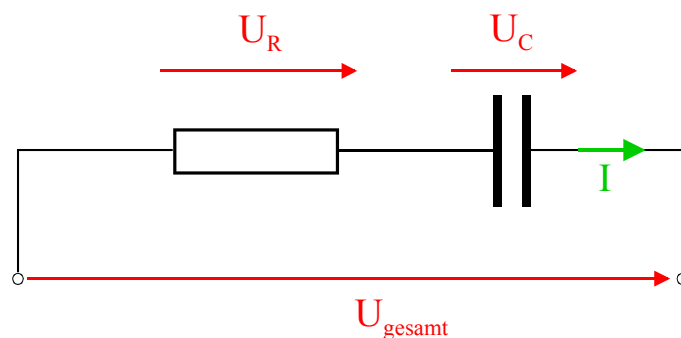
$$C_{\text{parallel,gesamt}} = C_1 + C_2 + \dots + C_n = \sum_{k=1}^n C_k \quad \text{Gleichung 18}$$

Liegt eine Reihenschaltung, also eine serielle Anordnung vor, so fließt durch beide Kondensatoren derselbe Strom und die Kehrwerte der Einzelkapazitäten addieren sich zum Kehrwert der Gesamtkapazität C_{gesamt} auf:

$$\frac{1}{C_{\text{seriell,gesamt}}} = \frac{1}{C_1} + \frac{1}{C_2} + \dots + \frac{1}{C_n} = \sum_{k=1}^n \frac{1}{C_k} \quad \text{Gleichung 19}$$

Bei der Verwendung von Wechselstrom muss bei der Berechnung des Widerstandes die Impedanz herangezogen werden, da in einer Schaltung mit Kondensatoren, diese einen Anteil zu der Reaktanz beisteuern. In Abb. 3 sind eine serielle und eine parallele Anordnung von Kondensator und Widerstand aufgezeichnet.

A) Reihenschaltung



B) Parallelschaltung

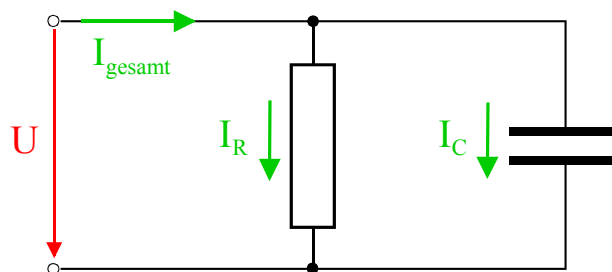


Abb. 3: Widerstands- und Kapazitätsschaltungen: **A:** Reihenschaltung eines Widerstands mit einem Kondensator; **B:** Parallelschaltung eines Widerstands und eines Kondensators

Wird ein Kondensator mit einem Widerstand in einer Reihenschaltung zusammengefügt, also in Serie geschaltet, und ein Wechselstrom angelegt, so gilt für die Gesamtspannung $U_{\text{seriell,gesamt}}$:

$$U_{\text{seriell,gesamt}} = U_R + U_C \quad \text{Gleichung 20}$$

Wird nun für die jeweiligen Einzelspannungen die Umformung auf Strom und Widerstand eingesetzt, wird für die Gesamtspannung der folgende Ausdruck formuliert:

$$U_{\text{seriell,gesamt}} = I \cdot (R + i \cdot X_C) \quad \text{Gleichung 21}$$

wobei

I ... Strom, welcher durch das System fließt [A]

R ... ohmscher Widerstand [Ω]

i ... imaginäre Einheit

X_C ... Reaktanz vom Kondensator [Ω],

mit $X_C = (C \cdot \omega)^{-1}$ wobei ω für die Kreisfrequenz [rad s^{-1}] und C für die Kapazität des Kondensators [F] steht,

darstellt.

Wird berücksichtigt, dass der komplexe Widerstand Z als Spannung durch Strom definiert ist, lässt sich folgender Ausdruck herleiten:

$$\vec{Z} = \frac{\vec{U}}{\vec{I}} = R - i \cdot \frac{1}{C \cdot \omega} \quad \text{Gleichung 22}$$

Treten nun mehrere Impedanzwerte in der Schaltung auf, welche sich wiederum in einer Reihenschaltung zueinander befinden, lassen sich diese zur Gesamtimpedanz $Z_{\text{seriell,gesamt}}$ aufsummieren, wobei hier komplexe Zahlen addiert werden:

$$\vec{Z}_{\text{seriell,gesamt}} = \vec{Z}_1 + \vec{Z}_2 + \dots + \vec{Z}_n = \sum_{k=1}^n \vec{Z}_k \quad \text{Gleichung 23}$$

Wird nun der Widerstand und der Kondensator in einer Parallelschaltung angeordnet, so gilt, dass der Gesamtstrom der Summe des durch jeden Bauteil fließenden Einzelstroms entspricht:

$$I_{\text{parallel,gesamt}} = I_R + I_C \quad \text{Gleichung 24}$$

Umgeformt ergibt diese Gleichung, unter Berücksichtigung der oben angeführten Gleichungen, dass der Gesamtstrom $I_{parallel,gesamt}$ in der Schaltung wie folgt formuliert werden kann:

$$I_{parallel,gesamt} = U \cdot \left(\frac{1}{R} + \frac{1}{i \cdot X_C} \right) \quad \text{Gleichung 25}$$

wobei

U ... Spannung welche am System angelegt ist [V]

R ... ohmscher Widerstand [Ω]

i ... imaginäre Einheit

X_C ... Reaktanz vom Kondensator [Ω],

mit $X_C = (C \cdot \omega)^{-1}$ wobei ω für die Kreisfrequenz [rad s^{-1}] und C für die Kapazität des Kondensators [F] steht,

darstellt.

Wird für den komplexen Widerstand dessen Kehrwert die Admittanz Y ($\vec{Y} = \vec{Z}^{-1}$) und für den ohmschen Widerstand R seinen Kehrwert den Leitwert G ($G = R^{-1}$) eingeführt, so kann die Gleichung für die gesamt Impedanz der Schaltung wie folgt geschrieben werden:

$$\frac{1}{\vec{Z}} = \vec{Y} = \frac{\vec{I}}{\vec{U}} = \frac{1}{R} + \frac{1}{i \cdot X_C} = G + i \cdot \omega \cdot C \quad \text{Gleichung 26}$$

Werden mehrere Impedanzen ermittelt, lassen sich die Kehrwerte der einzelnen Impedanzen beziehungsweise die Admittanzen nach folgender Gleichung aufaddieren:

$$\vec{Y}_{parallel,gesamt} = \vec{Y}_1 + \vec{Y}_2 + \dots + \vec{Y}_n = \sum_{k=1}^n \vec{Y}_k \quad \text{Gleichung 27}$$

Für komplexe Systeme, welche sowohl parallele als auch serielle Anordnungen von Kondensatoren und Widerstände, kann so die Gesamtimpedanzen berechnet werden.

2.2.4. Interdigitalstrukturierte Kondensatoren (IDK)

Für die Messungen in dieser Arbeit wurden interdigitalstrukturierte Kondensatoren (IDK; Interdigitalkondensatoren) verwendet. Dabei ist eine chemisch inerte Edelmetallstruktur auf einer Glas- oder Quarzfläche aufgebracht. Als Metall eignen sich dabei vor allem Gold, Platin und deren Legierungen. Die Struktur ist so organisiert, dass zwei ineinander greifende Kämme, mit einer konstanten Kammdicke und einem konstanten Abstand zwischen den zwei Kammstrukturen, gebildet werden. Zum Aufbringen der Struktur auf das Trägermaterial kann bei großen Elektrodenabständen ein Siebdruckverfahren verwendet werden. Bei kleinen Abständen erfolgt die Beschichtung mittels fotoresistiven Sputtern. Eine Abbildung einer Interdigitalstruktur und deren Anwendung in einem interdigitalstrukturierten Kondensator sind in Abb. 4 zu sehen.

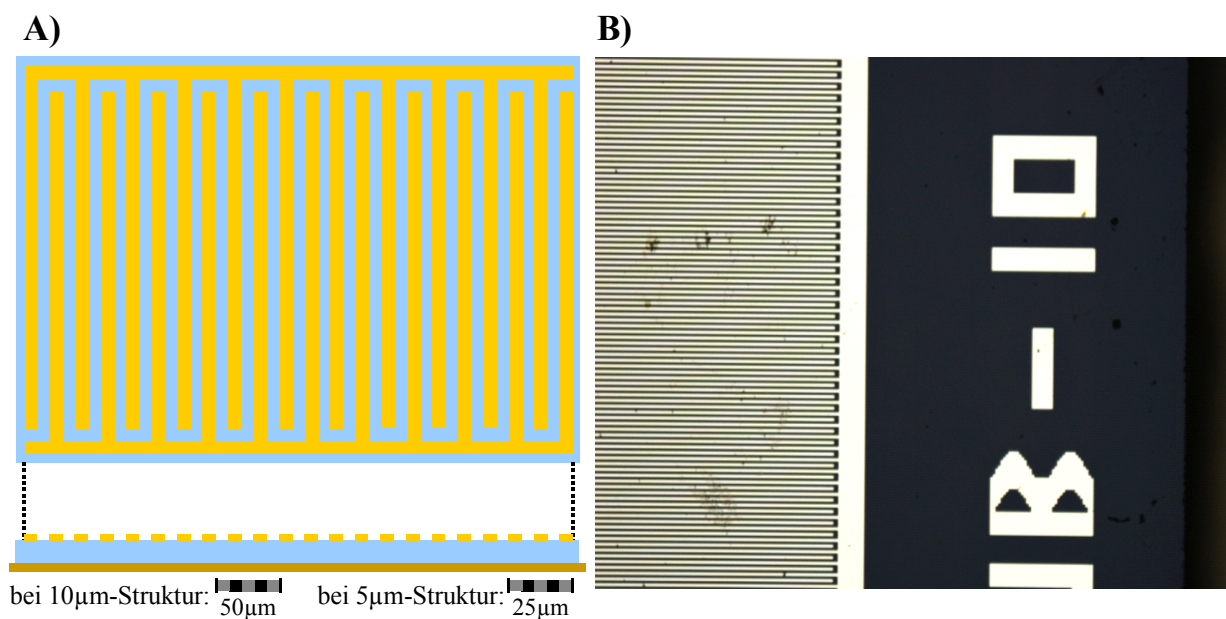


Abb. 4: Interdigitalstrukturierte Kondensator (IDK): **A:** Schematische Darstellung einer Interdigitalstruktur in der Draufsicht und im Querschnitt mit Größenangabe für eine 10 µm- und 5 µm-Strukturbreite; **B:** Foto (aufgenommen mittels Lichtmikroskop) eines 10 µm-Interdigitalkondensators;

Für die Strukturbreite und den Abstand der Elektroden wurden 10 µm und 5 µm herangezogen. Dabei wurde berücksichtigt, dass die Erythrozyten einen Durchmesser von rund 7 µm bis 10 µm besitzen und damit bei 10 µm genau auf einer Elektrode beziehungsweise zwischen zwei Elektroden passen. Bei einem Interdigitalkondensator mit einer Strukturbreite von 5 µm können die Blutzellen nur zur Hälfte auf einer Elektrode positioniert werden. Dieses ist schematisch in Abb. 5 dargestellt. Der Abstand der Elektrodenstrukturen und die Strukturbreite haben neben der

Möglichkeit der Positionierung der Analytzellen auch einen Einfluss auf die elektrische Feldstärke und spielen somit eine Rolle bei der Widerstands- und Kapazitätsmessung.

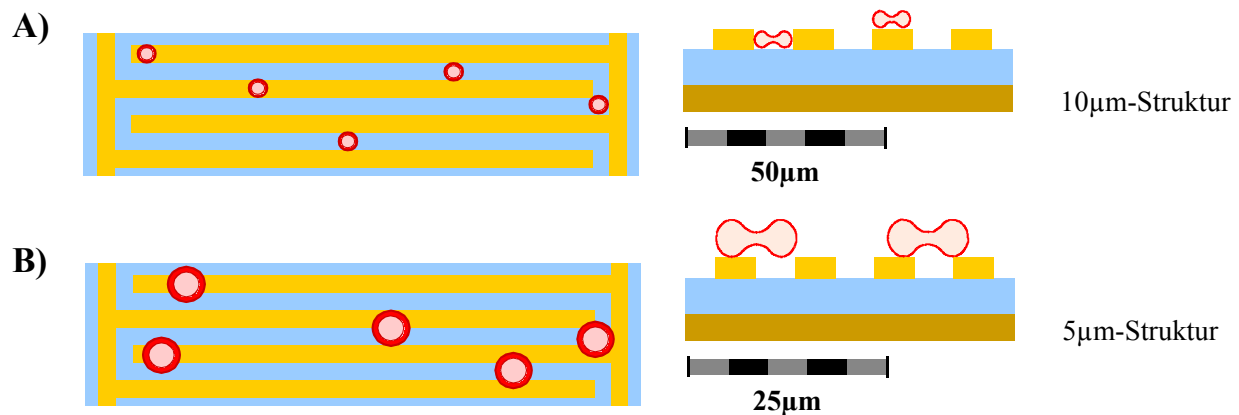


Abb. 5: Schematische Darstellung von Blutzellen in beziehungsweise auf den Elektrodenstrukturen eines IDK; **A:** 10 µm-Struktur **B:** 5 µm-Struktur

Bei Kontaktierung mit einer Spannungsquelle können so beide Strukturteile als Elektrode fungieren. Durch diese Form und Anordnung der Elektroden können mit interdigitalstrukturierten Kondensatoren sowohl Widerstandsmessungen als auch Kapazitätsmessungen durchgeführt werden. Bei der Widerstandsmessung, oder auch bei einer Leitfähigkeitsmessung, wird der elektrische Widerstand des Mediums, zum Beispiel einer Ionenlösung, zwischen den beiden Leiterbahnen gemessen. Da diese immer einen konstanten Abstand aufweisen, kann jede einzelne Bahn als eigenständiger Widerstand betrachtet werden und der Gesamtwiderstand ermittelt werden. Bei Veränderung der Leitfähigkeit des Mediums wird auch der Widerstandswert verändert und so kann auf Ionen, geladene Biopartikeln oder unterschiedliche Lösungsmitteln rückgeschlossen werden.

Bei der Kapazitätsmessung wird die Aufladung der beiden Elektroden gemessen. Dabei dient das Medium dazwischen als Dielektrikum und hat dementsprechend einen Einfluss auf die Messung. Durch die Veränderung der dielektrischen Eigenschaften, also der materialspezifischen Dielektrizitätszahl, wird auch die Kapazität des Kondensators verkleinert oder vergrößert. Besonders Moleküle oder Biopartikeln mit einem Dipolmoment oder der Möglichkeit zur Ausbildung eines Dipols spielen hierbei eine wesentliche Rolle, aber auch Moleküle, welche durch ihre Eigenschaft oder ihren Aufbau selbst als Kondensator fungieren können, können so nachgewiesen werden.

2.3. Massensensitive Sensoren

Massensensitive Sensoren liefern ein der Massenänderung proportionales Signal. Dieses kann durch entsprechende Eichung zur Konzentrationsbestimmung verwendet werden, oder durch einfache „Analyt anwesend“- oder „Analyt abwesend“-Aussagen zur Qualitätskontrolle von Produktionsprozessen oder in der Schadstoffanalytik. Die Anreicherung der Analytmoleküle kann hierbei durch elektrogravimetrische Abscheidung, chemische Umwandlung einer am Sensor befindlichen Substanz oder durch Einlagerung des Analyten in eine Sensorschicht erfolgen. Für letzteres hat sich besonders Quarz durch seinen Piezoelektrischen Effekt und in Anwendung als Quarzmikrowaage mit molekular geprägten Polymerschichten für sehr geeignet gezeigt. Durch die hohe Belastbarkeit, gute physikalische und chemische Stabilität, niedrige Wärmeleitfähigkeit und die große Anzahl an Modifikationsmöglichkeiten der Polymersensorschichten kann damit ein breites Anwendungsspektrum in der Analytischen Chemie abgedeckt werden.

2.3.1. Quarz und der Piezoelektrische Effekt

Für die Herstellung der Quarzmikrowaage wird α -Quarz (SiO_2) verwendet. Der α -Quarz, oder auch Tiefenquarz genannt, ist trigonal-trapezodrisch und gehört zur Kristallklasse 32. Die Elementarzelle ist aus den Seite a_1 , a_2 und a_3 aufgebaut, wobei $a_1=a_2=4,913 \text{ \AA}$, $a_3=5,405 \text{ \AA}$ beträgt und zwischen a_1 und a_2 ein Winkel α von $\alpha=60^\circ$ aufgespannt wird. Durch die Lage der Sauerstoffatome in der Elementarzelle wird eine Schraubachse beschrieben, aufgrund dieser der α -Quarz der Raumgruppen $P3_121$ und $P3_221$ zugeordnet wird. Der Aufbau der Elementarzelle ist in der folgenden Abb. 6 abgebildet.¹⁸

Aufgrund der getrennten Ladungen in der Kristallstruktur kann durch das Einwirken einer Kraft auf den Kristall, durch die eine Verschiebung der Ladungsschwerpunkte innerhalb der Elementarzelle auftritt, eine Ausbildung eines Dipols bewirkt werden. Erfolgt die Neuausrichtung über eine Vielzahl von einzelnen Kristallzellen, so wird die Verschiebung auch makroskopisch als Potentialdifferenz und somit als elektrische Spannung messbar. Dieses tritt jedoch nur auf, wenn das Material eine monokristalline Struktur aufweist. Der Effekt, dass eine mechanische Belastung zu einem elektrischen Antwortsignal führt, wird als piezoelektrischer Effekt bezeichnet und wurde von den Brüdern Jacques und Pierre Curie 1880 an Turmalinkristallen entdeckt.^{19,20} Die Umkehrung, also der Effekt, dass eine mechanische

Verformung beim Anlegen einer Spannung auftritt, bezeichnet man als Elektrostriktion oder inversen piezoelektrischen Effekt.

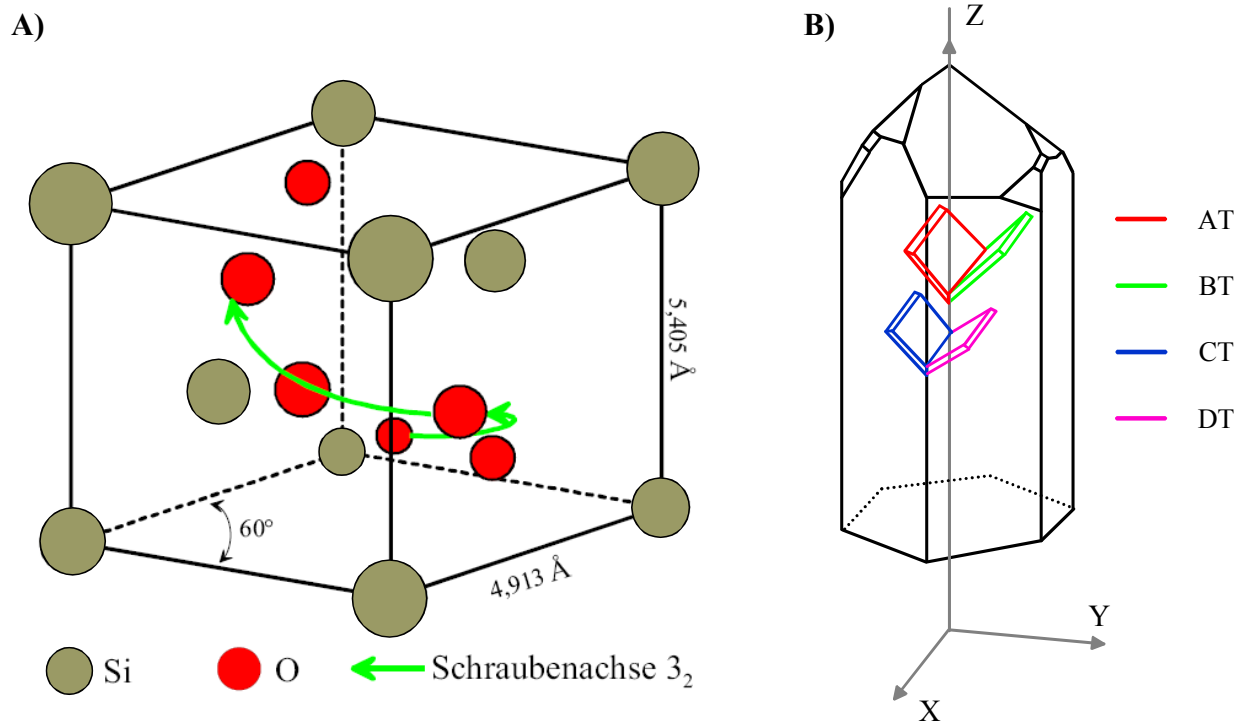


Abb. 6: **A:** Elementarzelle des Quarzes: Siliziumatome (grau); Sauerstoffatome (rot); Schraubenachse 3_s (grün); **B:** Verschiedene Schnitte durch einen Quarzkristall: AT-Cut (rot); BT-Cut (grün); CT-Cut (blau) und DT-Cut (rosa);

Durch unterschiedliche Schnittwinkel im Bezug auf die optische Achse im Quarz kann die Temperaturabhängigkeit beeinflusst werden. Dabei hat beim AT-Cut, im Vergleich zu BT-, CT- und DT-Cut, die Temperatur den geringsten Einfluss. Die verschiedenen Schnitte sind in Abb. 6 zu sehen.

2.3.2. Die Quarzmikrowaage (QCM)

Aus den geschnittenen AT-Cut-Quarzplättchen werden für die Verwendung als Quarzmikrowaage runde Quarzscheiben mit einem Durchmesser von 1,55 cm hergestellt. Durch das Anbringen einer Elektrodenstruktur auf beiden Seiten des Quarzes und dem Anlegen einer Wechselspannung können die Quarze aufgrund des inversen piezoelektrischen Effektes zum Schwingen angeregt werden. Durch die Schwingung bilden sich stehende Wellen im Material aus, dabei können zwischen Biegungs-, Dehn- und Dickenschwingung unterschieden werden. Die verschiedenen Schwingungsformen sind in der folgenden Abbildung dargestellt.

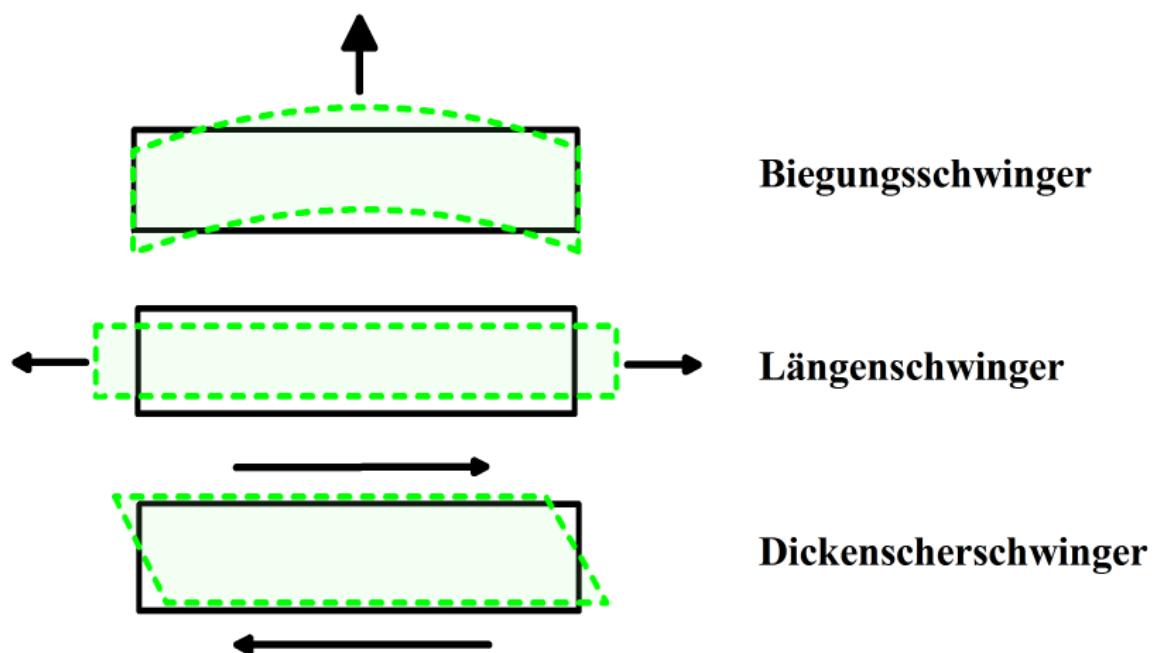


Abb. 7: Schwingungsarten bei einem Schwingquarz: Biegungsschwinger, Längenschwinger und Dickenschwinger

Zum besseren Verständnis des Schwingquarzes im Oszillatorkreis wird dieser im Butterworth van Dyke-Modell mittels resistiver, kapazitiver und induktiver elektrischen Bauteilen beschrieben. Dabei wird die mechanische Elastizität des Quarzes als C_q und die schwingende Masse als L_q dargestellt. Der Widerstand R_q gibt den Einfluss der Viskosität des umgebenden Fluids, der Dämpfung der Elektroden und der Materialeigenschaften des Quarzes wieder. Die Kapazität, welche durch die Zuleitungen und die Anschlussstellen entstehen, wird als C_0 beschrieben und entspricht der statischen Kapazität.

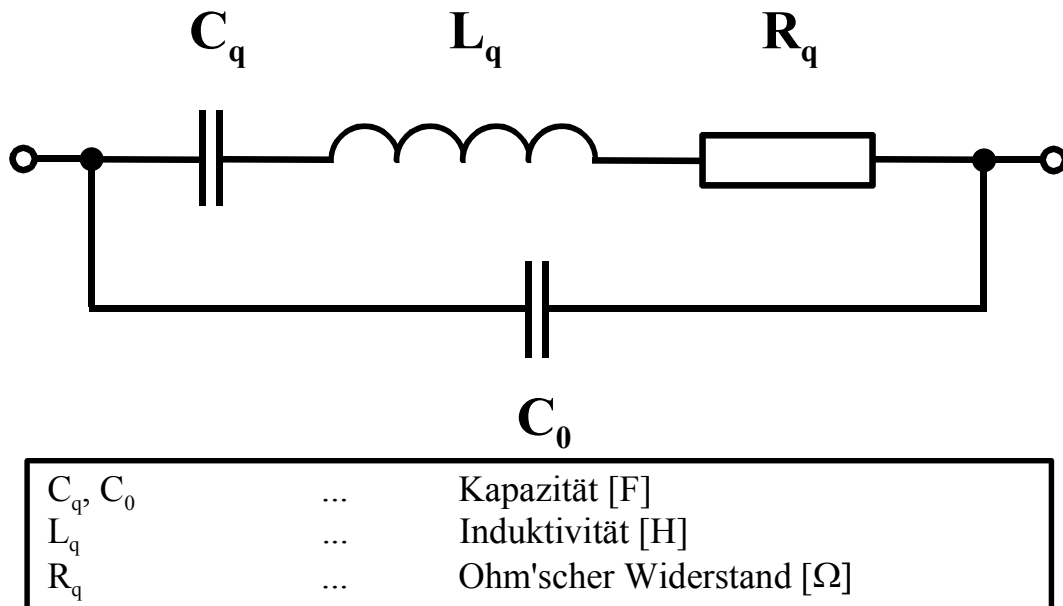


Abb. 8: Butterworth van Dyke Modell

Wird das Ersatzschaltbild betrachtet und wird der Grenzfall angenommen, dass der Widerstand R_q gegen Null geht und so vernachlässigbar klein wird, können zwei Resonanzen beobachtet werden: eine parallele (f_p) und eine serielle (f_s) Resonanzfrequenz. Diese können mittels folgenden Gleichungen beschrieben werden²¹:

$$f_p = \frac{1}{2 \cdot \pi \sqrt{L_q \cdot C_q}} \cdot \sqrt{1 + \frac{C_q}{C_0}} \quad \text{Gleichung 28}$$

$$f_s = \frac{1}{2 \cdot \pi \sqrt{L_q \cdot C_q}} \quad \text{Gleichung 29}$$

Um den Quarz als Mikrowaage zu verwenden, wird dabei die Eigenschaft der indirekt proportionalen Frequenzabhängigkeit zu dessen Dicke genutzt. Die Veränderung der Dicke kann nach G. Sauerbrey²² auch als eine Massenzunahme beschrieben werden, welche zum Beispiel durch das Einlagern von Molekülen in eine Sensorschicht auftritt. Daher kann die Frequenzerniedrigung durch die Massenbeladung mittels der Sauerbrey-Gleichung, welche auf der nächsten Seite dargestellt ist, beschrieben werden:

$$\frac{\Delta f}{f_0} = -\frac{\Delta d}{d_0} = -\frac{\Delta m}{\rho \cdot A \cdot d}$$

Gleichung 30

wobei

Δf	...	Frequenzänderung [Hz]
f_0	...	Grundfrequenz [Hz]
d_0	...	Dicke des Quarzes [m]
Δd	...	Dicke der Massenbeladung [m]
Δm	...	angelagerte Masse [g]
ρ	...	Dichte [g cm^{-3}] (Quarz: $\rho = 2,2658 \text{ g cm}^{-3}$)
A	...	Elektrodenfläche [m^2]
d	...	Gesamtdicke des Quarzes mit Massenbeladung [m]

darstellt.

Wird diese Gleichung unter der Berücksichtigung, dass die Dicke des Quarzes als

$$d = \frac{N}{f_0}$$

Gleichung 31

definiert ist, wobei

f_0	...	Grundfrequenz [Hz]
d	...	Dicke des Quarzes [m]
N	...	Frequenzkonstante [Hz m] (für AT-Quarz: $N=1670 \text{ Hz m}$)

darstellt, umgeformt, so wird für die oben genannten Gleichungen folgender, nach Δf aufgelösten, Ausdruck formuliert:

$$\Delta f = -2 \cdot f_0^2 \cdot \frac{\Delta m}{\rho \cdot A \cdot c} = -f_0^2 \cdot \frac{\Delta m}{\rho \cdot A \cdot N}$$

Gleichung 32

Durch den Einfluss des Fluids auf das Schwingverhalten des Quarzes und dem damit verbundenen Ausbreiten der Scherwellen in Flüssigkeit, müssen die Eigenschaften des umgebenden Mediums in die Berechnung mit eingehen. Daher wurde in den 80iger Jahren durch Kanazawa²³ die Sauerbrey-Gleichung mit folgendem Term erweitert:

$$\Delta f = -f_0^{\frac{3}{2}} \cdot \sqrt{\frac{\eta_L \cdot \rho_L}{\pi \cdot \rho_Q \cdot \mu_Q}}$$

Gleichung 33

wobei

Δf	...	Frequenzänderung [Hz]
f_0	...	Grundfrequenz [Hz]
η_L	...	Viskosität der Lösung [$\text{g m}^{-1} \text{s}^{-1}$]
ρ_L	...	Dichte der Lösung [g cm^{-3}]
ρ_Q	...	Dichte des Quarzes [g cm^{-3}] (Quarz: $\rho = 2,2658 \text{ g cm}^{-3}$)
μ_Q	...	Schermodul des Quarzes [$\text{g m}^{-1} \text{s}^{-2}$] (Quarz: $\mu = 2,947 \text{ g cm}^{-1} \text{s}^{-2}$)

darstellt.

Durch Verwendung von geeigneten Messapparaturen und der Optimierung von veränderlichen experimentellen Parametern (zum Beispiel: Pumpgeschwindigkeit, Elektrodengeometrie, Temperatur, Auswahl des Fluids und dessen Ionenstärke) können die Einflüsse auf ein Minimum reduziert werden. Dadurch ist die Quarzmikrowaage, in Verbindung mit molekular geprägten Schichten, eine schnelle und günstige Methode zur Detektion von Masseänderungen, welche aufgrund der Ein- beziehungsweise Anlagerung von Analytmolekülen eintritt.²⁴

2.4. Molekulares Prägen (*molecular imprinting*)

Für die Erkennung und Detektion eines Analytmoleküls ist es notwendig eine exakte Abbildung der Struktur seiner Oberfläche und/oder mögliche Bindungs- beziehungsweise Wechselwirkungsstellen des Analyten zu generieren. Dazu wird eine Schicht benötigt die selektiv, mit einer geringen Kreuzselektivität den Analyten aus dem Probenmedium extrahiert und am jeweiligen Transducer aufkonzentriert. Des Weiteren muss die Schicht eine hohe Stabilität, eine hohe Reliabilität und nach Möglichkeit eine vollständige Reversibilität besitzen. Die ersten Versuche zum Erstellen eines Abdruckes eines Analytmoleküls unternahm 1930 Polyakov mittels einer Silikonmatrix als prägbare Schicht. Durch ihn wurde der Begriff des molekularen Prägens geboren.^{25,26}

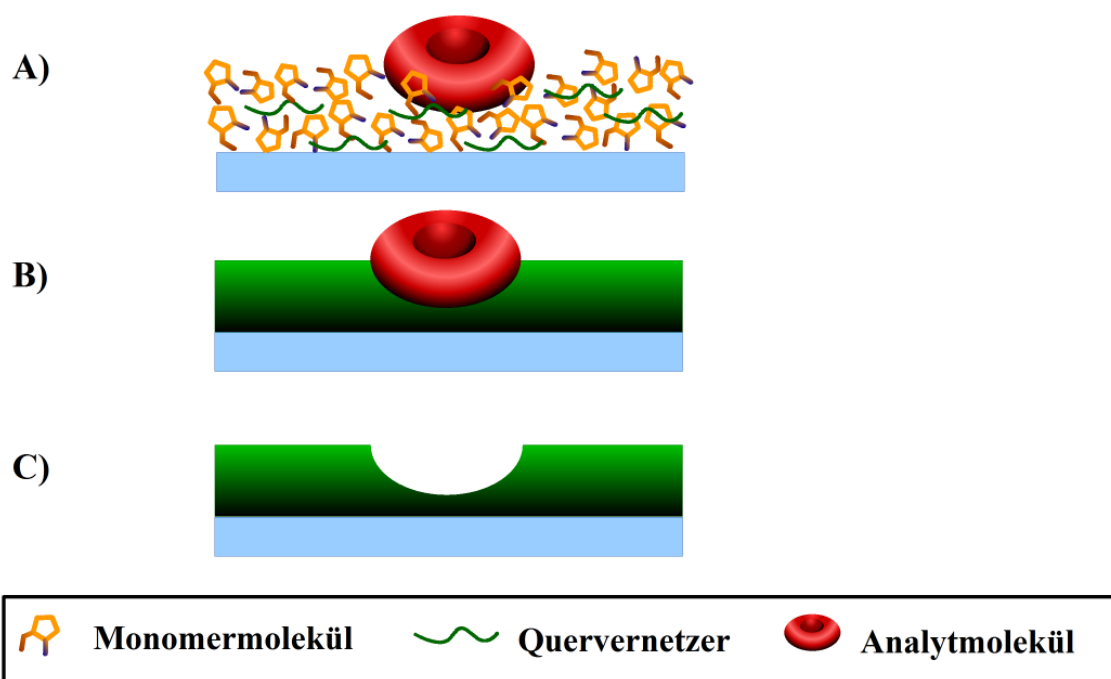


Abb. 9: Schematischer Ablauf des molekularen Prägens: Templat wird mit einem Präpolymer aus Monomermolekülen und Quervernetzer in Kontakt gebracht (**A**) und ausgehärtet (**B**). Nach dem Herauslösen des Templats bleibt eine Kavität mit einem Abdruck der Oberfläche inklusiv den chemischen Bindungsstellen zurück (**C**).

Beim molekularen Prägen werden Strukturen, welche für die Bindung und Fixierung von Molekülen, Proteinen und Biopartikeln, wie Zellen und Viren, notwendig sind, in eine feste und stabile Polymerschicht abgebildet. Durch das Beibehalten der räumlichen Anordnung und der Struktur aller Wechselwirkungsstellen der zu detektierenden Verbindung im Polymer, kann die Schicht den gewünschten Analyten selektiv binden. Zur Herstellung ist es notwendig, dass die Polymere bei der Synthese beziehungsweise beim Aushärten mit dem Targetmolekül in

Wechselwirkung gebracht werden. Dies erfolgt durch das Auftragen oder Einbringen des Analyten auf/in das Präpolymer. Dabei ordnen sich die Monomere um die Bindungsstellen des Analytmoleküls und ermöglichen es so eine Kopie der Oberfläche bei der vollständigen Polymerisation zu erhalten. Der schematische Ablauf der Herstellung solcher Polymerschichten ist in Abb. 9 dargestellt.²⁷

Durch Wechselwirkungen zwischen den Monomermolekülen und der jeweiligen Templatkomponente entsteht ein Präpolymerisationskomplex, welcher durch Wasserstoff-Brücken, π - π -Wechselwirkungen, ionischen und hydrophob-hydrophil Interaktionen stabilisiert wird. Nach vollständiger Polymerisation wird das Templat durch einen entsprechenden Reinigungsschritt (geeignete Lösungsmitteln oder durch Erhitzen) herausgelöst, aus dem Polymer entfernt und Kavitäten mit Wechselwirkungs- und Bindungsstellen bleiben in der Schicht zurück. In diesen Kavitäten können nun beim Messprozess die Analytmoleküle angereichert werden. Dabei erfolgt die Einlagerung nach dem *Host-Guest-Prinzip* durch die oben beschriebenen Wechselwirkungskräfte. Bei der Extraktion können die gewünschten Analyte selektiv eingelagert und mittels Waschschrift wieder aus der Polymerschicht entfernt werden. Spezielle Spülschritte können durch Änderung der Umgebungsbedingungen, wie der Verwendung von anderen Lösungsmitteln oder dem Zugabe von Enzymen, auch stark gebundene Verbindungen wieder aus der Sensorschicht lösen und ermöglichen so reversible Anreicherung des Analyten in die Polymerschicht.^{28,29}

2.5. Atomkraftmikroskopie

Die Atomkraftmikroskopie (AFM) stellt heutzutage eine effiziente und vor allem schnelle Methode zur Bestimmung von Oberflächenstrukturen und Oberflächeneigenschaften unter Normalbedingungen, im Gegensatz zur Rastertunnelmikroskopie, dar.^{30,31,32} Ein AFM-Gerät ist aus einem Probenkopf mit Piezoscanner, einer Detektorvorrichtung mit Cantileverhalterung, einer Lichtmikroskopoptik, einem *feed-back-controller* und einem Computer mit Auswertesoftware aufgebaut. Die Detektorvorrichtung besitzt einen Laser, welcher auf die Cantileverspitze fokussiert werden kann, und eine Vierzellen-Photodiode, welche das reflektierte Laserlicht detektiert. Der Cantilever ist ein flexibler Metallhebelarm, an dessen Unterseite die Messspitze befestigt ist. Je nach Anwendungsgebiet und Probenoberfläche können die Cantilever unterschiedlich aufgebaut sein. In Abb. 10 ist der bei den Messungen verwendete Cantilever mit Spitze abgebildet. Diese wurden von der Firma Veeco in Frankreich hergestellt.

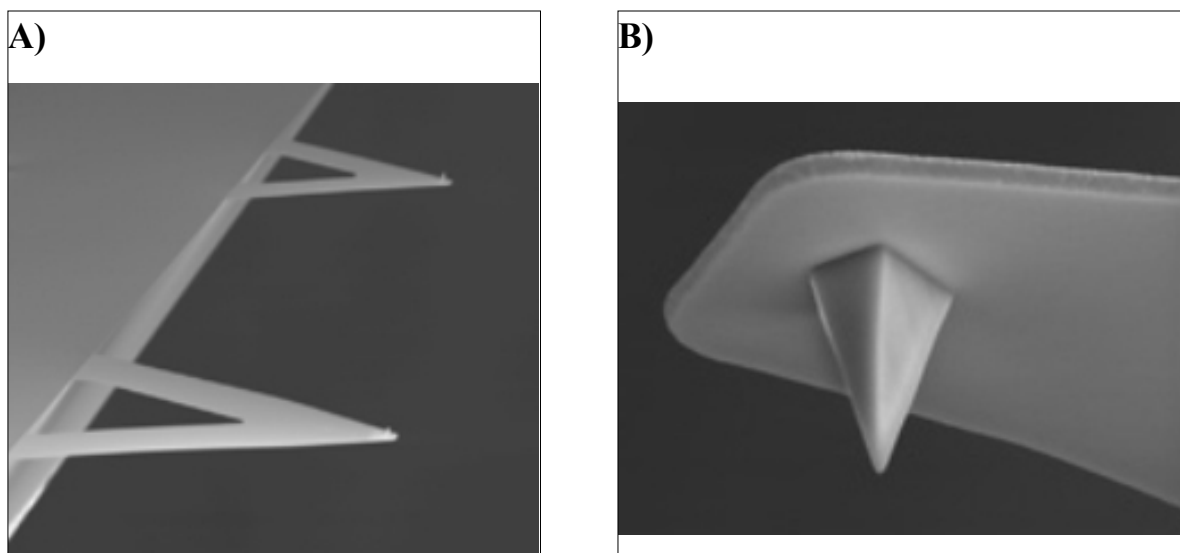


Abb. 10: AFM-Cantilever mit Silicium-Nitrid-Spitze: **A:** Cantilever auf einem Substrat befestigt und mit Gold beschichteter Rückenseite; **B:** Spitze am Cantilever aus Silicium-Nitrid (Quelle: <http://www.brukerafmprobes.com/> Stand: 14.01.2011)

Bei der Messung der Oberfläche wird der Cantilever über die Probenfläche bewegt und die Kraft zwischen der Spitze und der Oberfläche gemessen. Durch diese Krafteinwirkung wird der Cantilever gekrümmt, wobei die Stärke der Verbiegung proportional der wirkenden Kraft ist. Dieser Zusammenhang wird über das Hooksche Gesetz beschrieben und kann durch folgende Gleichung ausgedrückt werden:

$$F = -k \cdot x$$

Gleichung 34

wobei

F	...	Kraft [N]
k	...	Kraftkonstante [N m ⁻¹]
x	...	Abstandsänderung [m]

darstellt.

Wird nun der Cantilever verbogen, wird auch der auf diesen fokussierte Laserstrahl anders reflektiert. Je nach Veränderung der Krümmung wird der Laser mit einer anderen Intensität auf die Vierzellen-Photodiode auftreffen. Das erhaltene Signal kann mittels Software als Bild dargestellt werden. Mithilfe der Atomkraftmikroskopie können so Oberflächenstrukturen und ein- und angelagerte Zellen, Bakterien und Partikeln in beziehungsweise auf dem Polymer beobachtet und die Dicke der Polymerschicht bestimmt werden.^{33,34}

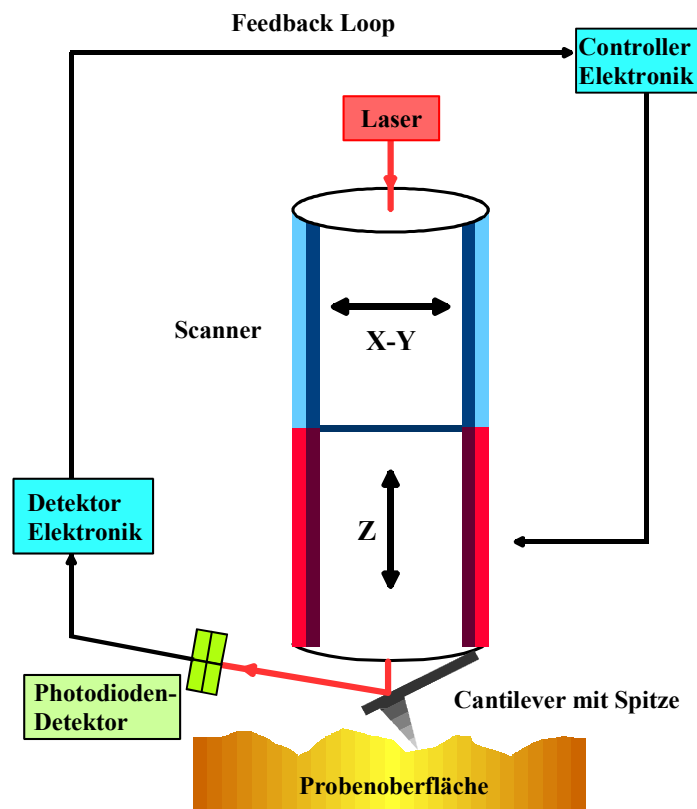


Abb. 11: Schematische Darstellung eines Atomkraftmikroskops mit einem 4-Segment-Photodetektor (Quelle: Jenik, M; AFM und Sensoruntersuchungen an strukturierten Oberflächen; Wien 2008, 87)

2.6. Blut

2.6.1. Der menschliche Blutkreislauf

Mit einer Länge von ungefähr 96000 km stellt der menschliche Blutkreislauf das größte Transportsystem des Körpers dar. Dieses ist notwendig um die Organe des Menschen mit Sauerstoff und Nährstoffen zu versorgen und Abfallprodukte, Schadstoffe und das gebildete Kohlendioxid abzutransportieren. Unterteilt wird der Blutkreislauf in einen Lungenkreislauf, in dem der Gasaustausch mit der Umgebung über die Lunge erfolgt, und in einen Körperkreislauf, der zur Versorgung der Zellen dient. Den wichtigsten Bestandteil stellt das Herz dar, welches für die Zirkulation verantwortlich ist. Dazu werden rund fünf Liter Blut im menschlichen Körper zirka 1500-mal pro Tag durchgepumpt. Die Blutgefäße werden in Arterien, Gefäße welche vom Herz wegführen, und in Venen, Gefäße welche zum Herzen führen, eingeteilt. In der Abb. 12 ist der Blutkreislauf schematisch dargestellt.^{35,36}

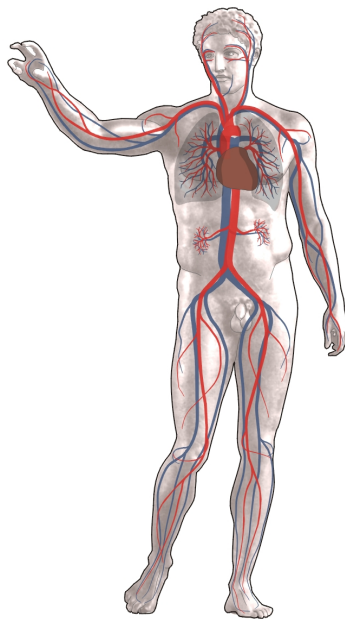


Abb. 12: Schematische Darstellung des menschlichen Blutkreislaufs (Quelle: <http://de.wikipedia.org/wiki/Blutkreislauf> Stand: 22.12.2010)

Im Lungenkreislauf erfolgt der Gasaustausch also die Aufnahme von Sauerstoff und die Abgabe des Kohlendioxides. In den Lungenbläschen werden die Erythrozyten mit Sauerstoff beladen, während Kohlendioxid-Moleküle durch die Zellmembran in die Lunge diffundieren. Die Sauerstoffaufnahme in der Lunge wird als Oxygenierung und die Sauerstoffabgabe in den Zellen wird als Desoxygenierung bezeichnet. Durch das in den Erythrozyten vorhandene Hämoglobin

wird der Sauerstoff an die Blutzellen gebunden. In Abb. 13 ist das Hämoglobin als 3D-Graphik dargestellt. Die Ausscheidung des Kohlendioxides erfolgt mittels der Carboanhydrase. Bei dieser enzymkatalytischen Reaktion wird das Kohlendioxid zu Kohlensäure umgewandelt und das Hydrogencarbonat-Anion diffundiert anschließend in das Plasma der Erythrozyten. Als Ausgleich tritt dabei Chlorid von den Zellen in das Blutplasma aus (Haldane Effekt oder Hamburger Shift).^{37,38}

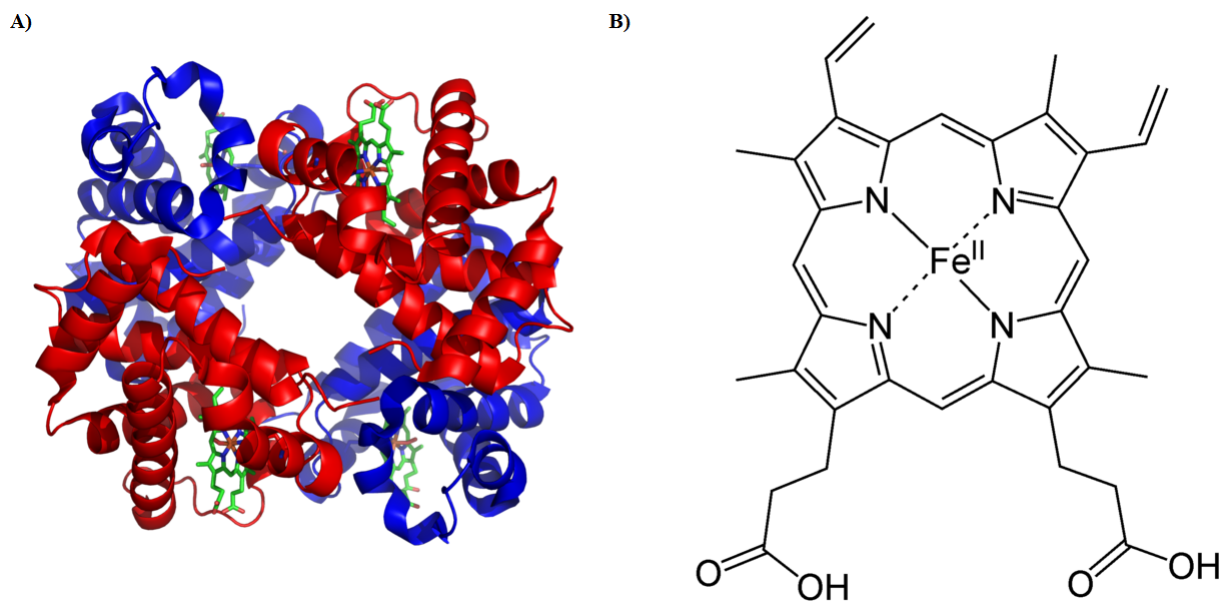


Abb. 13: **A:** dreidimensionale Darstellung des Hämoglobin: Untereinheiten α (rot) und β (blau) und die prosthetischen Gruppen Häm im Stäbchenmodell (grün); **B:** Strukturformel des Protoporphyrin IX mit einem Eisen(II)-Ion als Zentralatom (Quelle: <http://de.wikipedia.org/wiki/Hämoglobin> Stand: 22.12.2010)

Hämoglobin ist aus vier Untereinheiten aufgebaut, wobei jede ein Häm als prostetische Gruppe und einen Proteinanteil, dem Globulin, besitzt. Diese Untereinheiten bilden mit einem Eisen(II)-Zentralatom einen Komplex. Dabei wird zwischen dem Eisen(II)-Ion und der Stickstoffgruppe des Porphyrin-Ringes eine koordinative Bindung ausgebildet. Zur Stabilisierung wird dazu noch eine axial koordinative Bindung zwischen der Histidin-Gruppe des Proteinteils und dem Zentralatom eingegangen. Da sich das Eisen(II)-Ion in einem high-spin Zustand befinden, ist es daher zu groß um genau in die Tasche des Protoporphyrins IX zu passen und platziert sich auf der Unterseite, wodurch für den Sauerstoff auf der zweiten axialen Position auf der Oberseite Platz für die Anbindung zur Verfügung steht. So ist es möglich, dass jedes Hämoglobin-Molekül bis zu vier Sauerstoffatome an sich binden kann. In der Abb. 13 ist rechts die Strukturformel des Protoporphyrins IX mit eingebauten Eisen(II)-Ion dargestellt.

Wird die Bindungsstelle des Hämoglobins mit einem Sauerstoff besetzt, spricht man von der R-Form (R für *relaxed*, oxygeniert), ist die Bindungsstelle unbesetzt, so wird dieser Zustand als T-Form (T für *tense*, nicht oxygeniert) bezeichnet. Dabei ist die R-Form wesentlich sauerstoffaffiner als die T-Form. Dieses ist auf die Position des Eisen(II)-Iones zurückzuführen. In der unbeladenen Form, liegt dieses, wie bereits oben erwähnt, nicht genau im Protoporphyrin-IX-Ring, sondern etwas darunter. Wird nun ein Sauerstoff gebunden, wird das Eisen(II)-Ion in den Ring hinein gezogen und bewirkt so eine günstigere räumliche Anordnung für die Bindung weiterer Sauerstoffatome an den anderen drei Bindungsstellen.³⁹

2.6.2. Zusammensetzung des Blutes⁴⁰

Das menschliche Blut liegt als Suspension von Blutplasma und zellulären Bestandteilen vor. Dabei macht das Blutplasma einen Volumenanteil von 55 vol% aus und 45 vol% sind Zellen. Im Plasma sind Elektrolyte, vor allem gelöste Salze, und niedermolekulare Verbindungen enthalten. Diese sind unter anderem Harnsäure, Glukose, Kreatin, Cholesterin, Pyruvat, Citrat und Laktat. Das Blut besitzt einen pH-Wert von zirka 7,4, welcher durch ein Bicarbonat-, Phosphat- und Proteinpuffersystem konstant gehalten wird. Eine kurze Übersicht über die Inhaltsstoffe des Blutplasmas ist in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3: Bestandteile des Blutplasmas (Ausschnitt)

chemische Bestandteile		Elektrolyte	
Substanz	Konzentration	Ion	Konzentration
	[mmol/l]		[mmol/l]
Glukose	4,5 – 5,5	Na ⁺	136 – 146
Stickstoff als Harnstoff	3,5 – 7,0	K ⁺	3,8 – 5,2
Stickstoff als Aminosäuren	3,0 – 5,0	Ca ²⁺	2,3 – 2,7
Kreatin	0,025 – 0,070	Mg ²⁺	0,8 – 1,2
Harnsäure	0,15 – 0,40	Cl ⁻	96 – 106
Cholesterin (gesamt)	4,0 – 6,5	HCO ₃ ⁻	24 – 28
organische Säuren	4,0 – 6,0	PO ₄ ³⁻	1,0 – 1,4
Laktat	1,0 – 2,0		
Pyruvat	0,1 – 0,2		
Citrat	0,1 – 0,2		
	[g/l]		
Plasmaproteine	60 – 80		
Lipide	4,5 – 8,5		

Die Versorgung des Körpers mit Nährstoffen, Mineralien, Wasser und die Regulation der Körpertemperatur wird hauptsächlich vom Blutplasma übernommen, während der zelluläre Bestandteil für den Sauerstoff- und Kohlendioxidtransport, die Immunantwort und die Blutgerinnung verantwortlich ist. Dazu gibt es im menschlichen Körper drei verschiedene Zellenarten: die Erythrozyten (rote Blutkörperchen), die Leukozyten (weiße Blutkörperchen) und die Thrombozyten (Blutplättchen). In der Abb. 14 sind diese unterschiedlichen Zellen abgebildet, wobei auch der Größenunterschied ersichtlich ist. Die kleinsten Zellen sind hierbei die Thrombozyten mit einem Durchmesser von unter 3 μm . Die Thrombozyten sind für die Blutgerinnung verantwortlich und helfen dem Körper beim Verschließen von Verletzungen. Die Leukozyten mit einer Größe zwischen 6 und 20 μm sind für die Immunantwort des Körpers zuständig. Sie lassen sich nochmals in Granulozyten, Leukozyten für die unspezifische Immunantwort, in Lymphozyten, Leukozyten für die spezifische Immunantwort, und in die Monozyten, Leukozyten mit erworbener Immunantwort, einteilen. Die Erythrozyten, die roten Blutkörperchen, haben eine Größe von 7 bis 10 μm und eine Dicke von etwa 2 μm und sind im Körper, wie bereits oben beschrieben, für den Sauerstoff- und Kohlendioxidtransport zuständig.

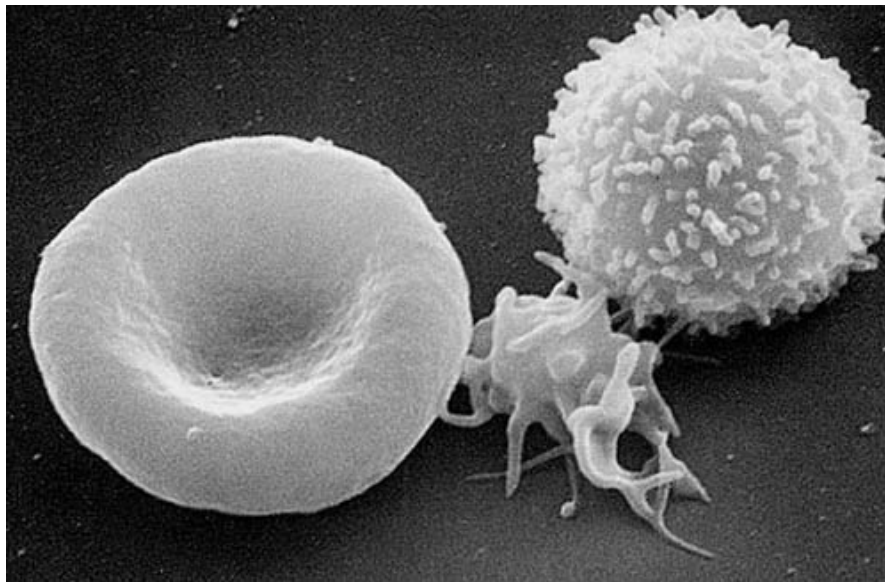


Abb. 14: Erythrozyt (links), Thrombozyt (mitte) und Leukozyt (rechts) unter dem Rasterelektronenmikroskop (Quelle: http://en.wikipedia.org/wiki/Red_blood_cell Stand: 12.12.2010)

2.6.3. Erythrozyten^{41 42 43}

Erythrozyten werden aufgrund ihrer roten Farbe auch „rote Blutkörperchen“ genannt, wobei die Farbe vom Blutfarbstoff Hämoglobin, welcher 90% der Trockenmasse der Erythrozyten ausmacht, kommt. Diese hohe Konzentration ist notwendig, da die roten Blutkörperchen hauptsächlich für den Sauerstofftransport zuständig sind. Die Erythrozyten werden im roten Knochenmark gebildet und in der Milz zwischengespeichert bevor sie ihre Arbeit im Blutkreislauf aufnehmen. Während der Reifung der Zellen werden deren Zellkerne, aber auch alle Organellen, verworfen. Die Produktion der Erythrozyten beansprucht rund 7 Tage, wobei sie in den letzten Tagen als Retikulozyten bezeichnet werden und in dieser Zeit noch Zellorganellenreste und eine RNA besitzen. Die Konzentration von Erythrozyten im Blut beträgt zwischen 4,0 und 6,5 Millionen pro mm³ und ergibt somit eine Gesamtanzahl von 20 bis 30 Billionen Erythrozyten im Körper, wobei Frauen eine höhere Konzentration besitzen als Männer. Die Zellen haben eine durchschnittliche Lebensdauer von 130 Tagen und werden danach von Phagozyten, unter anderem in der Leber, abgebaut. Im menschlichen Körper werden pro Tag etwa ein Prozent der Blutzellen erneuert, was einer Anzahl von etwa 250 Milliarden Zellen entspricht.

Tabelle 4: Auflistung einer Auswahl an Lipidbestandteile der Erythrozytenmembran⁴⁴

Lipid-Bestandteil	Anteil am Gesamtlipid
	[%]
Cholesterol	25,3
Cholesterylester und Glyceride	3,5
Glykospingolipide	10,5
Lecithin	17,4
Sphingomyelin	15,6
Phosphatidylethanolamin	17,2
Phosphatidylserin	8,1
Phosphatidsäure	0,4
Phosphatidylinositol	0,8
Polyglycerolphospholipide	0,4
Lysolecithin	0,6

Die Erythrozyten zeichnen sich durch ihre außergewöhnliche Flexibilität aus, welche notwendig ist, um auch in die dünnsten Kapillaren vorzustößen und die anderen Zellen mit Sauerstoff zu versorgen. Das Zytoskelett der Erythrozyten wird aus einem Netz von Spektrin und Aktin

aufgebaut und verleiht so eine große Stabilität bei gleichzeitiger hoher Verformbarkeit, welche durch ihre bikonkave Form noch verstärkt wird. So sind die Zellen am Rand rund 2 µm und in der Mitte nur 1 µm dick und haben einen Durchmesser von 7 µm. Die Membranoberfläche der Erythrozyten kann bis zu 0,2 mm² groß sein und ist aus einer Doppelschicht, welche aus einer inneren und einer äußeren Lipidschicht besteht, aufgebaut. Die äußere Schicht ist hauptsächlich aus Lecithin und Sphingomyelin aufgebaut, während die inner Schicht überwiegend aus Phosphatidylethanolamin und Phosphatidylserin besteht. In Tabelle 4 sind die wichtigsten Lipidbestandteile der Erythrozytenmembran zusammengefasst.

In und auf dieser Membran sind eine hohe Anzahl an Antigenen, Glykokonjugaten und Proteinen angesiedelt und eingebaut. Diese sind für den Transport von Elektrolyten (wie Natrium-, Kalium- und Chlorid-Ionen) und von Plasma-Bestandteilen in und aus den Blutzellen verantwortlich. In Tabelle 5 ist eine kleine Übersicht über verschiedene Transportmechanismen durch die Erythrozytenzellmembran zusammengestellt. Dabei dienen die Anionen-Austauscher-1-Proteine für den Transport von Hydrogencarbonat- und Chlorid-Ionen und die Natrium-Kalium-ATPase für den Transport von Natrium- und Kaliumionen in und aus der Blutzelle. Vor allem Transporter für den Austausch von Ionen sind für die Formstabilität der Zelle notwendig, damit der Ionenhaushalt in der Zelle konstant gehalten werden kann und so osmotische Differenzen mit dem Umgebungsmedium ausgeglichen werden können.

Tabelle 5: Verschiedene Transportmechanismen in der Erythrozytenmembran⁴⁵

Protein/Transporter	Targetmolekül
Anionen-Austauscher 1 (auch Bande 3)	HCO ₃ ⁻ , Cl ⁻
GLUT-1	Glucose; Pentose; Hexose und Ascorbinsäure
Natrium-Kalium-ATPase	Na ⁺ , K ⁺
Calzium-ATPase	Ca ²⁺

Besonders wichtig ist der richtige osmotische Druck in der Lösung, damit die Blutzellen ihre bikonkave Form beibehalten. Bei zu hohen oder zu niedrigen Elektrolytkonzentrationen verändern die Zellen ihre Form und bei großen Unterschieden führt dieses zum Platzen der Erythrozyten. In Abb. 15 ist das Verhalten der Zellen in einem hypertonen, isotonischen und hypotonischen Lösungsmittel dargestellt. Besitzt die umgebende Lösung einen höheren Elektrolytanteil (hypertonisch) so strömt Wasser aus der Zelle heraus und die Zelle wird entleert und fällt zusammen. Bei einer zu niedrigen Konzentration an Elektrolyten (hypotonisch) wird

Wasser in die Zelle eingebracht und diese blht sich auf, was bis zum Platzen der Zelle führen kann. Nur bei einer isotonischen Umgebungsbedingung, ist der Wassereintritt gleich dem Wasseraustritt aus der Zelle und die bikonkave Form bleibt erhalten. Solche Bedingungen sind beispielsweise bei einer Na^+ - und Cl^- -Konzentration von 154 mmol/l (entspricht einer isotonischen Kochsalzlösung) gegeben.

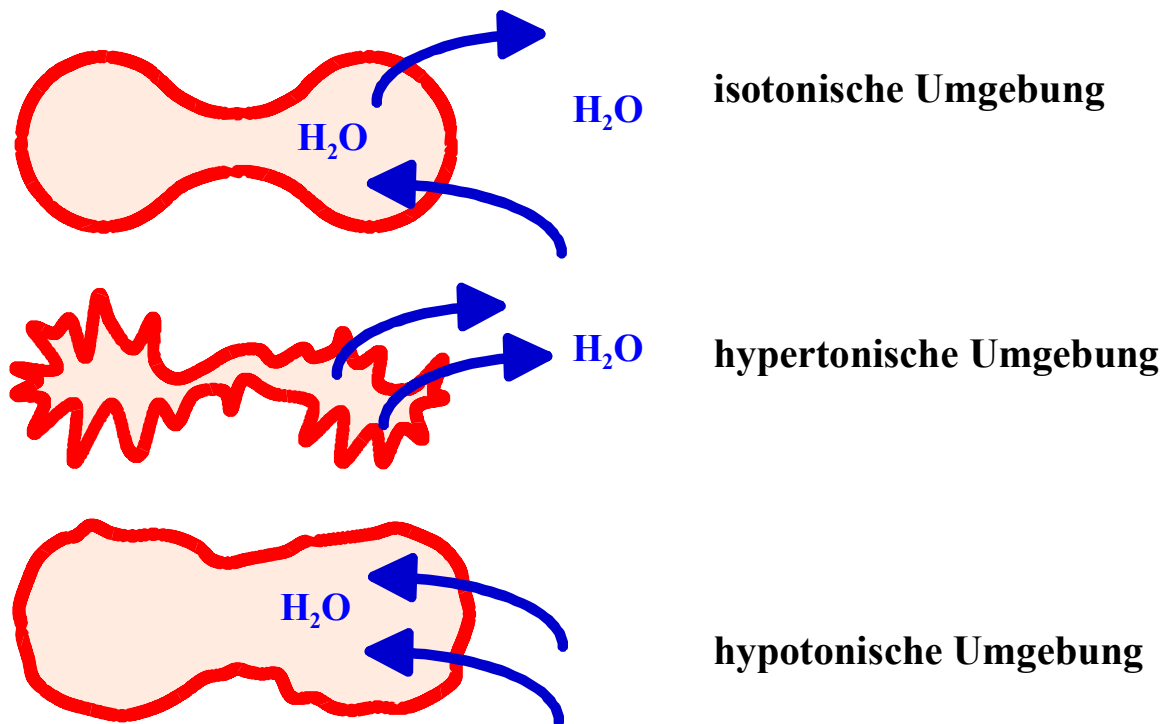


Abb. 15: Darstellung des Verhaltens von Erythrozyten bei unterschiedlichen osmotischen Bedingungen

Abgesehen von den Transportmechanismen ist die Zellmembran auch Träger von Antigenen, welche eine besondere Rolle einnehmen. Durch unterschiedliche Antigen-Antikörper-Reaktionen war es möglich die Erythrozyten zu differenzieren und führte so zur Entdeckung und Klassifizierung des menschlichen Blutes in verschiedene Blutgruppen.

2.6.4. Die Blutgruppen

Die Entdeckung der Blutgruppen erfolgte im Jahr 1901 durch Karl Landsteiner⁴⁶, mit der Unterteilung der Blutgruppen in ein AB0-System, damit verbunden entwickelte sich eine neue wissenschaftliche Lehre: die Blutgruppenserologie. Diese beschäftigt sich mit der Reaktion von Antigenen und Antikörpern im Humanblut. Bis heute sind in etwa 550 erythrozytäre Antigene entdeckt worden, wobei nur ein Bruchteil dieser für die Transfusionsmedizin relevant ist.

Die Unterteilung der Blutgruppenantigene erfolgt in Systeme, in Kollektionen und in Serien. Systeme sind Antigene welche über ihre spezifischen Allele an einem bestimmten Genlocus definiert werden. Kollektionen werden über deren biochemische und genetische Basis unterteilt und Serien sind Antigengruppen, die weder zu einem System noch zu einer Kollektion zugeordnet werden können. Bei den verschiedenen Blutgruppensystemen gibt es keine einheitliche Terminologie, da diese meist durch deren Entdecker benannt und unterteilt worden sind.

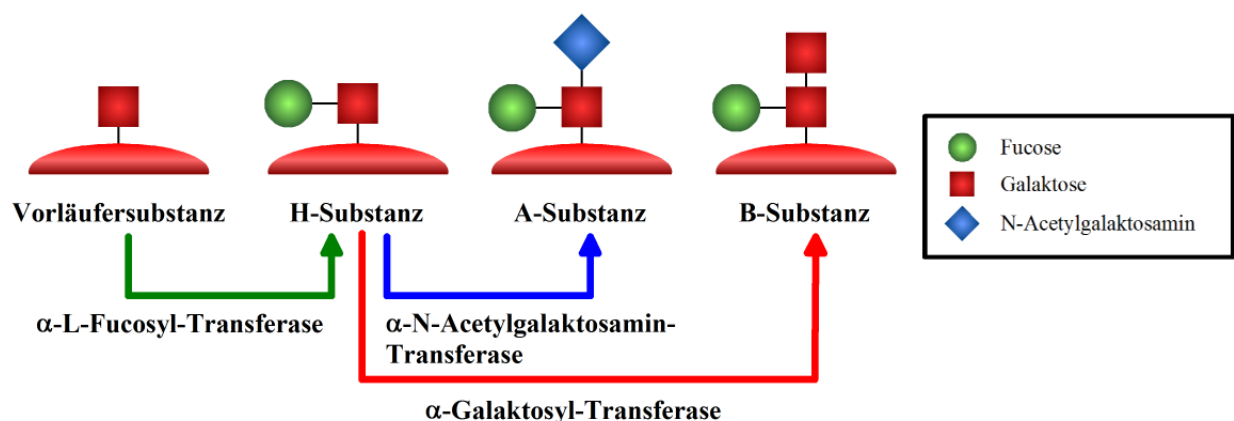


Abb. 16: Schematische Darstellung der Bildung der H-, A- und B-Substanz auf einer Erythrozytenoberfläche

In der heutigen Transfusionsmedizin wird das AB0-System verwendet. Dabei werden die Antigene in A-Antigene, B-Antigene und H-Antigene aufgeteilt. Die Erythrozyten werden nun nach deren auf der Membran befindlichen Antigenen unterschieden: Jene die A-Antigene besitzen, jene die B-Antigene besitzen, jene die beide Antigene besitzen und jene die keine, beziehungsweise nur H-Antigene besitzen. Das H-Antigen stellt dabei das Grundsystem dar und wird aus einer Vorläufersubstanz mittels α -L-Fucosyl-Transferase hergestellt. Dabei wird an eine Galaktose-Gruppe an der Zellmembran eine Fucose-Gruppe angehängt. Für die Bildung der A-Antigene wird an das H-System durch eine α -N-Acetylgalaktosamin-Transferase eine N-

Acetylgalaktosamin-Gruppe angebracht und stellt so die Blutgruppe A dar. Für die Herstellung der B-Antigen-Struktur wird mittels α -Galaktosyl-Transferase eine weitere Galaktose an das H-System angehängt und entspricht der Blutgruppe B. Diese Schritte sind in Abb. 16 schematisch dargestellt. Werden sowohl A- als auch B-Antigene auf den Erythrozyten gebildet, spricht man von der Blutgruppe AB und wenn an die H-Substanz keine weiteren Gruppen angehängt werden, spricht man von der Blutgruppe 0. Damit differenzieren sich die AB0-Determinanten nur durch deren unterschiedliche terminale Zuckermoleküle. Die Informationen, welche für die Ausbildung und damit für die Herstellung verantwortlich sind, besitzen die Allele am AB0-Locus.^{47,48,49}

Im AB0-System kann man auch noch zwischen Subgruppen unterscheiden, welche sich hauptsächlich durch deren unterschiedlichen Antigen-Aktivitäten klassifizieren lassen. So sind die A-Subblutgruppen A₁ und A₂ durch deren unterschiedliche Anzahl an Antigenen auf der Erythrozytenoberfläche zu differenzieren. Die Subblutgruppe A₁ besitzt in etwa eine zwei- bis dreifach höhere A-Antigenkonzentration auf einer Blutzelle als die Subgruppe A₂. Auch die beiden Subgruppen A₁B und A₂B unterscheiden sich durch deren unterschiedliche A-Antigenzahl, wie in der Tabelle 6 ersichtlich ist.^{50,51}

Tabelle 6: Antigenanzahl pro Erythrozyt bei den unterschiedlichen Blutgruppen und Subblutgruppen des Menschen⁵²

Blutgruppe	A-Antigene/Zelle	B-Antigene/Zelle	H-Antigene/Zelle
A ₁	810 000 – 1 700 000	-	70 000 – 170 000
A ₂	160 000 – 440 000	-	anti-H-Aktivität
B	-	610 000 – 830 000	400 000 – 470 000
0	-	-	1 600 000 – 1 900 000
A ₁ B	420 000 – 850 000	310 000 – 560 000	-
A ₂ B	120 000	310 000 – 560 000	-

Die Subblutgruppen A₁ und A₂ stellen jedoch für die Transfusionsmedizin keine relevante Gefahr dar, da die Antigenanzahl auf den Blutzellen keine transfusionsmedizinischen Einflüsse auf die Gesundheit und auf die Abwehrantwort des menschlichen Körpers besitzen. Bei der Bluttransfusion ist es auch in Notsituationen möglich Blut mit einer anderen Blutgruppe den Patienten zu verabreichen, wobei hier die Blutgruppe 0, welche nur H-Antigene besitzt, als Universalspender und die Blutgruppe AB, welche sowohl A- als auch B-Antigene besitzt, als

Universalempfänger gilt. Ein Schema darüber ist in Abb. 17 abgebildet. Dieses wird in der Medizin jedoch, soweit es möglich ist, vermieden, da dieselben Blutgruppen eine bessere Verträglichkeit für den Transfusionspatienten aufweisen. Bei der Verabreichung einer falschen Blutgruppe kommt es zur Agglutination der Blutkörperchen und verursacht so eine Verstopfung der Blutgefäße und kann zum Tod führen.

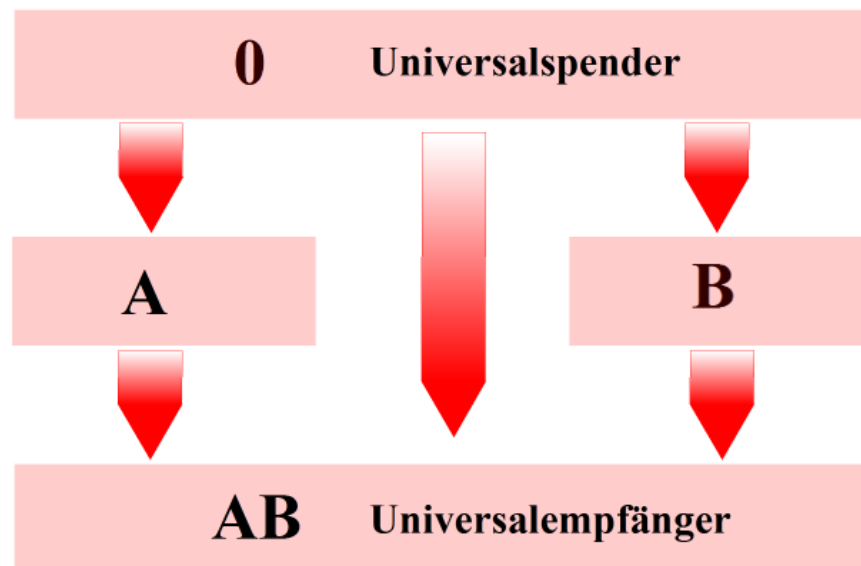


Abb. 17: Darstellung der Blutspendemöglichkeiten im AB0-System: Blutgruppe 0 ist Universalspender und kann von A, B und AB empfangen werden, jedoch selbst nur die Blutgruppe 0; Blutgruppe AB ist Universalempfänger und kann alle Blutgruppen erhalten; Blutgruppe A kann A und 0 und die Blutgruppe B kann B und 0 empfangen

Weiters ist bei der Transfusionsmedizin der Rhesusfaktor relevant. Dieser wurde von Karl Landsteiner und Alexander Solomon Wiener 1940 entdeckt und wird heutzutage meistens mit der AB0-Blutgruppe zusammen bestimmt und angegeben. Der Rhesusfaktor ist ein Protein auf der Zellmembran der Erythrozyten und besteht aus 417 Aminosäuren und wirkt im Körper beim Ammonium-Ionen- und Ammoniak-Transport mit. Vom Protein selbst gibt es verschiedene Strukturen, wobei das Rhesusfaktor-D-Antigen für die Bluttransfusion die wichtigste Rolle spielt. Besitzt das rote Blutkörperchen das Rhesusfaktor-D-Antigen auf seiner Oberfläche wird von Rhesus-positiv gesprochen. Ist kein D-Antigen auf der Oberfläche, wird es als Rhesus-negativ bezeichnet. Bei der Bluttransfusion können Rhesus-positive Patienten auch Rhesus-negative Blutkonserven erhalten, wobei dieses aufgrund der geringen Rhesus-negativ-Blutspender kaum erfolgt. Eine wichtige Rolle spielt der Rhesusfaktor bei der Schwangerschaft beziehungsweise der Geburt von Kindern, da es hierbei zu Komplikationen kommen kann, wenn der Rhesusfaktor vom Kind sich von dem der Mutter unterscheidet.^{53,54}

Neben dem AB0-System und dem Rhesus-System gibt es auch noch über 25 andere Blutgruppensysteme, welche von der Internationalen Gesellschaft für Bluttransfusion (ISBT) anerkannt und beschrieben werden. Eine kleine Auswahl von unterschiedlichen Systemen, deren Anzahl an Antigenen und die Lokalisierung am Locus sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

Tabelle 7: Übersicht über einige andere Blutgruppensysteme^{55,56}

ISBT #	Name des Systems	Anzahl der Antigene	Chromosom
001	AB0	4	9
002	MNS	46	4
004	Rhesus	46	1
006	Kell	34	7
010	Diego	21	17
012	Xg	2	X/Y
016	Landsteiner-Wiener	3	19
020	Gerbich	7	2
022	Knops	7	1
028	Globoside	3	3

Beim Kell-System (oder auch Kell-Cellano-System) sind 34 Antigene zusammengefasst und stellt eines der wichtigsten weiteren Blutgruppensysteme dar. Bei Bluttransfusionen wird auf das KEL1-Antigen getestet. Dabei wird auf K-positiv und K-negativ getestet. K-negative Personen sollten nur K-negatives Blut erhalten, da ansonsten der Körper eine Immunantwort liefert und es durch die entstehenden Antikörper zu einer hämolytischen Transfusionsreaktion kommt und das Blut, wie bei falscher Blutverabreichung im AB0-System, verklumpt und die Blutgefäße verstopft.

Das MNS-System stellt ein auf Glykoproteine basierendes Blutgruppensystem dar. Dabei wird in 46 unterschiedliche Antigene unterteilt, wobei die Antigene S und s für die Transfusionsmedizin wichtig sind. Die gegen die Antigene S und s gebildeten Antikörper Anti-S und Anti-s können zu schweren Komplikationen und bis zum Tod führen. Analog zu anderen falsch verabreichten Blutgruppen, kommt es zur Verstopfung der Blutgefäße und damit zur Unterversorgung von lebensnotwendigen Organen. Besonders bei der Schwangerschaft können hier Komplikationen auftreten.

3. Experimentelles

3.1. Reinigung und Vorbereitung der Blutproben

Für die Messung wurden Blutproben vom Österreichischen Roten Kreuz verwendet. Diese wurden von der Blutspendezentrale in Wien Wieden zur Verfügung gestellt und von dieser vorab mittels Antikörpertest auf die jeweilige Blutgruppe und auf Krankheitserreger überprüft. Die Blutproben wurden in Blutröhrchen im Kühlschrank aufbewahrt.



Abb. 18: Blutprobenröhrchen der sechs unterschiedlichen Blutgruppen (A_1 , A_2 , B, 0, A_1B und A_2B) der Wiener Blutspendezentrale. Um eine Blutgerinnung zu vermeiden sind die Proben mit EDTA versetzt worden.

Da die Proben Vollblutproben waren, das heißt, dass das Blut direkt von der Vene gezapft wurde und auch noch Blutplasmabestandteile, wie gelöste Mineralien und Nährstoffe beinhaltete, wurde vom Roten Kreuz EDTA (Ethylendiamintetraessigsäure) zugesetzt. Dieses komplexiert das im Blut vorhandene Calcium und Magnesium und verhindert so eine Blutgerinnung bei der Lagerung der Blutproben. Um für die Messung ein Erythrozytenkonzentrat, ohne sonstige Inhaltsstoffe und Blutbestandteile, zu erhalten, musste daher das Blut gereinigt und die Erythrozyten abgetrennt werden.

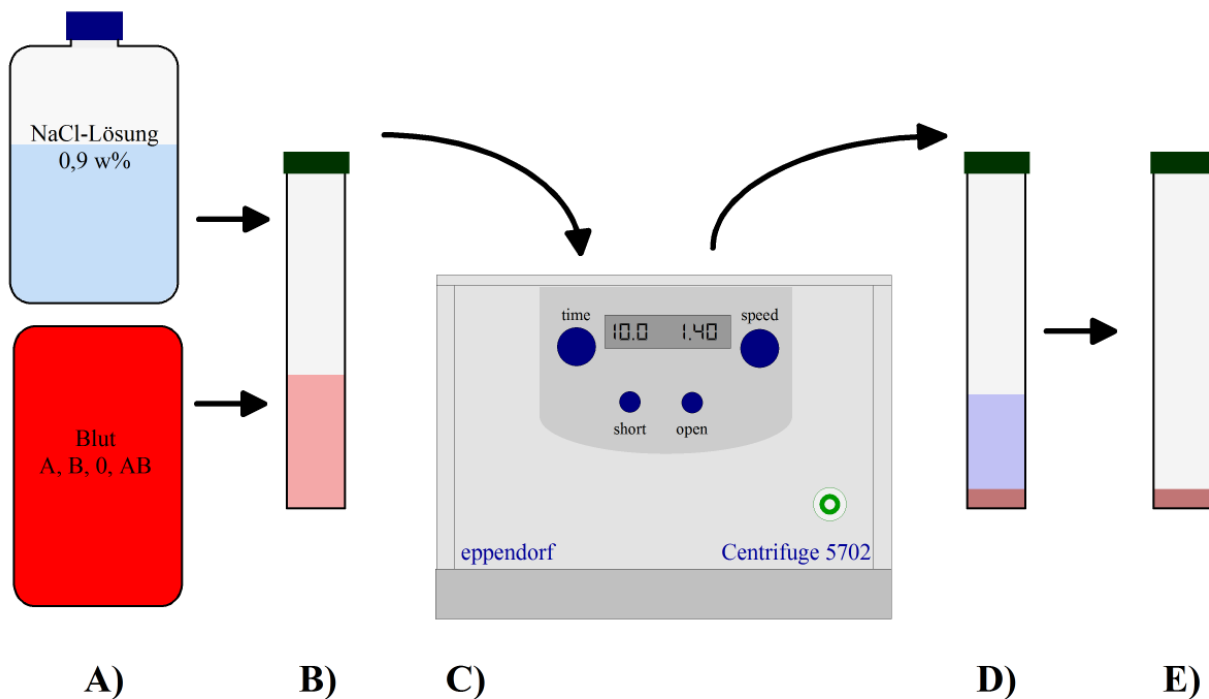


Abb. 19: Ablauf des Reinigungsschrittes zur Gewinnung der sauberen Erythrozytenkonzentrate; **A & B:** 1 ml Blutprobe vom Roten Kreuz und 2 ml 0,9 w%ige NaCl-Lösung werden in ein Zentrifugenröhrchen pipettiert und durchmischt; **C:** das Gemisch wird bei 1400 rpm für 10 min abzentrifugiert; **D:** die klare Lösung oberhalb der Erythrozyten wird abgesaugt; **E:** gewonnenes Erythrozytenkonzentrat für die Herstellung der Probelösungen

Zur Reinigung wurde aus den Proben jeweils 1 ml Blut aus dem unteren Bereich (die Erythrozyten lagern sich am Boden ab, während das Blutplasma sich oberhalb befindet) mittels Eppendorfpipette in ein Zentrifugenröhrchen pipettiert. Zum Blut wurden nun 2 ml isotonische Kochsalzlösung (0,9 w% NaCl in Deionat, was einer Ionenkonzentration von jeweils 145 mmol Na^+ und Cl^- pro Liter entspricht) zugegeben und durch mäßiges Schütteln vermengt. Danach wurde das Erythrozytengemisch bei 1400 rpm für 10 Minuten zentrifugiert, wobei sich die Erythrozyten am Boden ablagern und die Kochsalzlösung mit den heraus gelösten Bestandteilen oberhalb ansammelt. Der Überstand wird anschließend mit einer Eppendorfpipette abgesaugt und die zurückgebliebenen Erythrozyten wurden in der oben beschriebenen Weise so oft gewaschen, bis die überstehende Lösung klar war. Das daraus gewonnene Erythrozytenkonzentrat wurde sowohl für den Prägeprozess, als auch für die Herstellung der Messlösungen verwendet.

3.2. Bestimmung der Erythrozytenkonzentration bzw. Zellenzahl

Um für die Messungen Lösungen mit konstanter Konzentration an Erythrozyten herzustellen, war es notwendig die Anzahl der Zellen im Erythrozytenkonzentrat auszuzählen. Die Zahl der Zellen in der gewaschenen Lösung wurde mit Hilfe eines Lichtmikroskops bei einer Vergrößerung um den Faktor 10 und 50 bestimmt. Wie in Abb. 20 zu erkennen ist, wurde dazu eine verdünnte Erythrozytenlösung auf ein Rastergitter aufgetragen und die Anzahl der Erythrozyten im jeweiligen Quadranten gezählt.

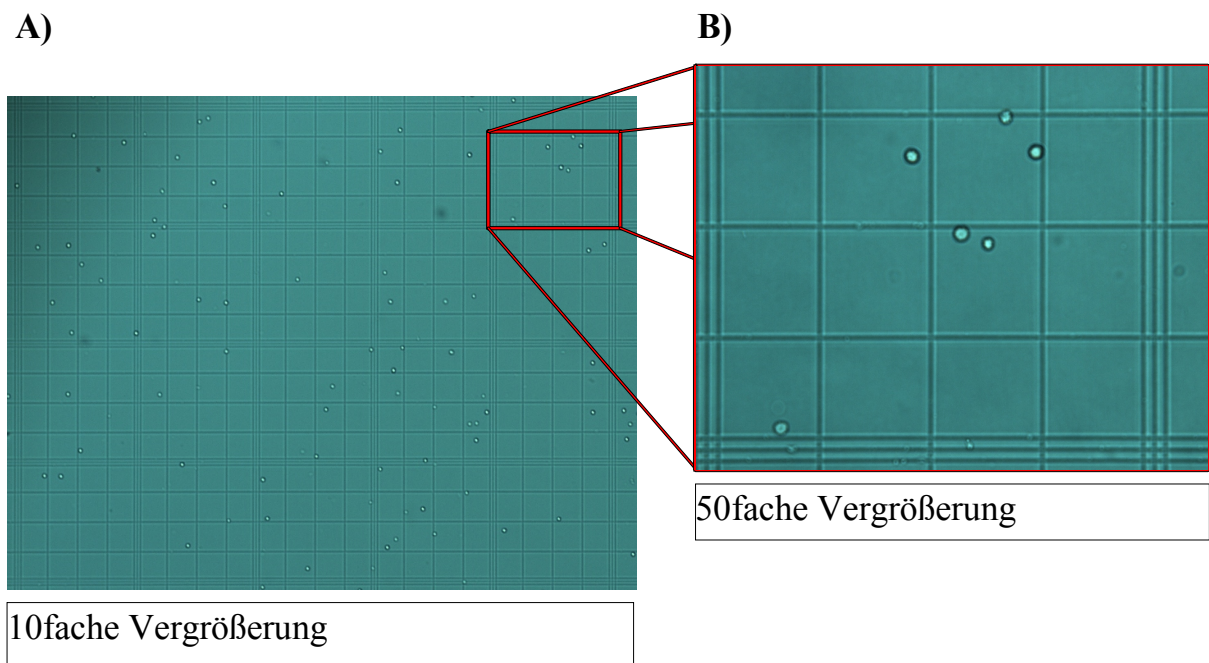


Abb. 20: Auszählung der Zellenzahl einer Verdünnung aus dem Erythrozytenkonzentrat mittels Lichtmikroskop; **A:** Auszählung bei einer 10fachen Vergrößerung; **B:** Auszählung bei einer 50fachen Vergrößerung

Mittels der gezählten Zellenzahl, der Fläche des Quadrates und der Dicke der Flüssigkeitsschicht konnte die Erythrozytenkonzentration berechnet werden. Dazu wurde folgende Gleichung benutzt:

$$\frac{\text{Zellen}}{\mu\text{l}} = \frac{\text{gezählte Zellen}}{\text{Quadratfläche} \cdot \text{Dicke}}$$

Gleichung 35

Wobei für die Quadratfläche $2500 \mu\text{m}^2$ ($50 \mu\text{m}$ Seitenlänge eines kleinen Quadrates) und die Dicke $100 \mu\text{m}$ betrug. Um statistische Auszählfehler zu minimieren, wurden für die Berechnung

16 mal 16 Quadranten ausgezählt und der Durchschnitt aus diesen zur Berechnung verwendet. Die ermittelten Erythrozytenkonzentrationen sind in Tabelle 8 zusammengefasst. Die Zellenzahl im Konzentrat beträgt zwischen 13 und 19 Millionen Erythrozyten pro Mikroliter.

Tabelle 8: Zellenkonzentrationen der einzelnen Erythrozytenkonzentrate

Blutgruppe	Zellenzahl
	[10 ⁷ Zellen/ μ l]
A ₁	1,3
A ₂	1,4
B	1,5
0	1,9
A ₁ B	1,7
A ₂ B	1,4

3.3. Herstellung der Elektrodenstrukturen auf der Quarzmikrowaage

Wie bereits erwähnt, benötigt der Quarz eine Elektrodenstruktur um in Schwingung versetzt zu werden. Dazu wurde mittels Siebdrucktechnik eine leitende Goldstruktur, bestehend aus zwei Elektroden mit einer Schichtdicke von zirka 150 nm, auf den Quarz aufgetragen. Durch die Zwei-Elektroden-Geometrie können mit einem Quarz sowohl die Mess- als auch die Referenzwerte bestimmt werden.

Zur Herstellung der Strukturschablone wurde ein Segeltuch mit einer Maschenweite von 20 μm auf einen Metallrahmen geklebt. Auf der Innenseite des Tuches wurde eine dünne Schicht von Photolack aufgetragen. Nach 30 Minuten Trockenzeit im Dunklen wurde das Sieb mit der Elektrodenstruktur versehen. Dazu wurde auf einer transparenten Folie die Struktur aufgedruckt und diese auf die UV-Lichtquelle des UV-Belichters aufgeklebt. Das Sieb wurde auf diese mit der bestrichenen Seite aufgelegt und für 30 Sekunden mit UV-Licht belichtet. Durch Spülen mit Wasser wurden jene Stellen abgewaschen, welche nicht durch das UV-Licht ausgehärtet wurden.

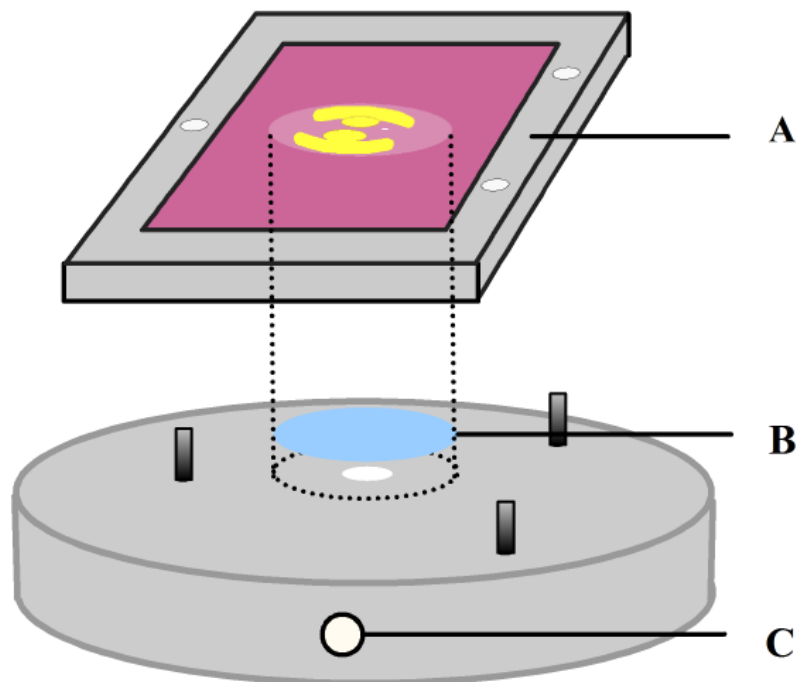


Abb. 21: Darstellung des Siebdruckverfahrens zum Beschichten der Quarze mit einer Zweielektrodenstruktur: **A:** Siebschablone für die Quarzstruktur durch welche die Goldpaste auf den Quarz aufgetragen wird; **B:** gereinigter, fettfreier Quarz; **C:** Fixierung der Quarze mittels Vakuum

Zum Auftragen der Elektroden wurden die gereinigten Quarze auf einen Teflonblock mittels Vakuum fixiert und die Sieb-Schablone darüber gelegt. Durch Auftragen der Glanzgoldpaste (Goldpartikeln in organischer Matrix) wurde die Elektrodenstruktur auf den Quarzen abgebildet. Die so beschichteten Quarze wurden bei 400°C für 3 Stunden gebrannt, wobei die organische Matrix der Goldpaste rückstandsfrei verbrannte. Nach dem Abkühlen konnte die Gegenelektroden auf den Quarzen aufgebracht werden. In Abb. 21 ist dieser Arbeitsschritt dargestellt.

Um eine besser Haftung des Polymers auf den Quarzen zu erreichen, wurden die beschichteten Quarze für 24 Stunden in einer 5%igen 1,4-Dithiothreitol-Lösung (0,5 g 1,4-Dithiotreitol in 9,5 ml Deionat gelöst) gelegt. Durch das Ausbilden einer selbstorganisierten Schicht (*molecular self-assembly layer*), bestehend aus Kohlenstoffketten (C₄) mit zwei Hydroxygruppen, über die Goldstruktur wird die Haltbarkeit des Polymers auf den Elektroden und somit die Stabilität der Sensorschicht verbessert.

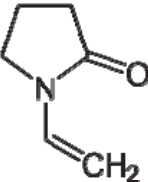
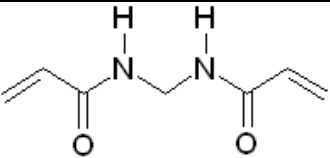
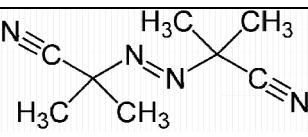
3.4. Beschichtung und Prägung der Sensoren

In der Arbeit wurden verschiedene Polymere für die Beschichtung und Prägung herangezogen: Polyurethan, Polyacrylat und Polyvinylpyrrolidon. Damit sollen im Verlauf der Arbeit der Einfluss der unterschiedlichen Zusammensetzungen und die Interaktion der Polymerbestandteile mit dem elektrischen Feld erforscht und begutachtet werden. Um eine optimale Anpassung der Polymere an die Oberflächenstruktur der Analytzellen, den Erythrozyten zu ermöglichen und die Stabilität des Polymers zu erhöhen, wurde zu den jeweiligen Monomeren eine Quervernetzersubstanz zugegeben. Dadurch wurde die Löslichkeit des Polymers in den jeweiligen verwendeten Medien verringert und die Haltbarkeit des Sensors erhöht.

3.4.1. Polyvinylpyrrolidon

Zur Herstellung des Polymers wurden, wie im Ansatz in Tabelle 9 aufgelistet, 5 mg des Quervernetzers (N,N'-Methylbisacrylamid) und 95 mg des Monomers (1-Vinyl-2-pyrrolidon) in einem 1,5 ml-Eppendorfgefäß eingewogen. Durch kurzzeitiges Erhitzen auf 60°C und Beschallung im Ultraschallbad für 5 Minuten löste sich der Quervernetzer vollständig im flüssigen Monomer auf. Sobald der gesamte Quervernetzer gelöst war, wurde 1 mg des Radikalstarters (AIBN) zugesetzt und für etwa 2 Minuten auf 70°C erhitzt.

Tabelle 9: Zusammensetzung des Polyvinylpyrrolidon

Bezeichnung	Strukturformel	Funktion	Menge [mg]
1-Vinyl-2-Pyrrolidon		Monomer	95
N,N'-Methylbisacrylamid		Quervernetzer	5
Azo-bis-(isobutyronitril)		Radikalstarter	1

Während der temperaturbedingten Beschleunigung der Polymerisation veränderte sich die Konsistenz des Polymers von flüssig, über zähflüssig bis hin zum vollständig polymerisierten Feststoff. Da für die Prägung das Polymer als Präpolymer benötigt wurde, wurde der Erhitzungsprozess, sobald der zähflüssige Zustand erreicht wurde, abgebrochen. In Abb. 22 ist der Grundmechanismus der radikalischen Polymerisation von 1-Vinyl-2-pyrrolidon zu Polyvinylpyrrolidon mit N-N'-Methylbisacrylamid und Azo-bis-(isobutyronitril) dargestellt.

Der Start der Polymerisation wurde schon bei der Zugabe von AIBN bei Raumtemperatur beobachtet: Dabei bildeten sich kleine Kristalle, welche auf schon vollständig auspolymerisiertes Polyvinylpyrrolidon rückzuführen sind. Dieses Phänomen konnte bei einer zu hohen Konzentration an Radikalstarter, bei einer schlechten Durchmischung oder bei zu langem beziehungsweise zu starkem Erhitzen beobachtet werden. Die dadurch entstandenen Polymergemische wurden nicht für die Beschichtung und Prägung verwendet, da durch die festen Partikeln im Präpolymer eine unregelmäßige und inhomogene Schicht und dadurch keine gute Prägung mit dem Templat zu erwarten war.

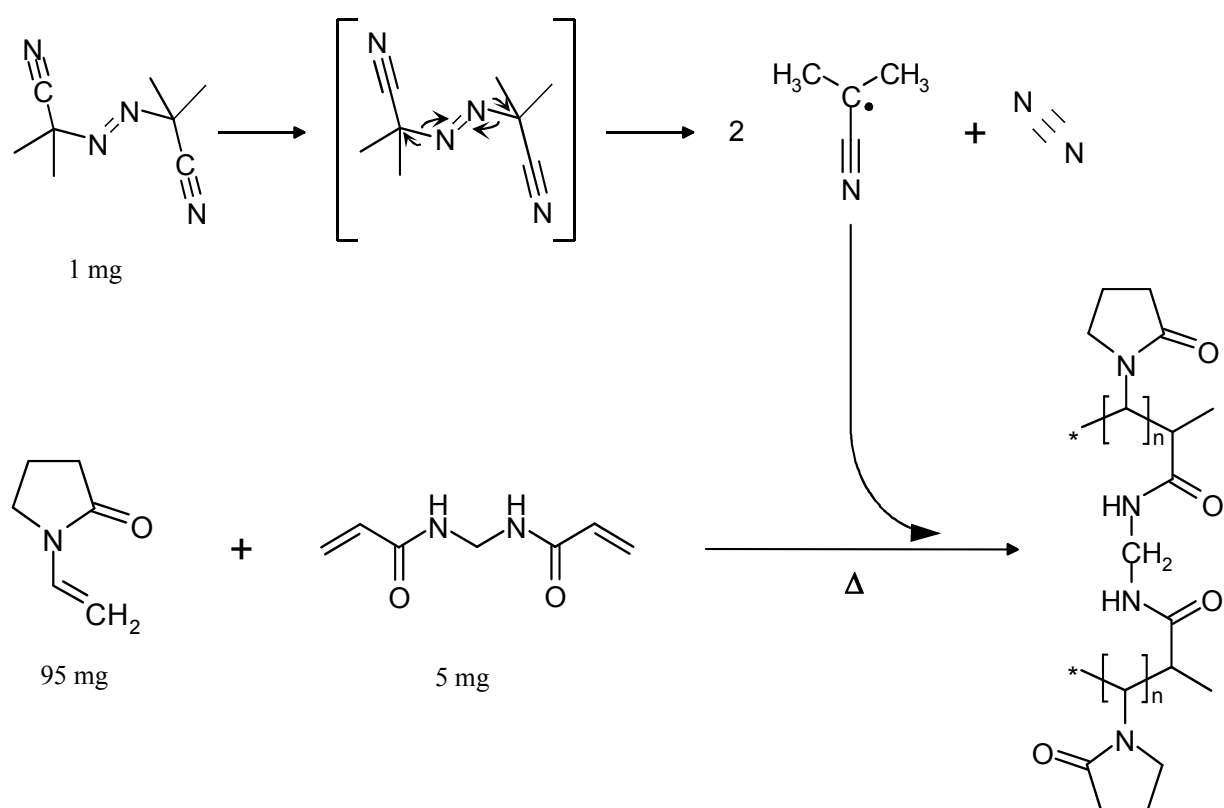


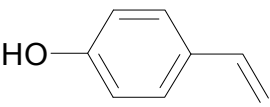
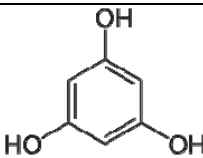
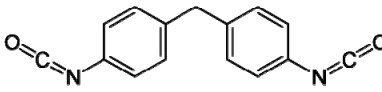
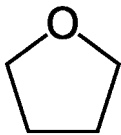
Abb. 22: Reaktionsmechanismus der radikalischen Polymerisation von 1-Vinyl-2-Pyrrolidon mit N-N'-Methylbisacrylamid als Quervernetzer und AIBN als Radikalstarter

3.4.2. Polyurethan

Zur Herstellung des Polyurethans wurden 4,3 mg Phloroglucin und 50,4 mg von einem Polymerkette des 4-Vinylphenol (mit einer Molmasse von rund 11000 g/mol) in 200 μ l THF durch Beschallung im Ultraschallbad vollständig gelöst. Danach wurden 56,4 mg Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat (Monomer 3) zugegeben und für 15 Minuten bei 70°C vorpolymerisiert und auf 1 ml mit THF aufgefüllt. In Tabelle 10 sind die verwendeten Chemikalien und Mengen zusammengefasst.

Das so hergestellte Polyurethan kann mittels Zugabe von THF weiter verdünnt werden. Dieses ist notwendig um eine dünnere Schicht auf einen Sensor aufzutragen. Bei der Verwendung zur Beschichtung der IDKs wurde kein weiterer Verdünnungsschritt durchgeführt, da die Konsistenz für den Zweck gut geeignet war.

Tabelle 10: Zusammensetzung des Polyurethan

Bezeichnung	Strukturformel	Funktion	Menge [mg]
4-Vinylphenol (polymerisiert; $M \approx 11000$ g/mol)		Monomer 1	50,4
Phloroglucin		Monomer 2	4,3
Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat		Monomer 3	56,4
Tetrahydrofuran (THF)		Lösungsmittel	200 μ l + 800 μ l

Der Ablauf der Polymerisation ist in Abb. 23 dargestellt. Das Polyurethan entsteht dabei durch eine Polyadditionsreaktion von Polyisocyanatmolekülen (Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat) mit einem Alkohol (4-Vinylphenol beziehungsweise Phloroglucin). Ein großer Vorteil bei dieser Additionsreaktion ist, dass keine Nebenprodukte auftreten und somit das Polymer nicht verunreinigt wird.

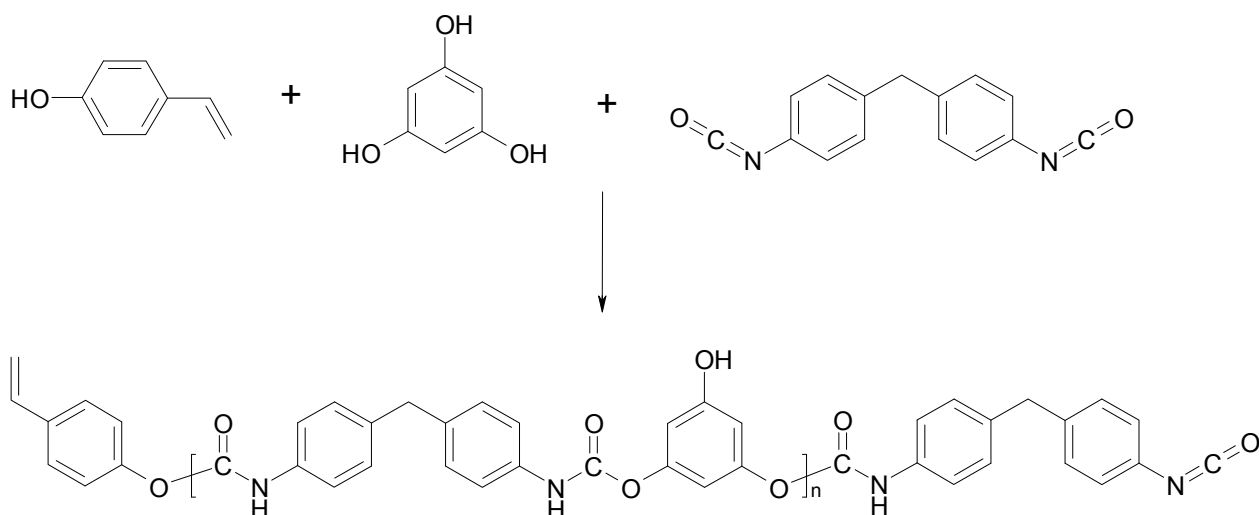


Abb. 23: Darstellung der Synthese von Polyurethan aus 4-Vinylphenol, Phloroglucin und Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat mittels einer Polyadditionsreaktion

3.4.3. Polyacrylat

Tabelle 11: Zusammensetzung des Polyacrylat

Bezeichnung	Strukturformel	Funktion	Menge [mg]
Methacrylsäure		Monomer 1	50,0
1-Vinyl-2-Pyrrolidon		Monomer 2	20,0
N,N'-(1,2-Dihydroxyethylen)bis-acrylamid (DHEBA)		Monomer 3	30,0
Azo-bis-(isobutyronitril)		Radikalstarter	1,0

Für die Herstellung des Polyacrylates wurden 50 mg Methacrylsäure, 20 mg 1-Vinyl-2-Pyrrolidon und 30 mg N,N'-(1,2-Dihydroxyethylen)bisacrylamid in 800 µl Deionat gelöst (5 Minuten im Ultraschallbad) und mit 1 mg des Radikalstarters (AIBN) versetzt. Die Zusammensetzung ist in Tabelle 11 aufgelistet. Das Gemisch wurde anschließend für 5 Minuten

auf 65°C erhitzt und danach kurz unter UV-Licht vorpolymerisiert. Das Polyacrylat wird durch eine radikalische Polymerisation gebildet, wie in Abb. 24 dargestellt. Wie bei der Herstellung des Polyvinylpyrrolidon ist auch hierbei darauf zu achten, dass sich bei der Vorpolymerisation keine Kristalle bilden, da ansonst das Polymer aufgrund seiner Inhomogenität nicht mehr für den Prägeprozess herangezogen werden kann.

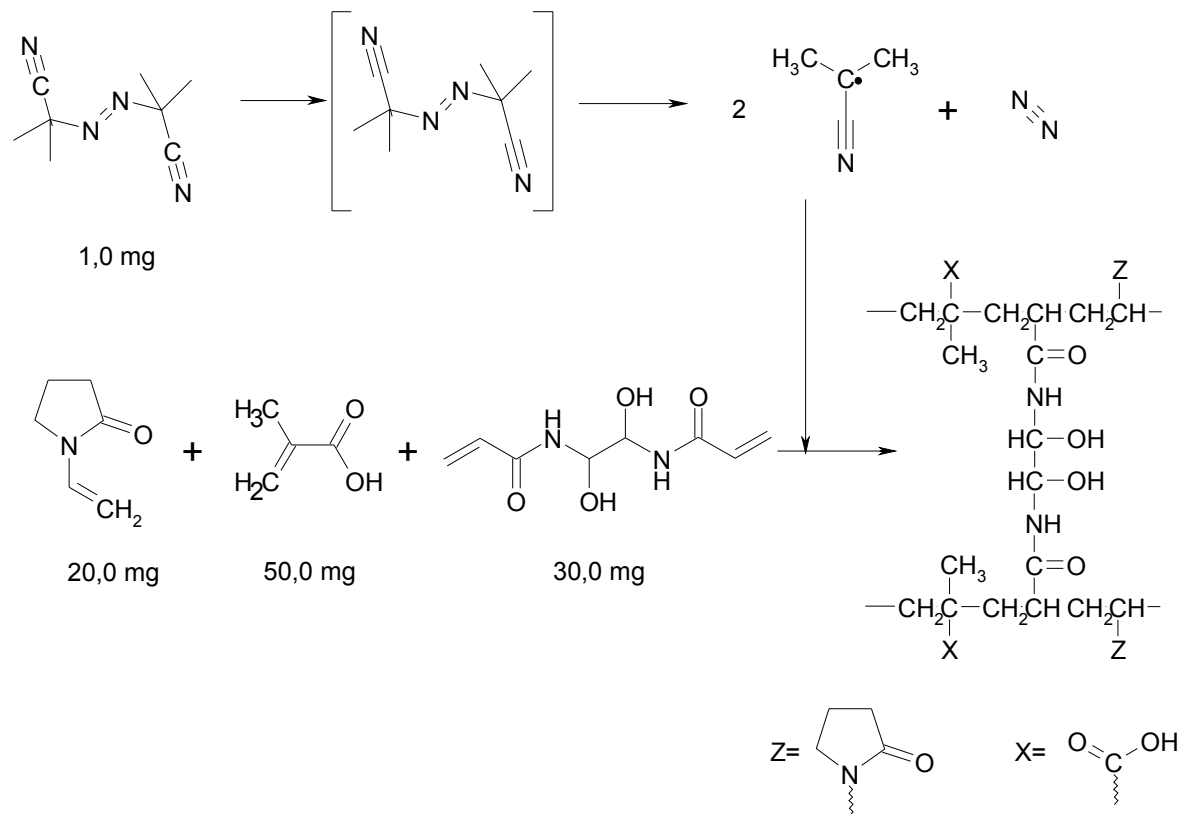


Abb. 24: Darstellung von Polyuracrylat aus Methacrylsäure, 1-Vinyl-2-Pyrrolidon und DHEBA mittels radikalischer Polymerisationsreaktion mit AIBN als Radikalstarter

3.4.4. Beschichtung und Prägung der Interdigitalstrukturkondensatoren

Für den Prägeprozess wurden auf den IDK 2 μl des Präpolymers mittels Eppendorfpipette aufgetropft und mit einer Eppendorfpipettenspitze gleichmäßig verteilt. Dabei wurde darauf geachtet, dass die gesamte Interdigitalstruktur mit Polymer bedeckt wurde. Das überschüssige Polymer wurde mit einer Eppendorfpipettenspitze abgestrichen und vom IDK entfernt. Das zurückbleibende Polymer bildete so einen dünnen Film über die Interdigitalstruktur. Auf das noch nicht vollständig ausgehärtete Präpolymer wurde 1 μl der jeweiligen Analytlösung (Erythrozyten mit verschiedenen Blutgruppen) aufgetragen. Abschließend wurde das Polymer vollständig auspolymersiert und verfestigt (bei Polyvinylpyrrolidon: 3 Stunden unter UV-Licht plus 48 Stunden bei normalen Raumbedingungen; bei Polyurethan: 24 Stunden bei Raumtemperatur; bei Polyacrylat: 1 Stunde unter UV-Licht plus 48 Stunden bei normalen Raumbedingungen). Vor der ersten Anwendung als Sensor, wurden die für die Prägung verwendeten Erythrozyten aus dem Polymer gewaschen (3 Stunden mit Deionat bei einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min). In der Abb. 25 ist der Ablauf der Beschichtung, Prägung und Reinigung der IDK-Sensoren graphisch dargestellt.

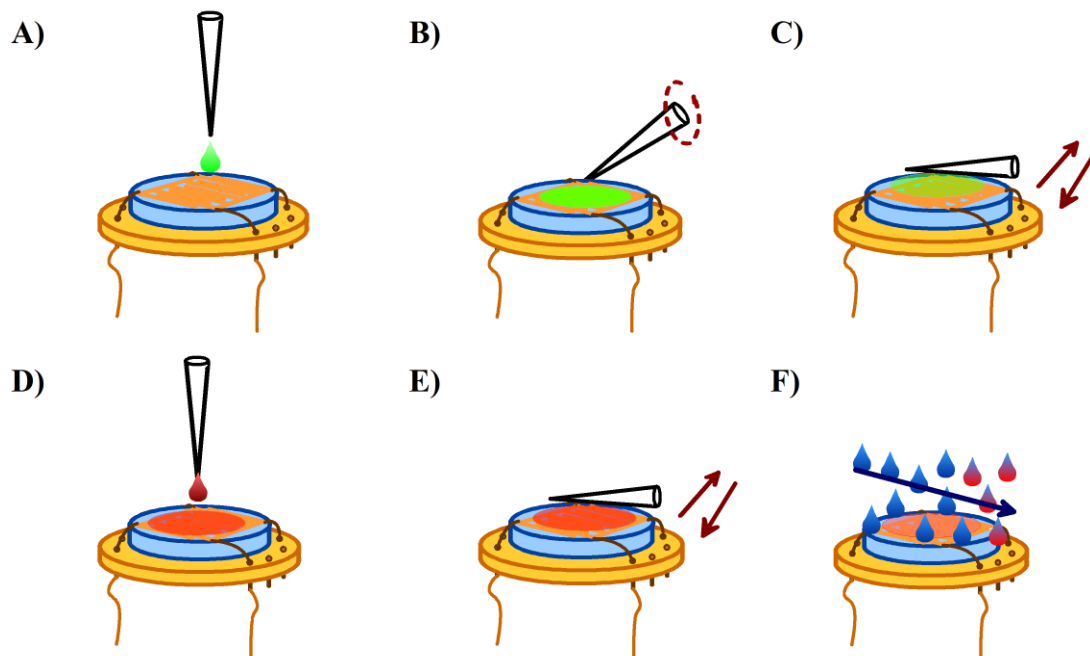


Abb. 25: Beschichtung und Prägung des IDK mit Polyvinylpyrrolidon und den Blutproben. **A:** Auftragen des Polymers mittels Eppendorfpipette; **B:** Verteilen des Präpolymers auf den IDK; **C:** Überschüssiges Polymer abstreifen, damit ein einheitlicher dünner Polymerfilm zurück bleibt; **D:** Auftropfen des Erythrozytenkonzentrates; **E:** Aushärten des Polymeres unter UV-Licht für 2 Stunden und über Nacht bei Raumtemperatur; **F:** Waschen des Sensors, damit überschüssige Blutzellen und Blutbestandteile entfernt werden

3.4.5. Beschichtung und Prägung der Quarzmikrowaage

Für die Beschichtung der Quarze und die Prägung des Polymers wurde das zähflüssige Präpolymer auf die beiden größeren Goldelektroden des Quarzes mittels Eppendorfpipette in einem dünnen Film aufgetragen. Danach wurden die Quarze mit rund 2000 Umdrehungen pro Minute für 20 Sekunden abgespinnt. Dabei wurde das überschüssige Präpolymer von der Quarzoberfläche weggeschleudert, um eine konstante Dicke des Polymers zu erreichen. Anschließend wurde auf eine der beiden Elektrodenstrukturen 1 μl des gewaschenen Erythrozytenkonzentrats der jeweiligen Templatblutgruppe aufgetragen. Die Erythrozyten wurden für den Prägeprozess nicht abgespinnt sondern während des Polymerisationsschritts auf dem Quarz belassen. Erst nach vollständiger Polymerisation (bei Polyvinylpyrrolidon: 3 Stunden unter UV-Licht plus 48 Stunden bei normalen Raumbedingungen; bei Polyurethan: 24 Stunden bei Raumtemperatur; bei Polyacrylat: 1 Stunde unter UV-Licht plus 48 Stunden bei normalen Raumbedingungen) wurde die Polymerschicht des Quarzes für mindestens 3 Stunden mit Deionat gewaschen, um die für die Prägung verwendeten Erythrozyten herauszuwaschen. Eine schematische Darstellung des Beschichtungs- und Prägeprozesses der Quarzmikrowaage ist in Abb. 26 abgebildet.

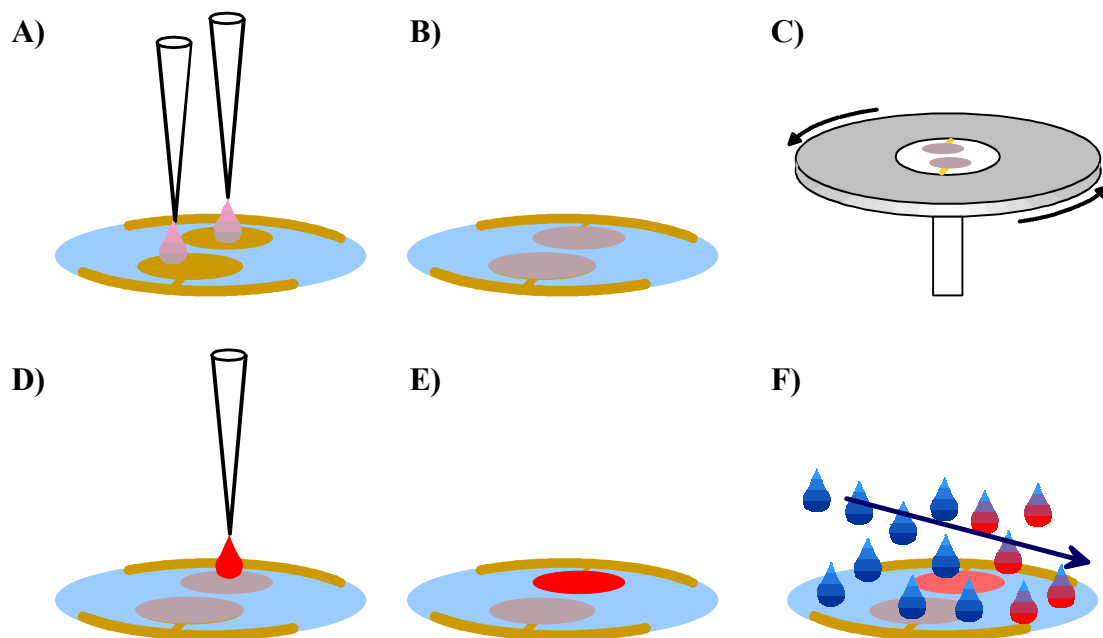


Abb. 26: Ablauf des Beschichtungs- und Prägeprozess von Schwingquarzen mittels Polymer und Erythrozytenlösung; **A:** Auftragen des Präpolymers; **B & C:** gleichmäßiges Verteilen des Präpolymers durch den Abspinnprozess; **D:** Auftragen der Erythrozyten-Lösung auf das Präpolymer; **E:** vollständige Polymerisation und Aushärtung des Polymers; **F:** Erythrozytenzellen werden heraus gewaschen und der Quarz ist für die Anwendung bereit

3.5. Messung und Aufbau der Messapparaturen

3.5.1. Messaufbau für die IDK-Messungen

Der Geräteaufbau für die Messungen mittels der IDK-Messzelle ist in Abb. 27 schematisch dargestellt und setzte sich aus dem LCR Meter HP 4284 A der Firma Hewlett-Packard mit der Messhalterung HP16047, einer MCP Process IP-65 Peristaltikpumpe der Firma Ismatec (mit zwei Flussrichtungen), einem IDK mit einer Strukturbreite von 10 μm beziehungsweise 5 μm , einer Messzelle aus Plexiglas mit zwei Bohrungen für die Befestigung der IDK und vier Schrauben, einem Silikonstopfen aus Polydimethylsiloxan mit einer Vertiefung und einem PC – für die Datenaufzeichnung – zusammen. Für die Messdatenaufzeichnung wurde eine in der Arbeitsgruppe mittels LabVIEW programmierte Software verwendet, welche zwei Messwerte gleichzeitig aus dem LCR-Meter auslesen und abspeichern kann.

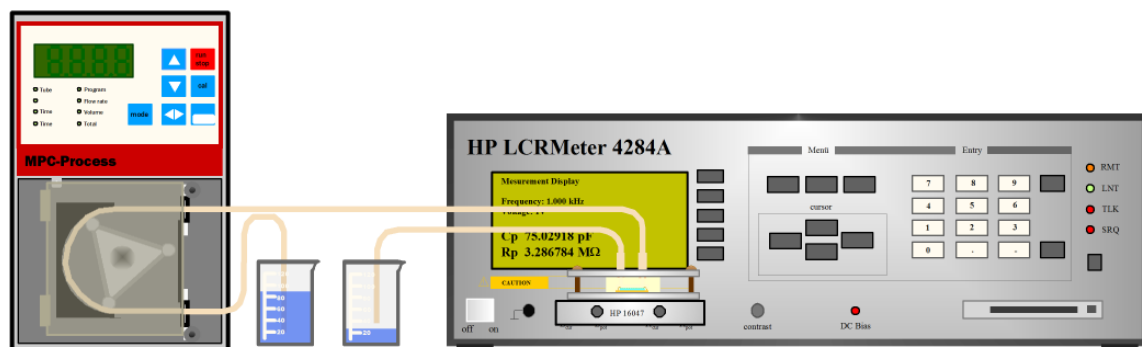


Abb. 27: Schematische Darstellung des Geräteaufbaus für die IDK-Messungen: LCR Meter HP 4284A mit Messhalterung HP16047, Peristaltikpumpe mit Schlauchleitungssystem, Messzelle mit eingebautem Interdigitalkondensator, Vorrats- und Abfallgefäß

Die Messzelle für die IDK-Messungen bestehen aus zwei Plexiglasscheiben zwischen die der IDK eingeklemmt werden kann. Zur Befestigung des IDK und zum Abdichten des Messraumes werden die beiden Scheiben mittels 4 Schrauben ineinander verschraubt. Um die Blutproben beziehungsweise die Probeflüssigkeiten auf die beschichtete Interdigitalstruktur aufbringen zu können, wird zwischen der oberen Plexiglasscheibe und dem Interdigitalkondensator ein Silikonstopfen aus Polydimethylsiloxan (PDMS) mit einer Aushöhlung eingebaut. Damit verbleibt ein kleiner Hohlraum, von 0,1-1 mm, über der Polymerschicht des Sensors und ermöglicht so eine Bewegung der Blutzellen. Durch unterschiedlich festes Verschrauben der

zwei Plexiglasscheiben konnte der Zwischenraum in oben angeführten Bereich variiert werden. Daher wurde für den Vergleich der Messungen immer auf einen gleichen Abstand der Scheiben und somit auf ein konstantes Volumen des Hohlraumes in der Messzelle geachtet. Über zwei in dem Stopfen integrierte Schläuche lassen sich die Probe- und Waschlösungen beziehungsweise abführen. Für die Zuflussschläuche wurde ein Tycon® R-3606-Schlauch mit einem Innendurchmesser von 1,6 mm verwendet. Der Aufbau und ein Querschnitt der Messzelle der ist in der folgenden Abb. 28 abgebildet.

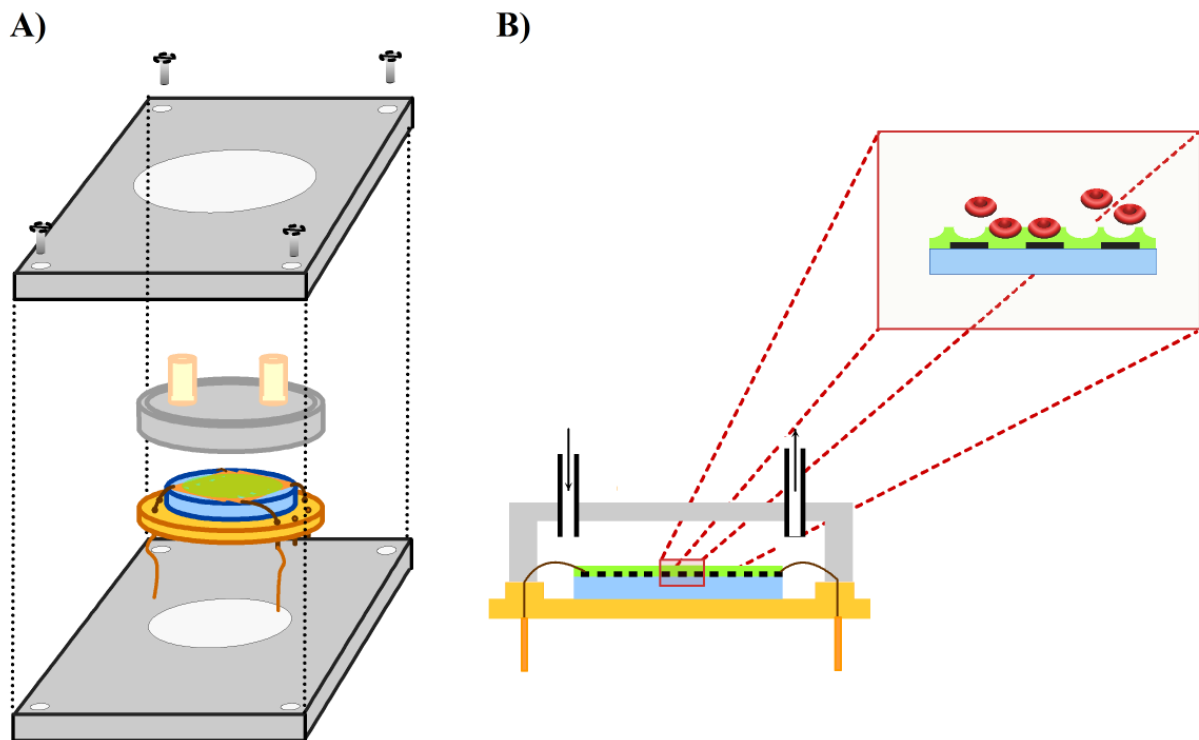


Abb. 28: Aufbau der IDK Messzelle: **A:** Plexiglasboden, IDK mit einer molekular geprägten Polymerschicht; Silikonstopfen mit einem Zu- und Abflussschlauch; Plexiglasplatte mit 4 Schrauben zum Fixieren; **B:** schematischer Querschnitt durch die Messzelle: Die Probelösungen werden durch die beiden Schläuche eingepumpt beziehungsweise ausgelassen; zwischen dem Silikonstopfen und der IDK-Struktur ist ein kleiner Zwischenraum, in den sich die Blutzellen bewegen können

3.5.2. Messablauf bei der IDK-Messung

Die Messung der Kapazität und des Widerstandes erfolgt in 4 Folgeschritten (siehe auch Abb. 29 bis Abb. 31). Im ersten Arbeitsschritt, dem Reinigungs- und Waschschrift, wird eine Waschlösung durch die Messzelle gespült. Dies ist notwendig um die Polymerschicht zu konditionieren, da sich im Polymer neben den Kavitäten auch noch kleine Hohlräume, in welche Fremdpartikeln, wie Monomermoleküle, Bestandteile der Prägeblutlösung oder Luft, beinhalten sein können, befinden. Dazu wird die Messzelle für mindestens 3 Stunden mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min gespült. Dieser Vorgang ist in Abb. 29 dargestellt. Während des Spülens pendeln sich die Messwerte (Kapazität und Widerstand) auf konstante Werte ein und zeigen ein immer geringeres Rauschen auf. Erst dann kann mit dem nächsten Schritt, dem Messen, begonnen werden.

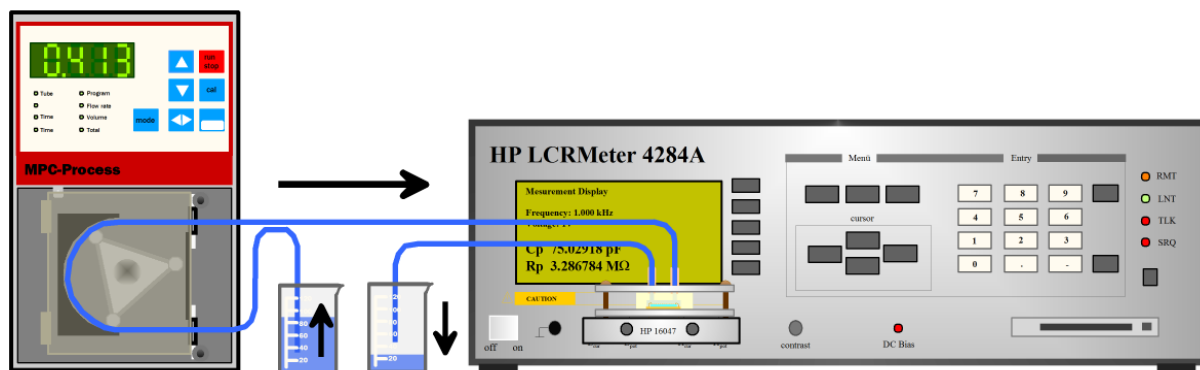


Abb. 29: Reinigungs- und Waschschrift bei der IDK-Messung: Spülen der Messzelle mit Deionat bei einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min

Beim Messen wird die Blutlösung in umgekehrter Pumprichtung in die Messzelle gefüllt, dadurch wird ein Zerquetschen der Erythrozyten durch die Pumpe vermieden. Dabei wird im zweiten Arbeitsschritt über den Ablassschlauch mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min die Probelösung angesaugt. Nach vollständigem Füllen der Messzelle, das heißt, wenn die rote Blutlösung bis in den zweiten Schlauch angesaugt wurde, wird die Pumpe abgestellt und es folgt der eigentliche Messschritt. Dazu wird die Probelösung ohne Strömung in der Messzelle gelassen und eine Gleichgewichtseinstellung abgewartet. Dieses ist in Abb. 30 dargestellt.

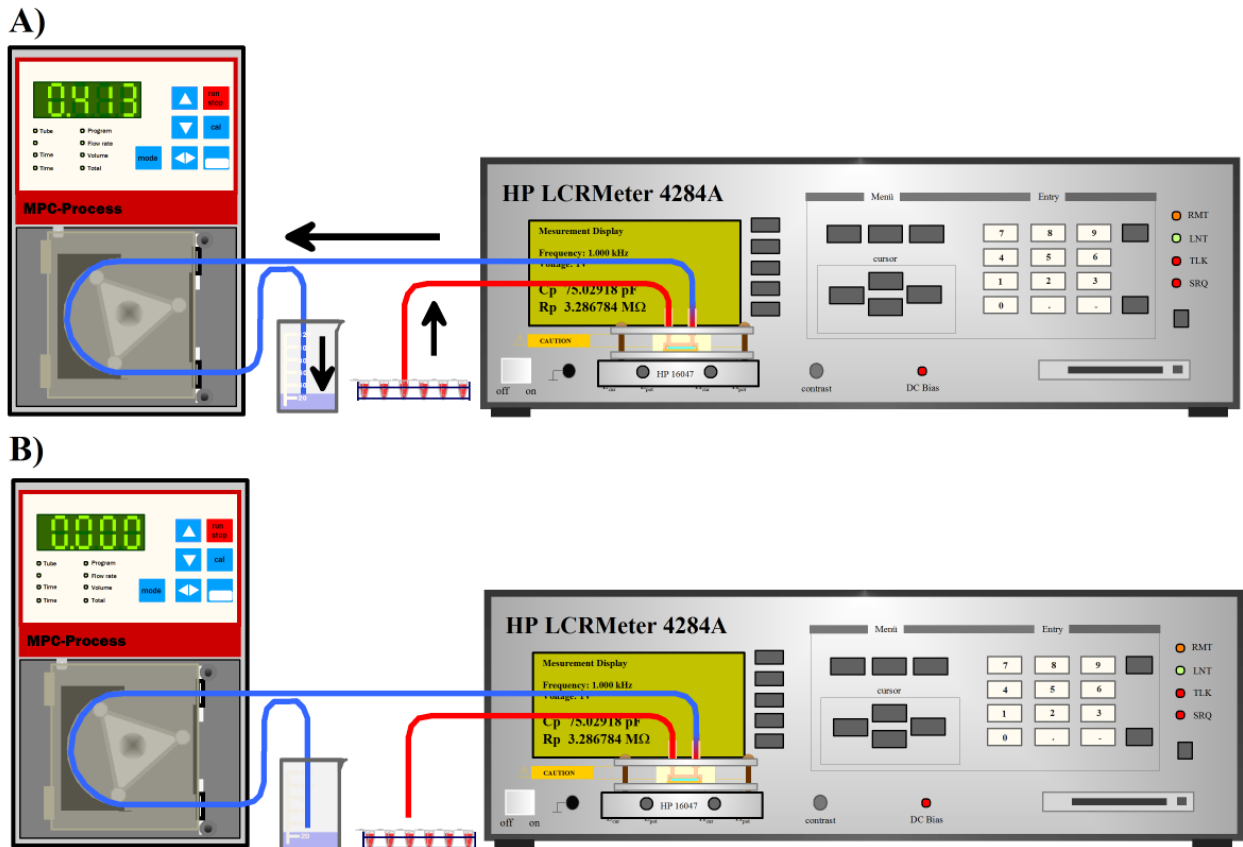


Abb. 30: Messschritt bei der IDK-Messung: **A:** Befüllen der Messzelle mit der Probelösung mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min; **B:** Messung bei gestopppter Pumpe und voll gefüllter Messzelle

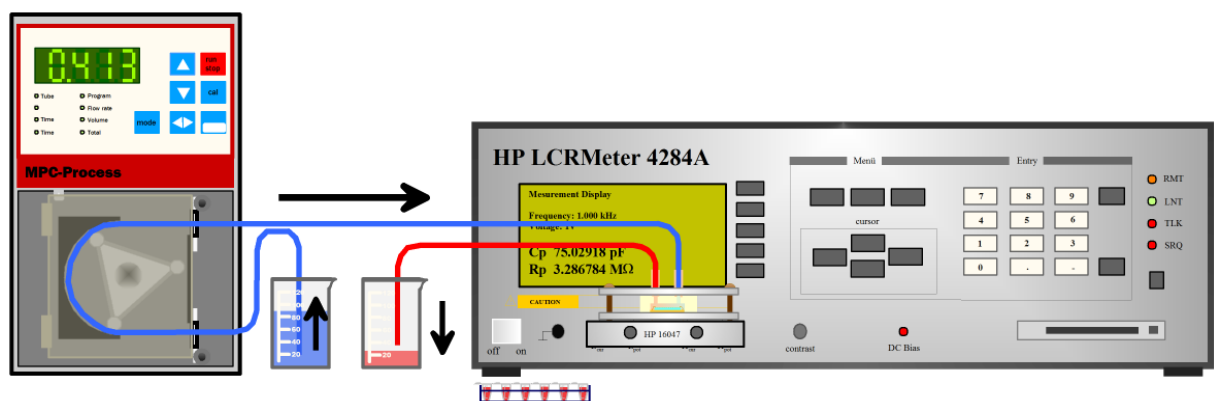


Abb. 31: Spülen der Messzelle nach einer Messung: Deionat wird durch die Zelle gepumpt, bis die Probelösung vollständig herausgespült ist; Pumpgeschwindigkeit: 0,413 ml/min

Nachdem die Messwerte einen konstanten Wert erreicht haben, wird die Messzelle wieder entleert. In dem Arbeitsschritt, der in Abb. 31 graphisch dargestellt ist, wird eine Waschlösung (Deionat oder isotonische Kochsalzlösung) in die Messzelle gepumpt. Die Pumpgeschwindigkeit beträgt 0,413 ml/min. Die Probelösung wird dabei in einen Abfallbehälter gepumpt und entsorgt.

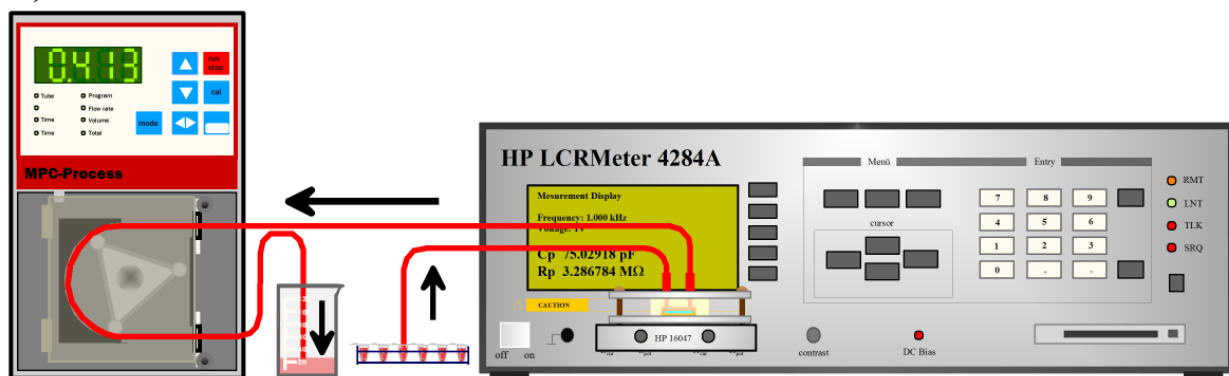
Nachdem die Messzelle entleert und die Messwerte auf den Anfangswert zurück gegangen sind, kann wieder mit dem Arbeitsschritt 1 begonnen werden. Die Spülzeit wird in diesem Fall jedoch auf eine kürzere Zeit von etwa 5 bis 10 Minuten reduziert, da die Konditionierung der Polymerschicht schon erfolgt ist.

Nach Beendigung des Messzyklus wird die Messzelle für mindestens eine Stunde mit Deionat gespült. Dieses ist notwendig um etwaige Elektrolytbestandteile, besonders Na^+ -, K^+ , Cl^- -Ionen, und noch vorhandene Blutzellteile, wie Teile von der Zellmembran, aus der Messzelle und von der Sensoroberfläche zu entfernen. Besonders Salze können ansonsten den Interdigitalkondensator schädigen (zum Beispiel Rosten der Kontakte). Abschließend wird die Messzelle zerlegt und die Einzelteile getrocknet. Die Abfalllösungen werden entsorgt und die Messgeräte abgeschaltet.

3.5.3. Messablauf für Durchflussmessungen mittels IDK

Bei der Messung des Wanderungs- und Absorptionsverhaltens der Blutzellen auf der Interdigitalstruktur beziehungsweise auf der Polymerschicht wird die Messzelle wie oben beschrieben zusammengebaut und gespült. Für die Messung selbst wurde hierbei kein Stopped-Flow-Prinzip angewandt, sondern die Probelösung kontinuierlich über den Sensor gespült. Dabei wird aus einem Blutproben-Vorratsgefäß, die Blutlösung angesaugt und zuerst über die Messzelle und danach durch die Pumpe in einen Abfallbehälter gepumpt. Die Auswahl der Pumpgeschwindigkeit richtet sich nach der jeweiligen Aufgabenstellung, wobei für die Reinigungs- und Waschschrte eine Fliesgeschwindigkeit von 0,413 ml/min verwendet wurde. Nachdem die vollständige Lösung durchgepumpt wurde, wird mit einer Spüllösung (Deionat oder isotonische Kochsalzlösung) nachgespült. Damit werden noch in der Messzelle befindliche Bestandteile der Probelösungen und deren Ablagerungen auf und im Polymer herausgespült und die Messwerte kehren zu deren Anfangswerte zurück, wie in Abb. 32 dargestellt. Nach dem Arbeitsschritt, wird der Sensor wie oben beschrieben gereinigt, zerlegt, getrocknet und verstaut.

A)



B)

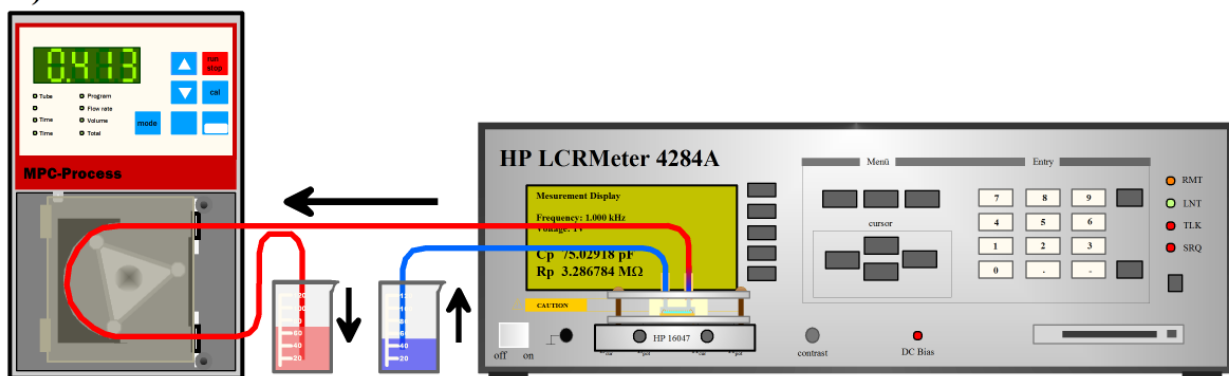


Abb. 32: Messablauf bei der Durchfluss-Messung mittels IDK-Messzelle: **A:** Die Blutprobe wird durch die Messzelle gepumpt und in einem Abfallbehälter gesammelt; **B:** nach der Messung wird die Zelle mit Deionat gespült um den Sensor zu reinigen und Rückstände der Probelösung aus der Messzelle zu entfernen

3.5.4. Messaufbau für die Quarzmikrowaagen-Messung

Für die Messung mittels Quarzmikrowaagen wurde der Frequenzzähler Agilent 53131 A – Universal Counter mit der Oszillatorschaltung über zwei Coaxialkabeln verbunden. Zur Stromversorgung wurde ein 12 V-Netzteil verwendet. In die Messzelle aus Plexiglas wurde der beschichtete Schwingquarz eingesetzt und die beiden Elektroden wurden über zwei Kabeln mit der Oszillatorschaltung verbunden. Zum Befüllen und Entleeren der Messzelle wurde eine MCP Process IP-65 Peristaltikpumpe der Firma Ismatec (mit zwei Flussrichtungen) verwendet. Die Messdatenaufzeichnung erfolgte mittels Computers mit einer Messsoftware, welche in der Arbeitsgruppe mittels LabVIEW programmiert wurde. In Abb. 33 ist der Geräteaufbau graphisch dargestellt.

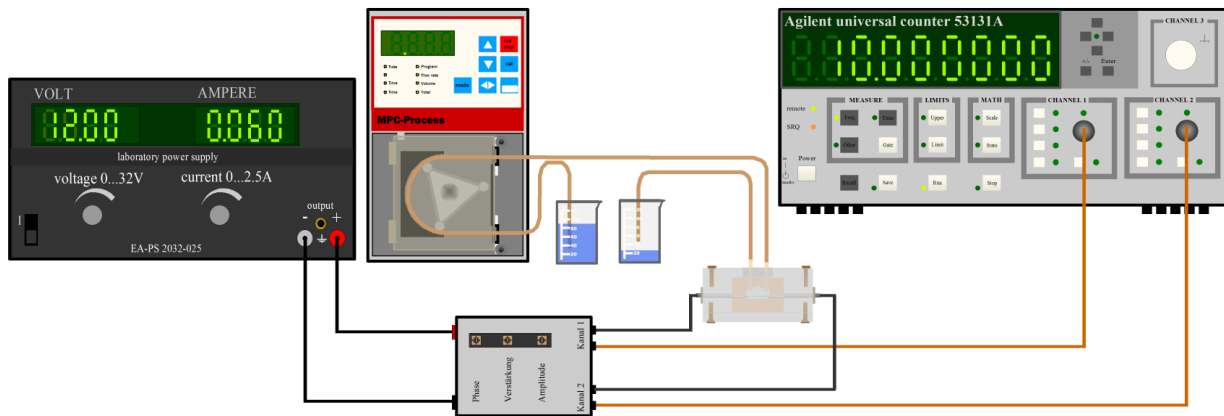


Abb. 33: Darstellung des Geräteaufbaus bei der Quarzmikrowaagen-Messung: Der Quarz wird in die Messzelle eingebaut und mit der Oszillatorschaltung kontaktiert; an die Oszillatorschaltung wird ein Gleichstrom von 0,06 A mit einer Spannung von 12 V angelegt und der Frequenzzähler angeschlossen; die Zufuhr von Probe- und Waschlösung erfolgt mittels Peristaltikpumpe

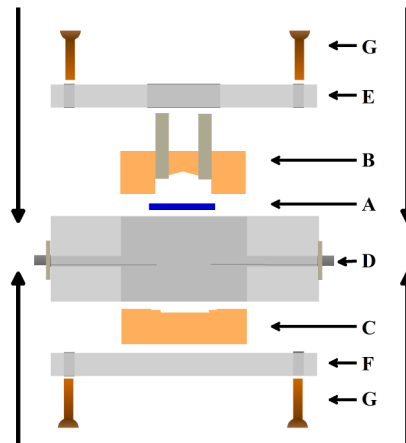


Abb. 34: Aufbau der Quarzmikrowaagen-Messzelle: **A:** Quarz mit Elektrodenstruktur; **B:** Silikonstopfen mit Zu- und Abflussöffnung; **C:** Silikonbodenteil mit Vertiefung für die Kontakte; **D:** SMA-Kontaktbuchsen zum Verbinden mit der Oszillatorschaltung; **E:** Plexiglasdeckel mit Bohrung; **F:** Plexiglasboden; **G:** Schrauben

Die Messzelle wurde hierbei aus Plexiglas gefertigt und besteht aus einem Unterboden, einem Deckel und einem Hauptkörper, welche eine runde Bohrung aufweist, in diese wird ein aus Polydimethylsiloxan (PDMS) gefertigter Silikonkonus eingesetzt. Auf diesen wird der Quarz gelegt und über vier Kupferleitungen kontaktiert, wobei darauf zu achten ist, dass der Quarz ruhig und gerade in der Vertiefung des Silikonbodens liegt. Auf den Quarz kommt ein Silikonstopfen mit einer Abfluss- und Zuflussleitung zum einbringen der Probe- und Waschlösungen. Um die Zelle dicht zu machen, wird der Deckel mit dem Boden verschraubt, wodurch die beiden Silikonteile zusammen gedrückt werden. Über einen SMA-Anschluss kann der Quarz mit der Oszillatorschaltung kontaktiert werden. In Abb. 34 ist die Messzelle schematisch dargestellt.

3.5.5. Messablauf bei der QCM-Messung

Bei der Quarzmikrowaagenmessung wird ein Strom mit einer Spannung von 12 V und einer Stromstärke von 60 mA an die Oszillatorschaltung angelegt. Diese dient dazu, dass der Quarz in Schwingung versetzt wird und die Frequenz ausgewertet werden kann. Die Erfassung erfolgt über den Frequenzzähler Agilent 53131A.

Die Messung erfolgt in 4 Arbeitsschritten: der Spül- und Einschwingsschritt, dem Befüllen der Messzelle mit der Probelösung, dem eigentlichen Messschritt und einem abschließenden Reinigungs- und Spülschritt (analog dem Spülschritt am Anfang). Die unterschiedlichen Phasen eines Messzyklus und deren dazugehörigen Pumprichtungen sind in Abb. 35 bis Abb. 37 abgebildet.

Beim ersten Arbeitsschritt, wie in Abb. 35 gezeigt, wird der Quarz mit Deionat gespült. Dabei wird eine Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min verwendet. Um die Frequenz auf die Resonanzfrequenz von 10 MHz beziehungsweise dem Bereich kurz unter dieser Frequenz (da die Polymerschicht auch eine Massenbeladung darstellt) einzustellen, können an der Oszillatorschaltung die Verstärkung, die Phase und die Amplitude abgeglichen werden. Um die Frequenz einzustellen, sollte dazu die Verstärkung solange umgestellt werden, bis die Frequenz auf die angestrebte Resonanzfrequenz springt. Danach lässt man die Einstellungen gleich und wartet auf das Einschwingen der Frequenz der Mess- und der Referenzelektrode.

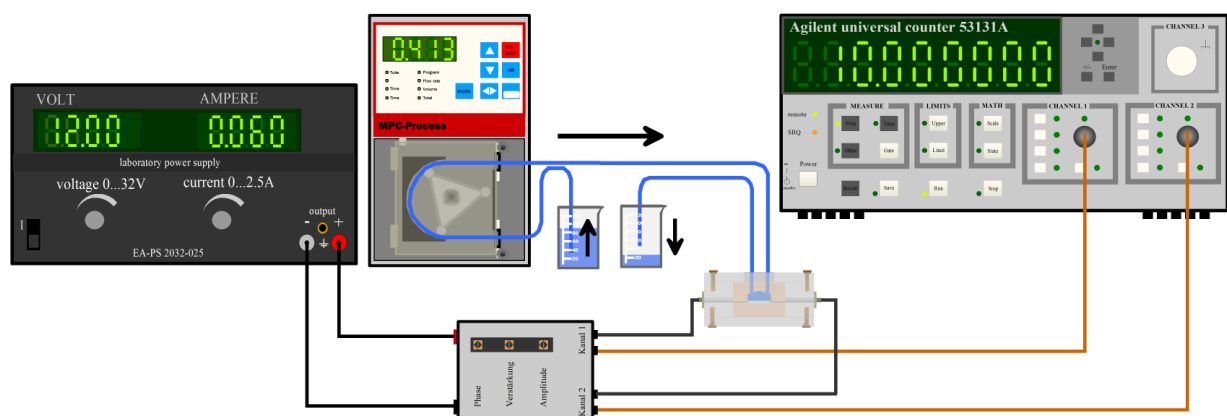


Abb. 35: Reinigungs- und Waschschrift bei der QCM-Messung: Spülen der Messzelle mit Deionat bei einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min; während dem Konditionieren wird abgewartet, dass sich die ausgelesene Frequenz stabilisiert und auf einen konstanten Wert einschwingt (Einschwingprozess des Schwingquarzes)

Wenn die Werte konstant sind, kann mit dem Messschritt begonnen werden. Dazu wird die Messzelle gegen die vorherige Pumprichtung mit der Probelösung befüllt. Dieses ist notwendig, damit keine Blutzellen durch die Peristaltikpumpe zerquetscht und für die Messung unbrauchbar werden. Sobald die Messzelle vollständig befüllt ist, wird die Pumpe abgestellt und gemessen, das heißt auf einen konstanten Messwert gewartet. Der Betrieb mittels Stopped-Flow-Prinzip ist deswegen notwendig, um keine Störungen durch Strömungseffekte zu erhalten. Diese beiden Schritte sind in Abb. 36 skizziert.

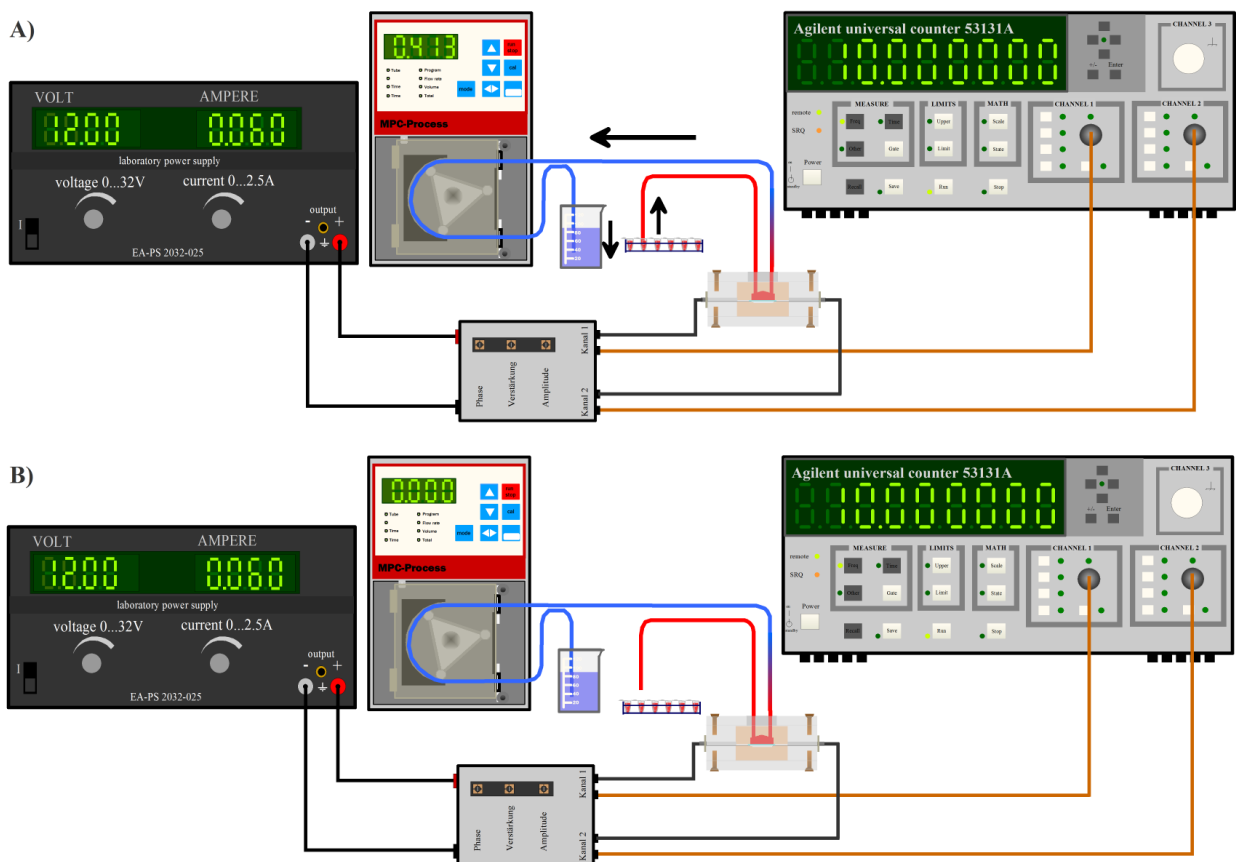


Abb. 36: Messschritt bei der QCM-Messung: **A:** Befüllen der Messzelle mit der Probelösung bei einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min; **B:** Messung bei gestoppter Pumpe und voll gefüllter Messzelle

Nach der Messung wird die Messzelle wieder mit einer Reinigungslösung (Deionat oder isotonische Kochsalzlösung) gewaschen, bis die gesamte Probelösung aus dem Schlauchsystem gepumpt wurde (siehe Abb. 37). Abschließend wird die Messzelle noch für 5 bis 10 Minuten gespült, damit keine weiteren Verunreinigungen in der Messzelle verbleiben.

Nach der Reinigung des Sensors kann dieser für eine neue Messung herangezogen werden und der Messzyklus beginnt von Schritt 1 an neu. Die Spüldauer für die erste Konditionierung kann dabei reduziert werden beziehungsweise, wenn die Messwerte die Anfangswerte wieder erreichen, ganz ausgelassen werden.

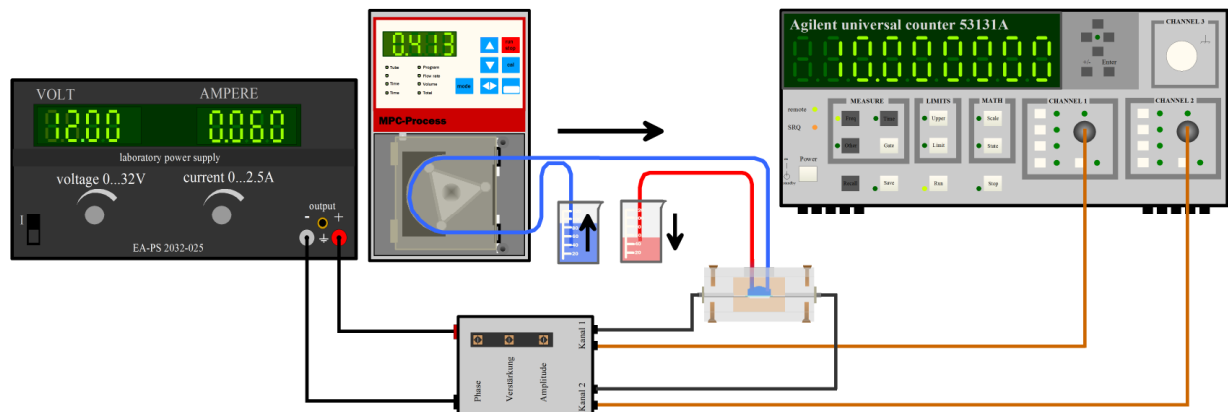


Abb. 37: Spülen der Messzelle nach einer Messung: Deionat wird durch die Zelle gepumpt, bis die Probelösung vollständig herausgespült ist; Pumpgeschwindigkeit: 0,413 ml/min

Bei Verwendung eines neu beschichteten Quarzes, wurde dieser vor der ersten Verwendung für mindestens 3 Stunden mit Deionat gespült, um etwaige noch vorhandene Monomermoleküle aus der Polymerschicht zu lösen. Dies ist notwendig, damit bei der Messung keine gravierenden und zufälligen Frequenzschwankungen, aufgrund der Herauslösung von den Molekülen beim Spülen, auftreten. Eine Erhöhung der Frequenz beim erstmaligen Spülen eines frisch beschichteten Quarzes konnte beobachtet werden, was auf das Herauswaschen der noch vorhandenen Templatmoleküle zurückzuführen ist. Des Weiteren werden dabei auch die Poren der Polymerschicht mit dem Lösungsmittel gefüllt und die Luft aus diesen verdrängt, was notwendig ist um im späteren Messverlauf keine Störungen zu erhalten.

3.6. Messmodi am LCR-Meter HP 4284 A⁵⁷

Für die Messung des Widerstandes, der Kapazität und der Induktivität stehen am LCR-Meter jeweils ein paralleler und ein serieller Modus zur Verfügung. Dabei ist die Auswahl der jeweiligen Anordnung von der erwarteten Größe des Messwertes und dem Verhalten bei der eingestellten Messfrequenz abhängig. Die minimalen und maximalen Werte, welche mittels des LCR-Meters bestimmt werden können, sind in der Tabelle 12 zusammengefasst.

Tabelle 12: Zusammenfassung der minimalen und maximalen erfassbaren Werte mittels des LCR-Meter HP 4284A

Parameter	minimaler Wert	maximaler Wert
Z , R, X	$1,0 \cdot 10^{-8} \Omega$	$9,99999 \cdot 10^7 \Omega$
Y , G, B	$1,0 \cdot 10^{-11} \text{ S}$	$9,99999 \cdot 10^1 \text{ S}$
C	$1,0 \cdot 10^{-17} \text{ F}$	$9,99999 \text{ F}$
L	$1,0 \cdot 10^{-11} \text{ H}$	$9,99999 \cdot 10^4 \text{ H}$

Zur Bestimmung des idealen Messmodus wird die bei dem jeweiligen Kapazitätswert errechnete Impedanz ermittelt. Dabei wird der Kehrwert der Impedanz, die Admittanz, herangezogen, wobei diese wie folgt errechnet wird:

$$\vec{Y} = \frac{1}{\vec{Z}} = G + i \cdot B \quad \text{Gleichung 36}$$

wobei

Y	...	Admittanz [S]
Z	...	Impedanz [Ω]
G	...	Konduktanz [S]
B	...	Suszeptanz [S]
i	...	imaginäre Einheit

mit $G = \frac{1}{R_p}$ wobei R_p für den parallelen Widerstand [Ω] der Schaltung steht, darstellt.

Trägt man die für die Admittanz ermittelte Funktion graphisch im komplexen Raum auf, so erhält man folgenden Zusammenhang mit der Konduktanz und der Suszeptanz, wie in der folgenden Graphik, Abb. 38, dargestellt ist.

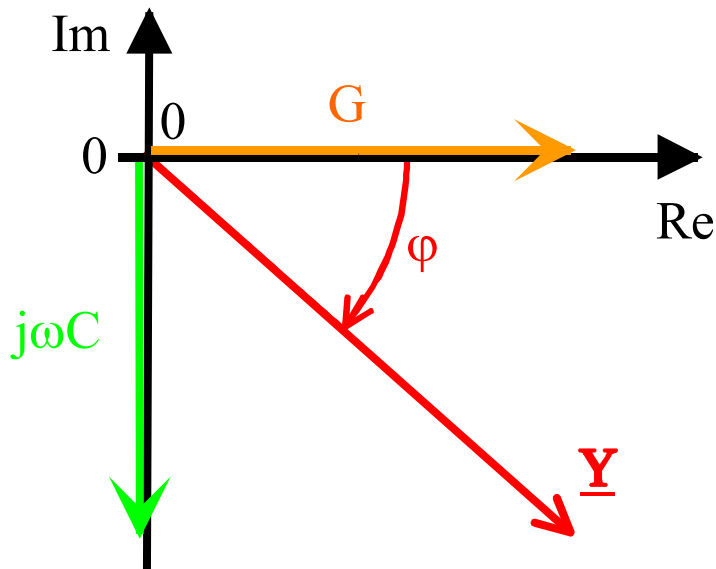


Abb. 38: Vektordarstellung der Admittanz in Abhängigkeit der Konduktanz und der Suszeptanz

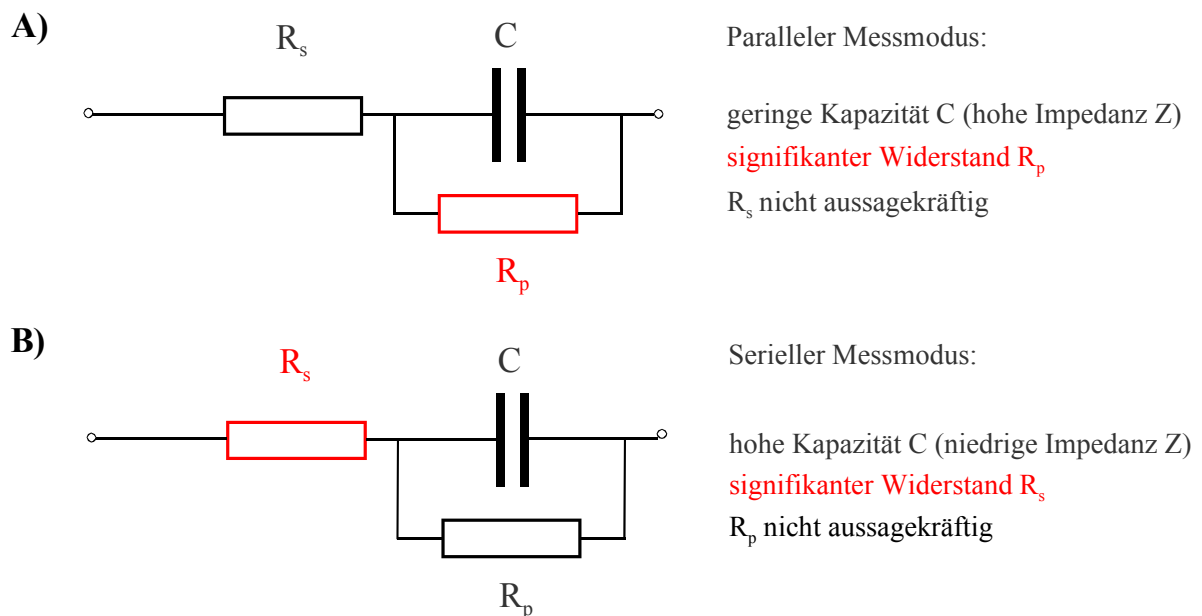


Abb. 39: Schaltungsanordnung für den parallelen und seriellen Messmodus im LCR-Meter HP 4284 A; **A:** Paralleler Messmodus für das Messen von geringen Kapazitäten; **B:** Serieller Messmodus für das Messen von hohen Kapazitäten

Wird nun eine geringe Kapazität (also eine hohe Impedanz) gemessen, ist ein großer Effekt des parallelen Widerstandes R_p auf die Reaktanz zu erwarten und es wird der parallele Messmodus am LCR-Meter ausgewählt, wie in Abb. 39 dargestellt ist. Der serielle Widerstand zeigt dabei nur einen geringfügigen Einfluss auf das Messsignal und kann daher vernachlässigt werden. Werden im Gegensatz dazu große Kapazitätswerte (beziehungsweise eine geringe Impedanz) gemessen, sinkt die Impedanz und der Einfluss des parallelen Widerstandes R_p auf die Messschaltung wird geringer, während der serielle Widerstand R_s für die Messung signifikant wird. Daher wird für Messungen einer hohen Kapazität der serielle Messmodus am LCR-Meter ausgewählt.

Für die folgenden Messungen wurde der parallele Messmodus herangezogen, da die zu bestimmenden Kapazitätswerte im Bereich von 1 bis 500 pF liegen und somit sich der daraus errechnete Widerstandswert ($16\text{ M}\Omega$ beziehungsweise $32\text{ k}\Omega$ bei 10kHz Messfrequenz) über dem Wert von $10\text{ k}\Omega$, ab dem vom Hersteller HP eine Verwendung des parallelen Messmodus empfohlen wird, befindet.

4. Ergebnisse

4.1. Kurvenformen der Messungen

4.1.1. Kurvenform der Kapazitätsmessungen

Für die Bestimmung der Kurvenform bei der Kapazitätsmessung wurde ein 10 µm-IDK verwendet. Als sensitive Schicht wurde Polyvinylpyrrolidon herangezogen. Die Prägung für diese Messung erfolgte mit einem A₁-Erythrozyten-Konzentrat mit $1,0 \cdot 10^7$ Zellen/µl. Es wurde eine Frequenz von 10 kHz und eine Spannung von 1 V angelegt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mit einer Peristaltikpumpe, welche mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min betrieben wurde. Eine A₁-Blutprobenlösung mit $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml diente als Messlösung und wurde in Deionat hergestellt. Die Lösung wurde sofort nach dem Zusammenmischen vermessen und wies somit ein Alter von unter 5 Minuten auf.

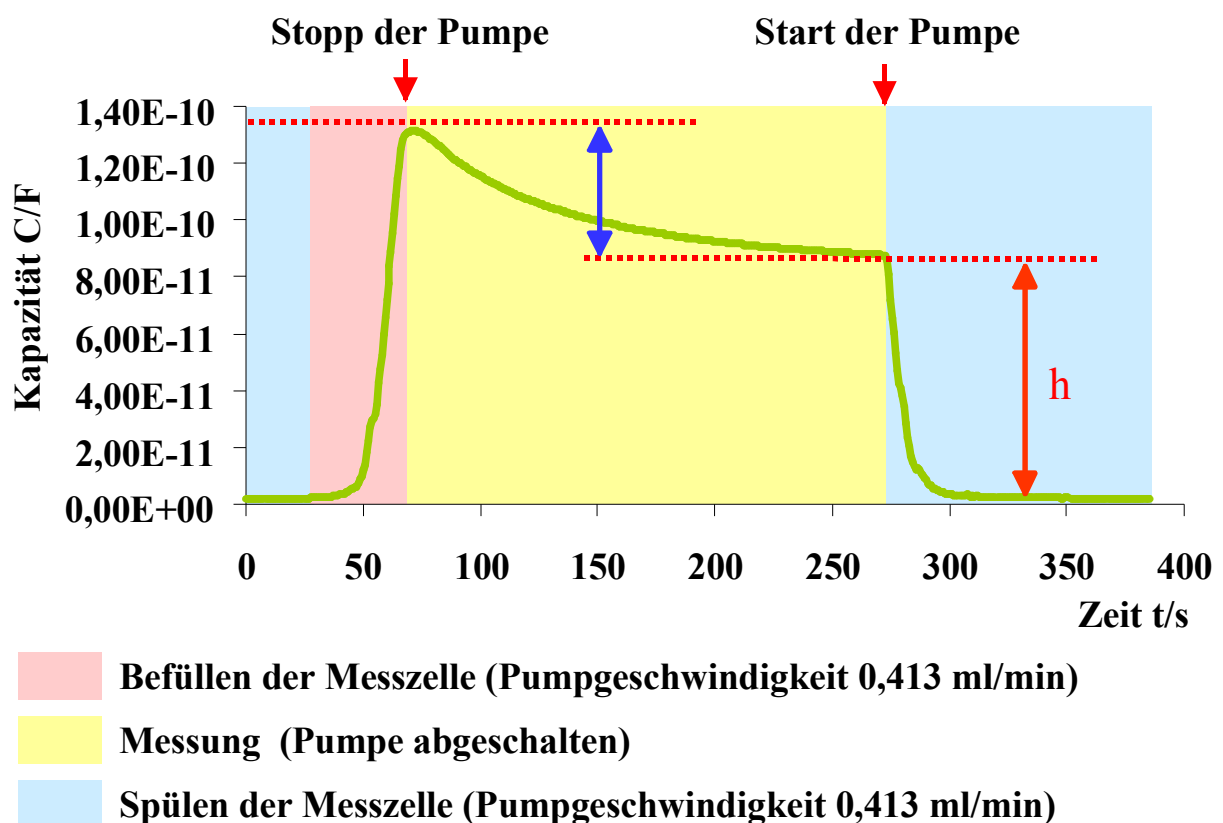


Abb. 40: Darstellung des Kurvenverlaufes der Kapazitätsmessung einer A₁-Blutprobenlösung mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml (in Deionat) mittels eines A₁-Sensors (Polyvinylpyrrolidon-Beschichtung) bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Das Befüllen der Messzelle erfolgte mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min mittels Peristaltikpumpe.

In Abb. 40 ist die bei der Kapazitätsmessung erhaltene Kurvenform dargestellt. Zu erkennen ist, dass die Kapazität beim Einpumpen der Probelösung in die Messzelle steil ansteigt und nach dem Erreichen ihres maximalen Wertes wieder abfällt. Hierbei wird der Pumpprozess, da die Messzelle vollständig gefüllt ist, gestoppt, wobei das Befüllen zirka 40 Sekunden beansprucht. Die Kapazität fällt anschließend weiter asymptotisch auf einen konstanten Wert ab. Dies ist in etwa 4 bis 5 Minuten nach dem Stoppen der Pumpe der Fall. Als Messwert wurde für alle Kapazitätsmessungen der Wert nach dem Erreichen des stabilen Kapazitätswertes herangezogen, welcher in der Abbildung als Höhe **h** eingezeichnet ist. Beim abschließenden Spülen der Messzelle ist ein sehr schnelles Abfallen der Kapazität zu beobachten, wobei nach bereits rund 30 Sekunden die Anfangskapazität erreicht wird.

Die in die Polymerschicht eingelagerten Blutzellen dienen dabei als Dielektrikum zwischen den beiden Elektrodenstrukturen des Interdigitalkondensators. Durch die Wechselwirkungen zwischen den auf der Erythrozytenmembran befindlichen Proteinen und Antigenen mit den Wechselwirkungsstellen in der Polymerkavität ist die Blutzelle bei gestoppter Pumpe fest in der Polymerschicht verankert. Passt die Blutzelle in die Kavität, also entspricht die Oberflächenstruktur der Probezelle jener mit der die Prägung der Polymerschicht erfolgte, so wird die Zelle fixiert und kann sich nicht frei bewegen. Durch diese Fixierung bietet die Blutzelle die optimalste Interaktion mit dem, durch die angelegte Spannung erzeugten, elektrischem Feld des Interdigitalkondensators, wie in Abb. 41 schematisch graphisch dargestellt ist. Wird die Zelle nur schwach gebunden, kann sich die Blutzelle von der Polymerschicht wieder in die Flüssigkeitsschicht oberhalb des Sensors bewegen und so aus dem Interaktionsfeld der Feldlinien des Kondensators entweichen. Ist keine Wechselwirkung vorhanden, beziehungsweise bestehen sogar repulsive Kräfte, so wird die Blutzelle nicht in das Polymer extrahiert und bleibt somit frei beweglich.

Da der Erythrozyt selbst durch seine Membran auch die Ausbildung eines Kondensators bewirkt, kommt es zu einer Verstärkung der Kapazität im System, da sich die Gesamtkapazität in einer parallelen Anordnung von Kondensatoren addieren lässt. Werden nun mehr Blutzellen in die Polymerschicht eingelagert, steigt die Kapazität des Systems an und kann gemessen werden. Dieser Effekt wird noch durch das Verringern des Zwischenraums der Interdigitalstruktur verstärkt. Wird der Abstand zwischen den sich aufladenden Elektroden verkleinert, nimmt die Kapazität zu, was im einfachsten Fall bei der Kapazitätsberechnung eines Plattenkondensators ersichtlich ist und in Kapitel 2.2 erörtert wurde.

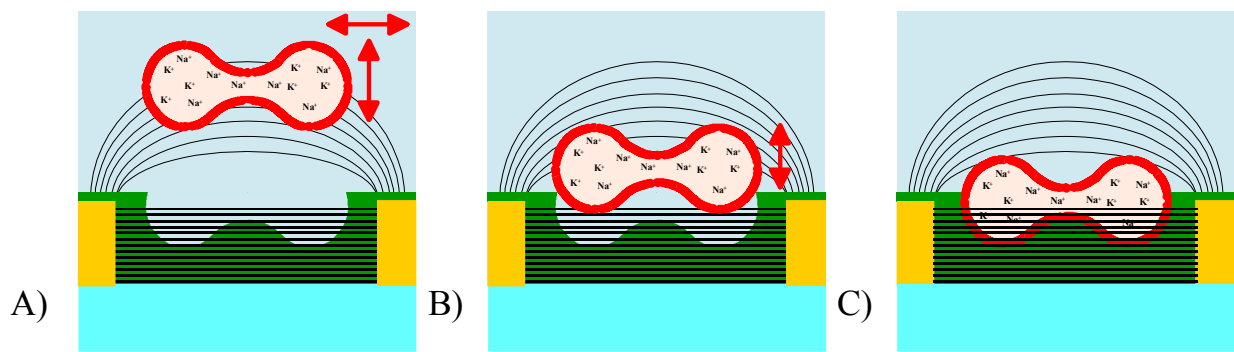


Abb. 41: Schematische Darstellung der Bewegungsfreiheit einer Blutzelle (nicht geplatzt in Deionat mit Na^+ - und Cl^- -Ionen in der Zelle): **A:** Blutzelle ist nicht in der Polymerschicht verankert und kann sich so in alle Richtungen bewegen; **B:** Blutzelle passt leicht in die Kavität und kann sich daher nur mehr in die Flüssigkeitsschicht nach oben weg bewegen; **C:** Blutzelle ist in die Polymerschicht verankert und kann sich nicht mehr frei bewegen

Je ähnlicher die Oberflächenstrukturen der einzelnen Blutgruppen zueinander sind, desto fester werden die Zellen in den Kavitäten verankert: Also entspricht die Probenblutgruppe jener Blutgruppe mit der das Polymer geprägt worden ist, können die Erythrozyten dieser Blutgruppe aufgrund ihrer fixierten Position besser mit dem elektrischen Feld interagieren, als wenn die Zelle nur schwach oder gar nicht festgehalten wird. Somit ist der gemessene Kapazitätswert umso höher, umso besser die Blutzelle in die Kavität passt und damit besser fixiert wird, wie in Abb. 42 schematisch abgebildet ist.

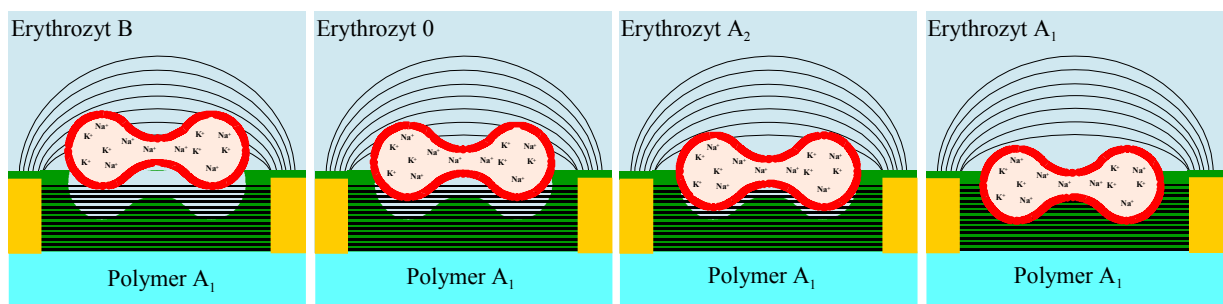


Abb. 42: Schematische Darstellung der Einlagerung Erythrozyten unterschiedlicher Blutgruppen (A_1 , A_2 , B, 0) in eine A_1 -geprägte Polymerschicht

Der in der Abb. 40 eingezeichnete Abfall (blauer Pfeil) der Kapazität ist einerseits auf die Stabilität der Blutzellen im verwendeten Lösungsmittel zurückzuführen, da die Messung in Deionat durchgeführt wurde. Die Erythrozyten befinden sich nicht mehr in einem isotonischen Umfeld und die Blutzellen platzen auf. Dadurch wird die Oberfläche, welche für die Ausbildung des Erythrozyten als Kondensator verwendet wird verkleinert und die Zelle passt aufgrund der

veränderten Oberflächenform nicht mehr so gut in die Kavität. Des Weiteren treten dadurch die in den Zellen befindlichen Ionen aus und es kommt zur Veränderung des Lösungsmittels in der Nähe des Polymers, das als Dielektrikum dient, wie in Abb. 43 zu sehen ist. Dabei weisen Zellen, welche die Höhe h besitzen, die größte Oberfläche und Interaktion mit dem elektrischen Feld auf und damit den höchsten Kapazitätswert bei der Messung, während geplatzte oder deformierte Blutzellen die Höhe x und damit einen niedrigeren Kapazitätswert erreicht. Auf der anderen Seite ist der Abfall auch auf Druckeffekte in der Messzelle zurück zuführen. Da der Messraum nur ein kleines Volumen aufweist, wird beim Einpumpen der Druck darin erhöht. Dieser nimmt beim Abstellen der Pumpe für den Messschritt wieder ab und eine Relaxation tritt auf. Dabei können an das Polymer angelagerte Zellen, welche durch den höheren Druck auf die Sensorschicht gepresst worden sind, wieder in die Lösung gelangen und somit aus dem Interaktionsbereich mit dem elektrischen Feld entweichen, was ebenfalls zu einer Abnahmen der Kapazität führt.

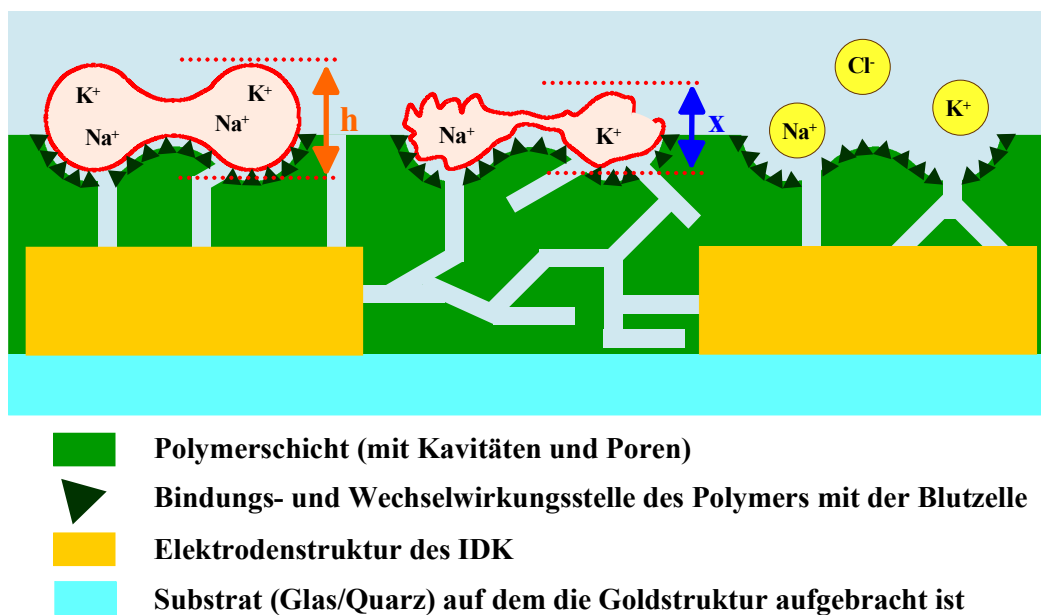


Abb. 43: Darstellung der Einlagerung von Blutzellen in die Kavitäten der Polymerschicht. Durch die vorhandenen Wechselwirkungsstellen werden die Blutzellen in den Kavitäten befestigt. Aufgrund der nicht isotonischen Bedingungen des Deionats platzen die Zellen auf und werden verformt, wodurch eine Verringerung der Interaktionsfläche erfolgt.

4.1.2. Kurvenform der Widerstandsmessungen

In Abb. 44 ist der Kurvenverlauf der Widerstandsmessung einer A₁-Blutprobe ($1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml) in Deionat als Lösungsmittel, mit hinein gezoomter Darstellung des Verlaufes bei gefüllter Messzelle, abgebildet. Für die Befüllung und Entleerung der Messzelle wurde eine Peristaltikpumpe mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min verwendet. Die Messfrequenz betrug, analog der Kapazitätsmessung, 10 kHz und die Messspannung 1 V.

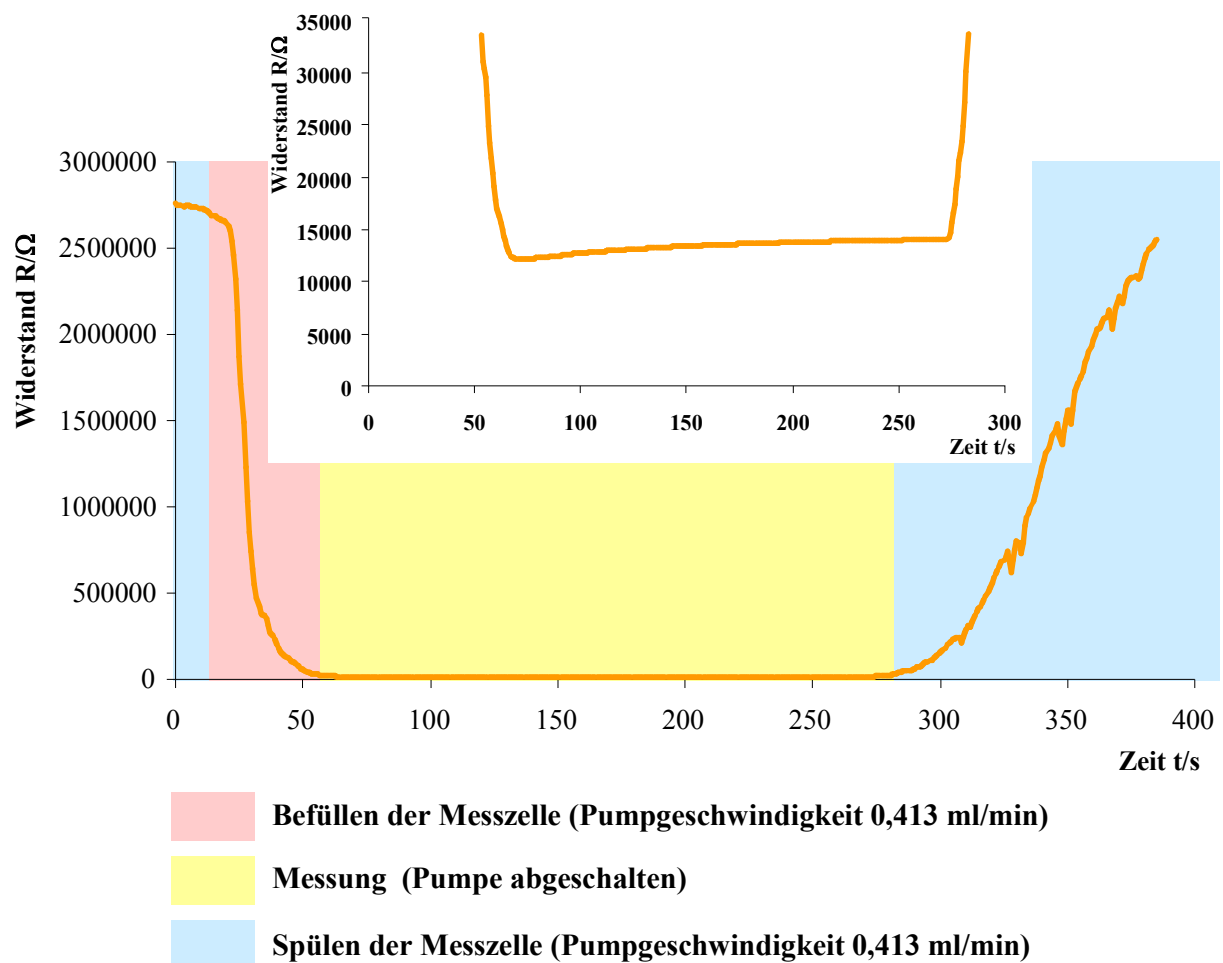


Abb. 44: Darstellung des Kurvenverlaufes der Widerstandsmessung einer A₁-Blutprobenlösung mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml (in Deionat) mittels eines A₁-Sensors (Polyvinylpyrrolidon-Beschichtung) bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Das Befüllen der Messzelle erfolgte mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min mittels Peristaltikpumpe.

Im Gegensatz zur Messung der Kapazität fällt der Widerstandswert beim Füllen der Messzelle ab. Dabei fällt der Widerstand anfangs, beim Umstellen der Pumpenrichtung, leicht ab. Erreicht die Probelösung die Messzelle und somit den IDK erfolgt der Abfall sehr schnell, und es stellt sich rasch ein annähernd gleichbleibender Widerstandswert ein. Dieser steigt geringfügig

während der Messung an, wobei diese Veränderung im Bereich von wenigen Hundert bis unter Hundert Ohm liegt. Als Messwert wurde der Widerstandswert am Ende der Messung herangezogen. Beim Spülen der Zelle mit Deionat, erfolgt das Ansteigen des Widerstandes relativ langsam im Vergleich zum Kapazitätswert und es kann bis zu einigen Minuten dauern, bis der Anfangswert wieder erreicht wird.

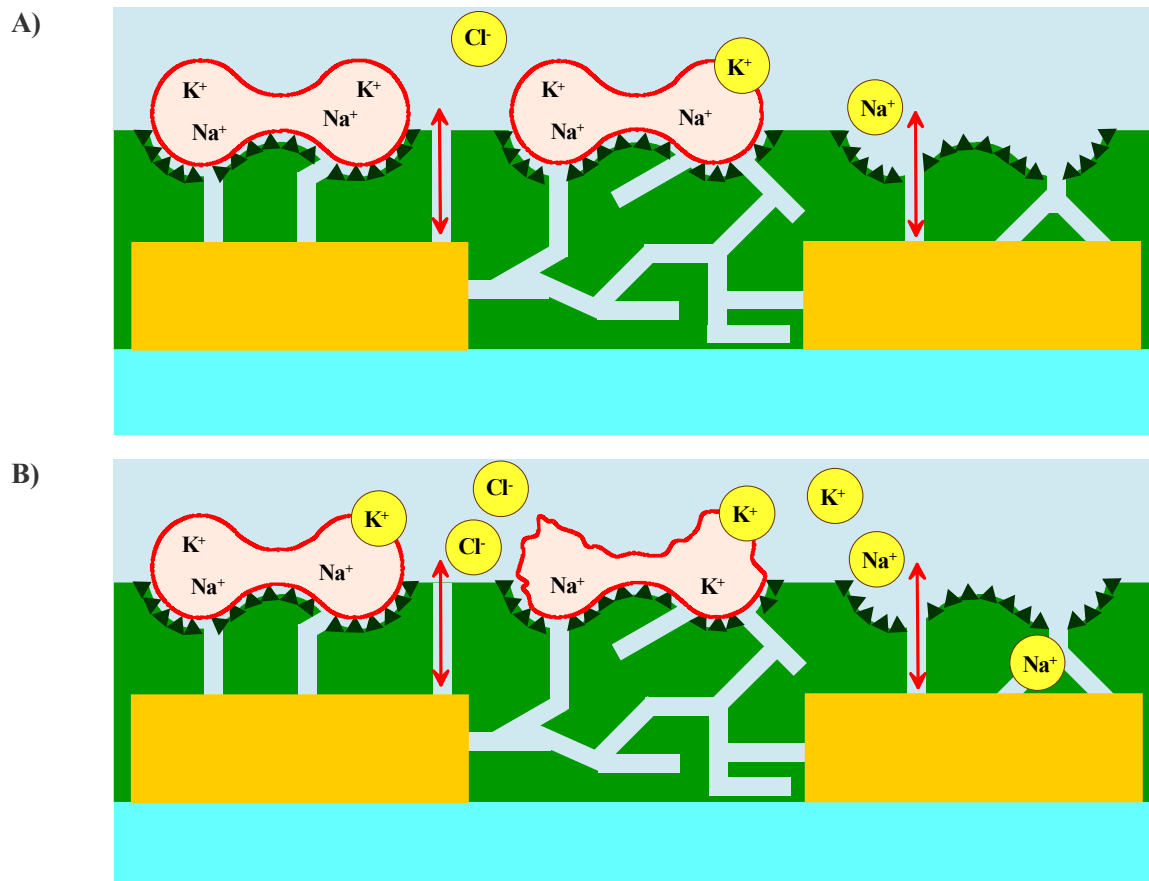


Abb. 45: Schematische Darstellung (ohne Einzeichnung der Feldlinien) der Anreicherung von Ionen an der Polymeroberfläche durch das Platzen der Erythrozyten in einem nicht isotonischen Lösungsmittel. **A:** Einlagerung der Blutzellen in die Kavitäten und Verschluss der Poren durch die Zellmembran. Durch das Platzen der Zellen gelangen Ionen der Zelle in die Lösung. **B:** Vollständiges Platzen der Zelle und Anreicherung von Ionen in der Lösung.

Die Abnahme des Widerstandes hat mehrere Ursachen, welche auf die Blutzelle, die Polymerstruktur und die Messlösung zurückzuführen sind. So besitzt das Polymer neben den Kavitäten für die Einlagerung der Analytmoleküle auch noch kleine Hohlräume, welche zwar für die Selektivität der Extraktion der Erythrozyten unterschiedlicher Blutgruppen nicht relevant sind, jedoch kleinen Moleküle und Ionen eine Einlagerung ermöglichen. Diese tragen bei, dass die geladenen chemischen Spezies aufgrund der Poren und Kanäle im Polymer zwischen den Elektroden wandern können. Das Ausmaß der Leitfähigkeitserhöhung ist abhängig von den in

der Lösung befindlichen Ionen und den zugängigen Hohlräumen der Polymerschicht. Die Konzentration der Ionen steigt jedoch durch das Einbringen von Erythrozyten in die Messzelle beziehungsweise in das nicht leitende Deionat an, da die Blutzellen platzen und so die Na^+ -, K^+ - und Cl^- -Ionen in die Lösung gelangen, wie in der Abb. 45 dargestellt ist. Passen die Zellen nun gut in die jeweiligen Kavitäten, erfolgt der Austritt der Ionen aus den Zellen und somit eine Anreicherung der im elektrischen Feld beweglichen Spezies in der Nähe der Poren.

Auf der anderen Seite werden die Poren im Polymer durch die Blutzellen verschlossen und so die Wanderung der Ionen zwischen den Elektroden verhindert und der Widerstand erhöht. Im Fall eines Lösungsmittels mit einer geringen Anzahl an Ionen, wie Deionat, überwiegt der Effekt, welcher aufgrund des Freisetzens von Na^+ -, K^+ - und Cl^- -Ionen aus der Blutzelle in die Lösung bewirkt wird. Die Kanäle im Polymer sind beim Beginn der Messung mit einem nicht leitenden Deionat gefüllt und weisen so einen hohen Widerstand auf. Durch das Einbringen der Blutzellen und durch deren Platzen wird die Ionenanzahl erhöht und die Ionen können in den Kanälen zwischen den Elektroden wandern. Dadurch steigt die Leitfähigkeit der Lösung an und der gemessene Widerstand sinkt ab. Wird als Medium für die Erythrozyten eine Lösung mit einer hohen Ionenkonzentration verwendet, so werden die Hohlräume bereits beim Spülen mit Ionen ausgefüllt. Diese tragen zu einer Erhöhung der Leitfähigkeit bei und somit zu einem geringeren Anfangswiderstandswert. Wird beispielsweise eine isotonische NaCl-Lösung als Lösungsmittel herangezogen, so sind in der Lösung 154 mmol Na^+ und Cl^- pro Liter enthalten. Diese Ionen können nun durch die im porösen Polymer vorhandenen Gänge zwischen den Elektroden der Interdigitalstruktur wandern, wie in Abb. 46 schematisch gezeichnet ist.

Wird die Möglichkeit der Bewegung der ionischen Spezies vermindert oder ganz unterbrochen, so steigt der Widerstand bei der Messung an. Die Reduktion der Migration der Ionen erfolgt beispielsweise, wenn sich eine Blutzelle in der Polymerschicht absetzt und so die Poren verdeckt, wobei die Zellmembran dabei als Sperrschicht fungiert und keinen Austausch mehr zulässt, wie in Abb. 47 zu sehen ist.

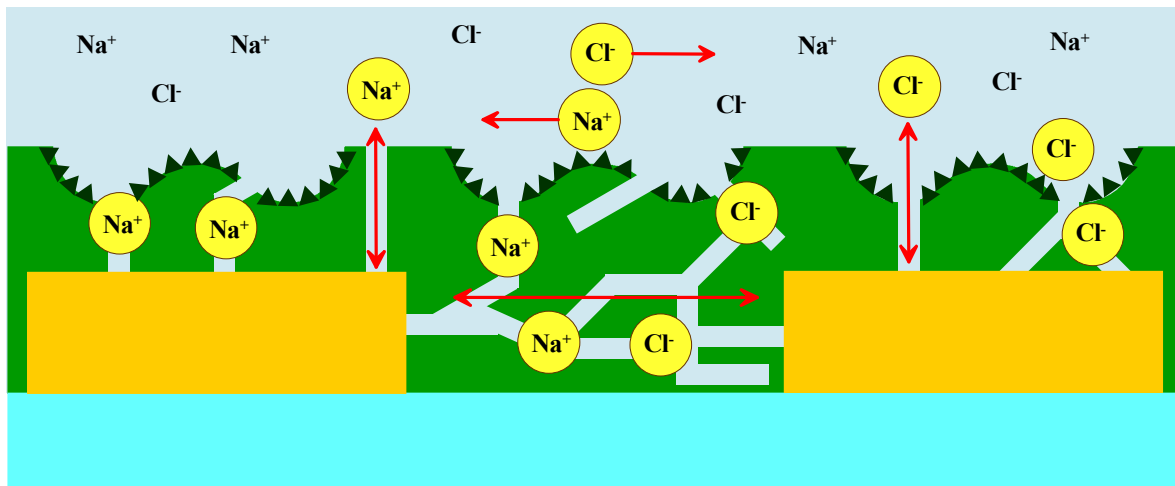


Abb. 46: Darstellung der Bewegung von Ionen zwischen den Elektroden eines IDK-Sensors mit einer Polymerschicht anhand des Beispiels einer Lösung von NaCl.

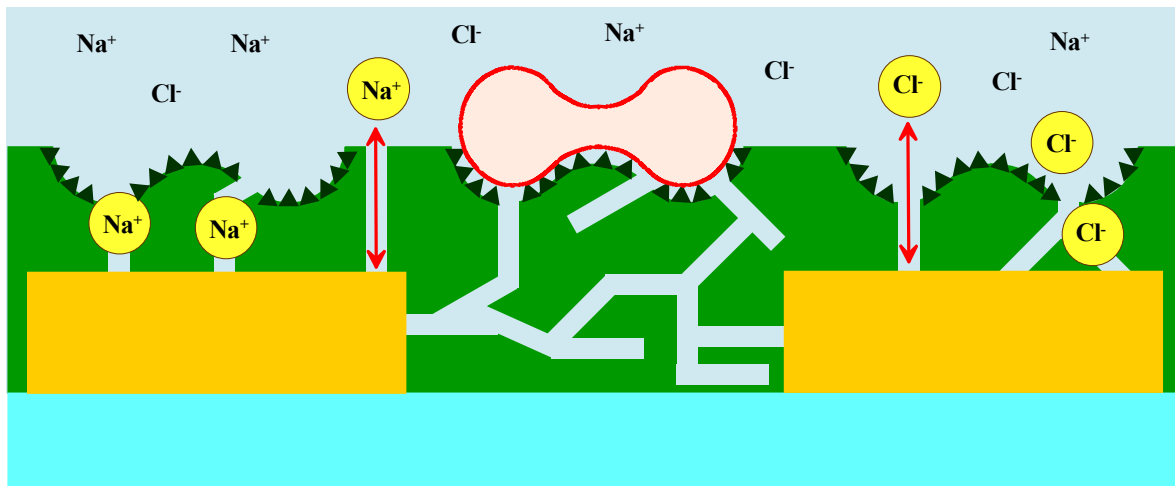


Abb. 47: Blockierung der Kanäle in der Polymerschicht durch das Einlagern von Erythrozyten in die Kavitäten der Polymerschicht.

Umso mehr Kanäle im Polymer abgedeckt und für die Ionenbewegung zwischen den Elektroden unbrauchbar gemacht werden, umso stärker steigt der Widerstand an. Das Messsignal wird mittels paralleler Widerstandsmessung mit dem LCR-Meter zugänglich, wie der Kurvenverlauf mit einer A₁-Blutzellenlösung in isotonischer NaCl-Lösung (Abb. 48) zeigt. Für diese Messung wurde eine Probelösung mit sehr hoher Erythrozytenkonzentration herangezogen ($c = 1,5 \cdot 10^9$ Erythrozyten/ml). Dies ist notwendig, um möglichst alle Kavitäten zu besetzen und damit eine große Anzahl an Poren für die Ionen unzugänglich zu machen. Wird im Vergleich dazu die Anzahl der Poren verringert, dass nur mehr eine einzige vorhanden ist, ist es möglich eine Ja-Nein-Aussage über die Anwesenheit des Analyten zu treffen. Dieses ist jedoch mit einer sehr geringen Änderung des Widerstandes verbunden.

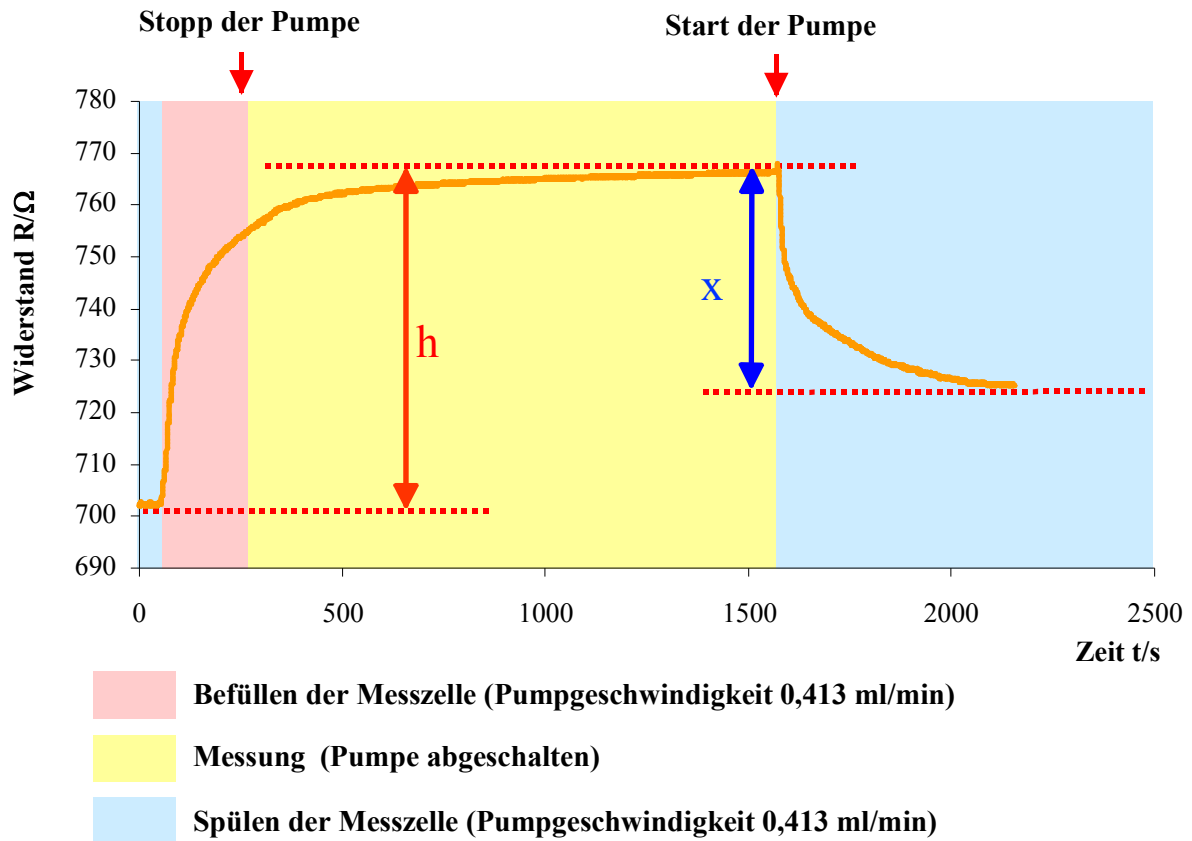


Abb. 48: Darstellung des Kurvenverlaufes der Widerstandsmessung einer A_1 -Blutprobenlösung mit einer Konzentration von $1,5 \cdot 10^9$ Erythrozyten/ml in einer isotonischer Kochsalzlösung mittels A_1 -Sensors (Polyvinylpyrrolidon-Beschichtung) bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Das Befüllen der Messzelle erfolgte mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min mittels Peristaltikpumpe. Die Messzelle wurde für 5 Stunden mit isotonischer Kochsalzlösung konditioniert.

Für die Messung in Abb. 48 wurde ein A_1 -Sensor mit einer Polyvinylpyrrolidon Beschichtung herangezogen. Die Messung erfolgte bei einer Frequenz von 10 kHz und einer angelegten Spannung von 1 V mittels parallelen Messmodus. Als Messlösung wurde eine A_1 -Blutlösung mit einer Konzentration von $1,5 \cdot 10^9$ Erythrozyten/ml herangezogen. Die Lösung wurde in einer isotonischen Kochsalzlösung (0,9w% NaCl beziehungsweise 154 mmol Na^+ und Cl^- pro Liter) hergestellt und als Spüllösung für den Sensor wurde ebenfalls eine isotonische Kochsalzlösung verwendet. Für die Konditionierung der Messzelle wurde diese vor Messbeginn für 5 Stunden mit der NaCl-Lösung gespült, um in allen Kanälen der Polymerschicht eine konstante Ionenkonzentration zu erreichen.

4.1.3. Kurvenform der Quarz-Mikrowaagen-Messungen

Für die folgende Messung wurde ein 10 MHz-Quarz mit einem Durchmesser von 15,5 mm mit einer Zwei-Elektrodenstruktur ($\varnothing_{\text{Elektrode}} = 5 \text{ mm}$) verwendet. Dabei diente eine Elektrode als Messelektrode und die andere als Referenzelektrode. Die Beschichtung der Elektroden erfolgte mittels Polyvinylpyrrolidon und die Prägung der Messelektrode mit einem Erythrozytenkonzentrat ($c = 1,0 \cdot 10^7 \text{ Zellen}/\mu\text{l}$) der Blutgruppe A₁. Die Schichtdicke des Polymers betrug rund 360 nm. Als Probelösung wurde eine A₁-Blutproben-Verdünnung mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^8 \text{ Erythrozyten/ml}$ in Deionat herangezogen. Es wurde eine Spannung von 12 V an die Oszillatorschaltung angelegt und die Frequenz mittels Frequenzzähler ausgelesen. Die Stromstärke betrug 60 mV. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mit einer Peristaltikpumpe, welche mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min betrieben wurde.

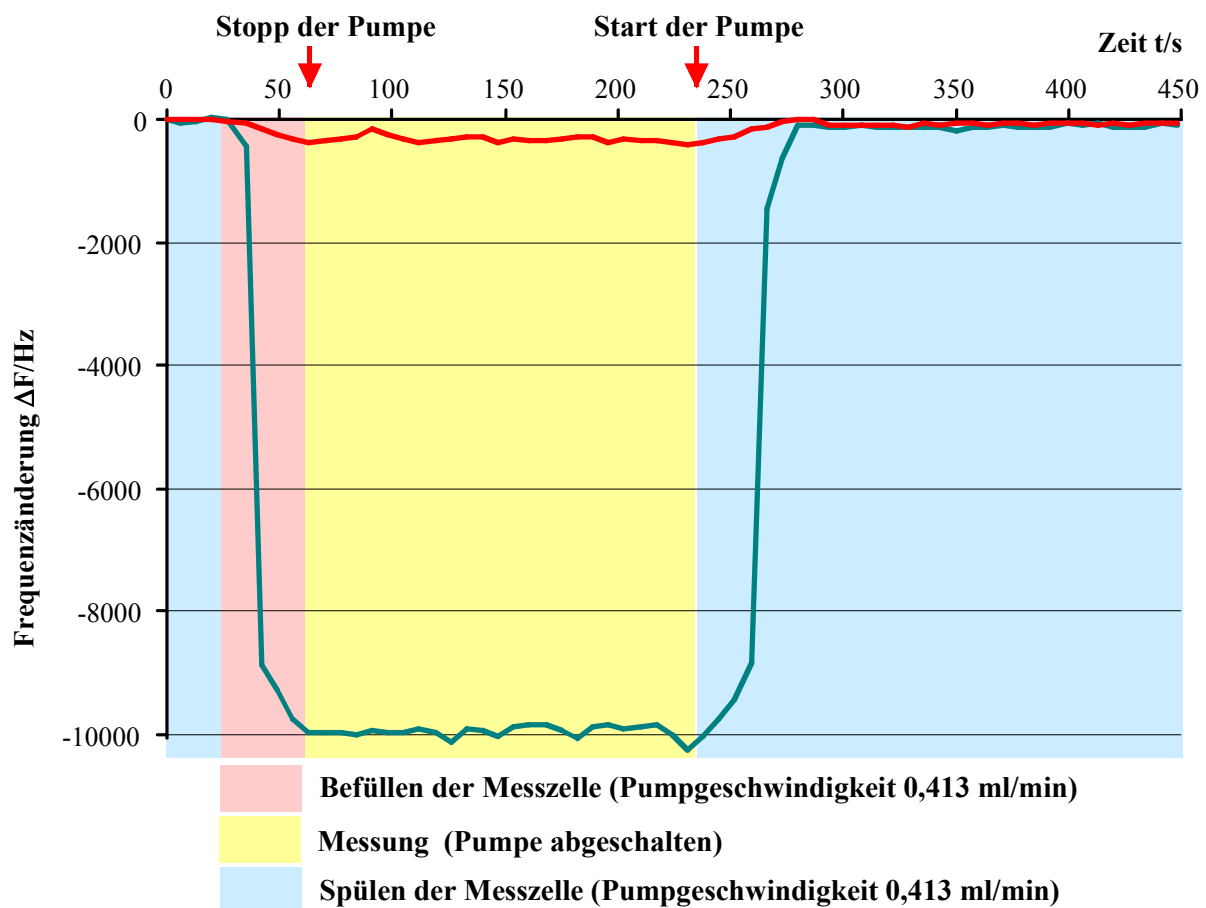


Abb. 49: Kurvenverlauf bei einer QCM-Messung mit einem 10 MHz-Quarz mit zwei Elektroden: **Grün:** Signal der Messelektrode; **Rot:** Signal der Referenzelektrode. Die Messelektrode wurde mit Polyvinylpyrrolidon und der Blutgruppe A₁ geprägt. Die Probelösung hatte eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8 \text{ Erythrozyten/ml}$ und Deionat diente als Lösungsmittel. Es wurde eine Spannung von 12 V angelegt.

Bei der Quarzmikrowaagenmessung wird durch die Einlagerung der Zellen in die Polymerschicht die Masse erhöht und bewirkt nach der Sauerbrey-Gleichung eine Frequenzerniedrigung, wie in Abb. 50 schematisch dargestellt ist. Diese ist dabei direkt proportional der angelagerten Zellen. Bei der Messung von Blutzellen werden dabei Frequenzänderungen bis in den kHz-Bereich gemessen. Da sich auch an der Referenzelektrode einige Erythrozyten anlagern beziehungsweise adsorbiert werden, zeigt auch diese eine Erniedrigung der Frequenz, da die Masse auf der Elektrode verändert wird. Jedoch zeigt die Referenz nur eine sehr geringe Erniedrigung im Bereich von 100 bis 300 Hz auf. Weiters hat die Veränderung des Fluids, also die Änderung der Viskosität durch die in der Lösung vorhandenen Erythrozyten, auch einen Einfluss auf die Frequenz, wie in Kapitel 2.3.2 beschrieben. Daher ist es notwendig zum Vergleich unterschiedlicher Lösungen immer auf dieselbe Erythrozytenkonzentration, Ionenkonzentration und dasselbe Lösungsmittel zu achten.

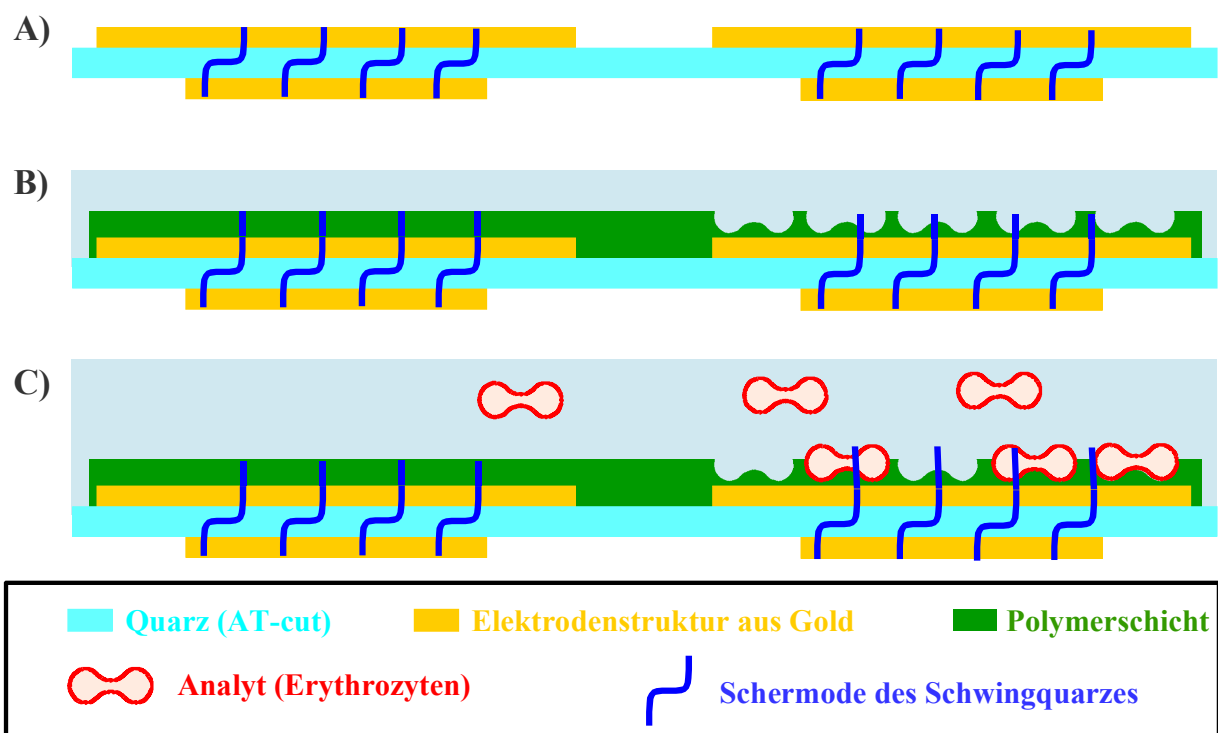


Abb. 50: Schematische Darstellung der Einlagerung von Blutzellen und der Veränderung der Masse und somit der Schermode des Schwingquarzes: **A:** Schwingquarz mit zwei Elektroden an der Luft; **B:** Schwingquarz mit zwei beschichteten Elektroden (geprägt und ungeprägt) umgeben von einem Fluid; **D:** Einlagerung von Blutzellen in das Polymer auf der geprägten Elektrode

4.2. Pumpeffekte bei der IDK-Messung

Für die folgenden Messungen wurden ein A₂-beschichteter und ein unbeschichteter 10 µm-IDK-Sensor herangezogen. Die Pumpgeschwindigkeit betrug 0,413 ml/min. Als Probelösung wurden sechs A₂-Erythrozytenlösungen mit einer Konzentration von jeweils $1,5 \cdot 10^8$ Zellen/ml in Deionat hergestellt. Die Verweildauer der Zellen in der Lösung wurde so kurz wie möglich gehalten und war unter 5 Minuten. Damit sollen die Blutzellen ihre bikonkave Form beibehalten und so eine bestmögliche Passform für die Kavitäten aufweisen. Die Messzellen wurden jeweils 3 Stunden mit Deionat gespült, um konstante Anfangsbedingungen zu erhalten. Mit diesen Messungen soll das Verhalten der Messzelle bei der Zufuhr von weiteren Analytzellen bestimmt werden.

Wie bereits oben beschrieben, wird beim Abstellen der Pumpe nach dem Füllen der Messzelle ein Gleichgewichtszustand abgewartet, so steigt der Messwert der Kapazität auf einen Wert von rund 51 pF an und der Widerstand fällt auf 14,3 kΩ ab. Werden nun in dieses Gleichgewichtssystem neue Blutzellen eingepumpt, das heißt eine frische Probelösung mit der gleichen Konzentration an Erythrozyten in die Messzelle eingefüllt, so steigt die Kapazität erneuert an und der Widerstand sinkt dabei ab und es stellt sich ebenfalls nach einiger Zeit wieder ein konstanter Messwert ein. Dabei erreicht die Kapazität einen Wert von 102 pF und der Widerstand wird auf 9,8 kΩ erniedrigt. Werden nochmals frische Erythrozyten in die Messzelle nachgepumpt, kann dieser Effekt erneut beobachtet werden, wobei sich die Kapazität auf einen Wert von 141 pF und der Widerstand auf einen Wert von 8,2 kΩ einstellt. Die Messwertänderung nimmt mit der Anzahl der Pumpschritte ab und nach mehrmaligem Wiederholen des Nachpumpschrittes, ist nur mehr ein kleiner Effekt sichtbar, wie in Abb. 51 ersichtlich ist. Dabei werden die Kapazität nur mehr um rund 1 bis 2 pF und der Widerstand um etwa 30 bis 50 Ω pro Pumpschritt verändert.

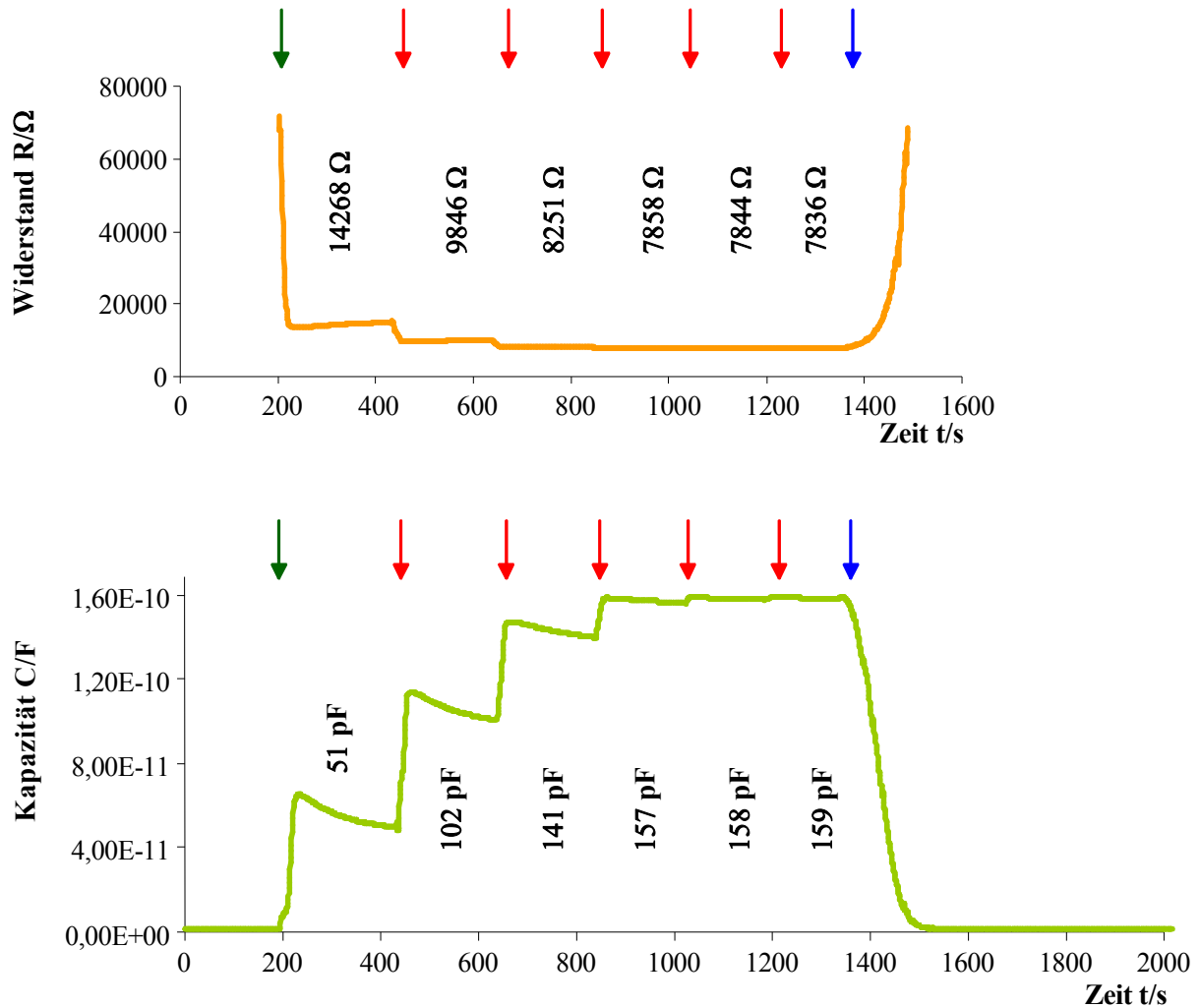


Abb. 51: Nachpumpeffekt des IDK-Sensors: **grüner Pfeil:** Befüllen der Messzelle (Befülldauer: 30 s); **roter Pfeil:** Nachpumpen einer frischen Blutlösung (Pumpzeit 30 s); **blauer Pfeil:** Entleeren und Spülen der Messzelle. Für die Messung wurde ein A₂-geprägter IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) verwendet. Die Blutlösung wurde aus einem A₂-Erythrozytenkonzentrat hergestellt und hat eine Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Zellen/ml (Lösungsmittel: Deionat). Die Messfrequenz betrug 10 kHz und es wurde eine Spannung von 1 V angelegt. Die Pumpe wurde mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min betrieben.

Der Effekt, dass sich die Messwerte durch erneutes Einbringen von Analyt-Zellen ändern, kann auf die Einlagerung und Fixierung der Blutzellen in der Polymerschicht zurückgeführt werden. Während des ersten Einfüllens werden die Kavitäten der Polymerschicht nicht vollständig besetzt und es bleiben Plätze frei, die bei einem nochmaligen Zuführen von Blutzellen aufgefüllt werden können. Des Weiteren ist es für Blutzellen möglich sich über andere, schon fixierte Blutzellen, zu legen, wodurch sich die Interaktionsmöglichkeit mit dem elektrischen Feld erhöht. Beide Effekte führen zu einem Anstieg der Kapazitätswerte. Aufgrund der höheren Anzahl an Ionen in der Lösung und der damit verbundenen Erhöhung der Leitfähigkeit führt das Nachpumpen zu einer weiteren Erniedrigung des Widerstandes, da die Ionen aufgrund der

Kanäle im Polymer zwischen den Elektroden wandern können. Sind jedoch alle Kavitäten belegt und die Blutzellen soweit übereinander aufgestapelt, dass keine weitere Verbesserung beziehungsweise Verstärkung der Wechselwirkung zwischen den Erythrozyten und dem elektrischen Feld aufgrund der neu eingepumpten Erythrozyten erfolgt, bleiben die Messwerte der Kapazität konstant. Aufgrund der vollständigen Belegung der Kavitäten, nimmt auch die Anzahl der zugänglichen Poren im Polymer ab und der Widerstand wird nicht mehr weiter verkleinert, da die Ionen nicht mehr in die Kanäle eindringen können. Eine schematische Darstellung dieser beiden Vorgänge ist in der nachstehenden Graphik zu sehen.

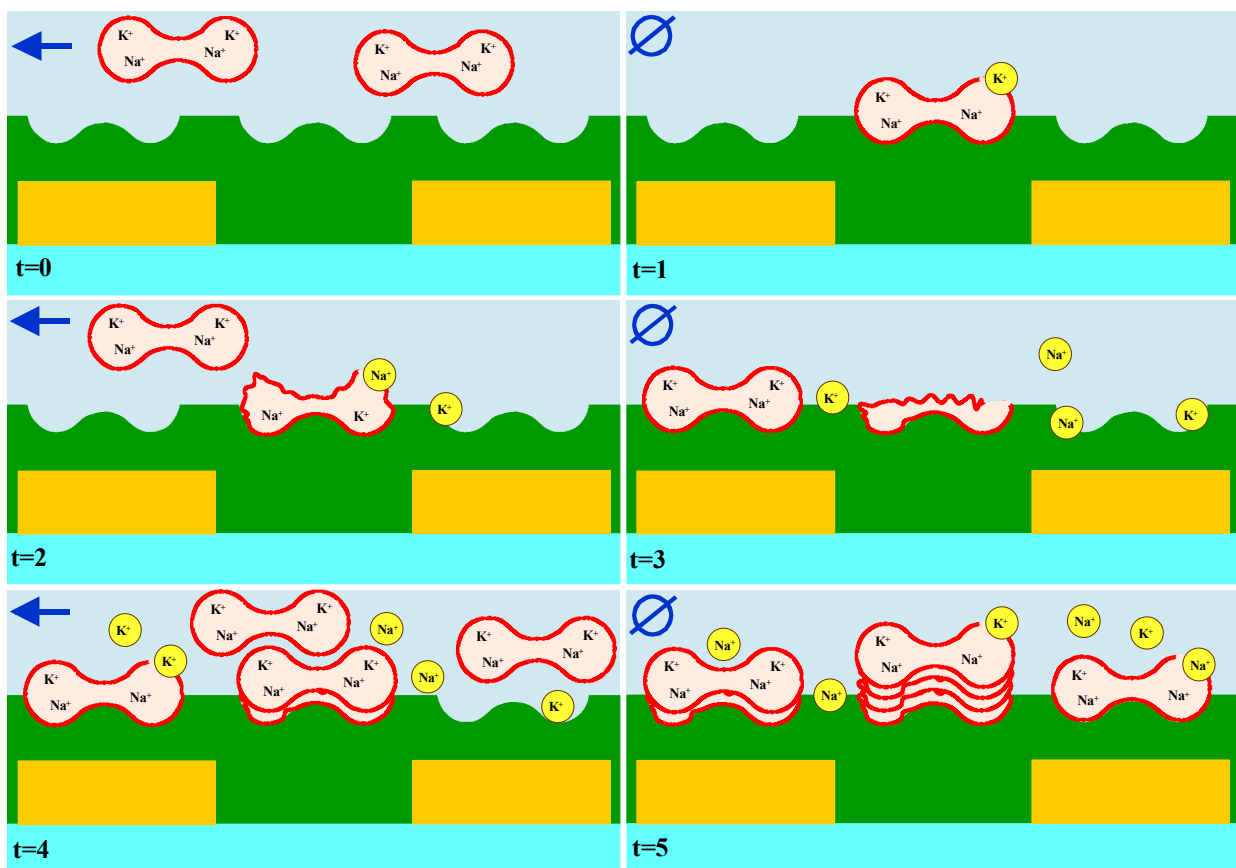


Abb. 52: Schematische Darstellung des Verlaufs der Einlagerung der Blutzellen beim Nachpumpen (←: Pumpe (0,413 ml/min); Ø: Pumpe abgestellt); **t=0:** Befüllung der Messzelle; **t=1:** Platzen der eingelagerten Blutzelle in der Deionat-Umgebung; **t=2:** erstes Nachpumpen von neuen Blutzellen; **t=3:** Einlagerung der neuen Zellen in den noch nicht besetzten Kavitäten; **t=4:** Besetzung nach mehrmaligem Nachpumpen, Einlagerung von Blutzellen in freie Kavitäten und in Kavitäten mit bereits geplatzten Blutzellen; **t=5:** befüllte Polymerschicht mit Blutzellen, teilweise befüllen mehrere aufgeplatzte Zellen eine Kavität

Wird für die Messzelle ein unbeschichteter 10 µm-IDK verwendet erfolgt keine Extraktion der Blutzellen in eine Polymerschicht, daher sollte der Effekt nicht auftreten, da sich die Zellen zwischen den Leiterbahnen, auf den Leiterbahnen und in der darüber stehenden Lösung frei

bewegen können. Die Messkurven der Widerstandsmessung und der Kapazitätsmessung sind in der folgenden Abb. 53 abgebildet. Für die Messung wurden sechs A₂-Erythrozytenlösungen mit einer Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Zellen/ml in Deionat und eine A₂-Blutlösung mit $3,0 \cdot 10^8$ Zellen/ml hergestellt. Die höher konzentrierte Lösung wurde am Ende in die Messzelle gepumpt. Das Befüllen und Entleeren erfolgte mittels Peristaltikpumpe, welche mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min betrieben wurde. Dazu wurde die Pumpe für eine Dauer von rund 30 s eingeschaltet und eine neue Probelösung nachgepumpt. Als Messfrequenz wurde 1 MHz verwendet, da bei dieser Frequenz die Kurvenformen des blanken IDK ähnlich jener des beschichteten IDK ist, wie in Kapitel 4.3.1 erörtert wurde.

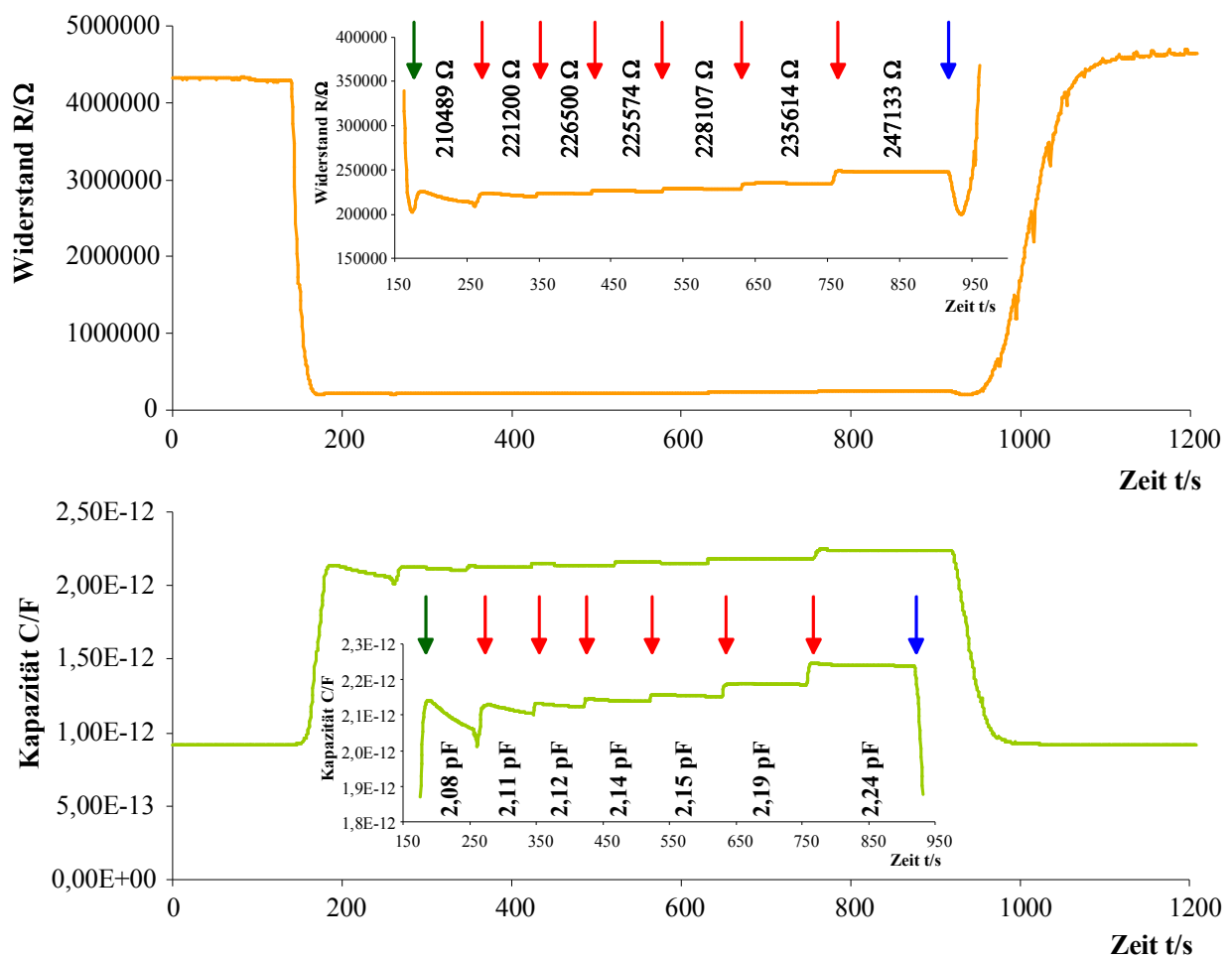


Abb. 53: Kurvenverlauf der Widerstandsmessung (oben) und der Kapazitätsmessung (unten) mit einem unbeschichteten 10 µm-IDK und mit einer A₂-Erythrozyten-Probelösung ($c=1,5 \cdot 10^8$ Zellen/ml beziehungsweise beim letzten Nachpumpen: $c=3,0 \cdot 10^8$ Zellen/ml) bei einer Messspannung von 1 V und einer Messfrequenz von 1 MHz: **grüner Pfeil:** Befüllen der Messzelle; **roter Pfeil:** Nachpumpen einer frischen A₂-Blutprobenlösung; **blauer Pfeil:** Entleeren und Spülen der Messzelle

Bei der Widerstandsmessung fällt der Widerstand zuerst ab, steigt innerhalb der ersten Minute auf einen Konstanten Wert an. Bei einem weiteren Pumpschritt, steigt der Widerstand geringfügig von 210 k Ω auf 221 k Ω an. Die weiteren Veränderungen sind annähernd konstant und belaufen sich auf 4 bis 6 k Ω . Bei der Zugabe der höher konzentrierten Lösung wurde eine Widerstandsänderung von 12 k Ω beobachtet. Im Gegensatz zu der Messung mit dem beschichteten IDK zeigt diese Messung, dass der Widerstand auch nach mehrmaligem Nachpumpen noch immer veränderbar ist. Dabei steigt der Widerstand an, da die Blutzellen, welche platzen, sich auf die Goldstruktur des IDK absenken und so die Interaktion der Ionen mit den Elektroden verhindert. Auch wenn frische Blutzellen in die Messzelle gepumpt werden, bleiben einige Elektrodenstellen mit der Zellmembran der geplatzten Zellen belegt und es wird keine weitere Minimierung des Widerstandes erreicht, wie in der Widerstandskurve in Abb. 53 zu erkennen ist.

Die Kapazitätskurve der Messung gleich nach dem Befüllen der Messzelle zeigt einen ähnlichen Kurvenverlauf, wie er bei dem beschichteten IDK zu sehen war: Die Kapazität steigt an wenn die Probelösung in die Messzelle gepumpt wird und fällt anschließend asymptotisch ab. Dabei konnte bei der ersten Messung eine Kapazität von 2,14 pF am Maximum und 2,08 pF am Endpunkt des Abfalls bestimmt werden. Dieses erfolgt aufgrund der Positionierung der Erythrozyten zwischen den Leiterbahnen. Damit erfolgt wie bei der Messung mit einer sensitiven Polymerschicht eine bessere Interaktion mit dem elektrischen Feld des IDK, wobei bei der Verwendung eines unbeschichteten IDK die Blutzellen nicht fixiert werden, sondern sich frei bewegen können. Pumpt man nun nochmals Blutzellen in das System steigt die Kapazität auf 2,11 pF, was annähernd der ersten gemessenen Kapazität entspricht, an. Bei den weiteren Nachpumpschritten, steigt die Kapazität um etwa 0,03 bis 0,04 pF an, wobei beim letzten Schritt mit der $3,0 \cdot 10^8$ Zellen-Lösung ein Anstieg von 0,05 pF zu beobachten war.

In Tabelle 13 sind die absoluten Werte aus der Messung mit einem beschichteten und einem unbeschichteten IDK-Sensor und deren Veränderung zum Anfangsmesswert in Prozent aufgelistet. Werden diese Werte mit dem beschichteten Interdigitalkondensator verglichen, zeigt sich, dass bei Anwesenheit einer sensitiven Schicht beim Nachpumpen ein höherer Effekt bei den Widerstands- und Kapazitätswerte zu beobachten ist. Dieser nimmt jedoch bei mehrmaligem Zuführen von Blutzellen ab. Des Weiteren ist bei der Widerstandsmessung mit dem beschichteten Sensor eine Abnahme des Widerstandes gemessen worden, während bei einem unbeschichteten Sensor ein Anstieg zu verzeichnen war. Bei einem unbeschichteten

Interdigitalkondensator sind die Zunahmen der Kapazität und des Widerstandes nur beim ersten Befüllen stark ausgeprägt und zeigt im späteren Verlauf einen geringeren, aber dafür konstanten, Effekt auf.

Tabelle 13: Messwerte der Kapazitäts- und Widerstandsmessung bei einem A₂-geprägten (Polyvinylpyrrolidon-Schicht) und einem unbeschichteten 10 µm-IDK-Sensor mit einer A₂-Erythrozyten-Probeflösung (c=1,5*10⁸ Zellen/ml bzw. c=3,0*10⁸ Zellen/ml) in Deionat bei einer Messfrequenz von 10 kHz (geprägter Sensor) und 1 MHz (ungeprägter Sensor) mit einer Messspannung von 1 V.

Nach- pump- schritt	A ₂ -geprägter Sensor				unbeschichteter Sensor			
	Kapazität C		Widerstand R		Kapazität C		Widerstand R	
	[pF]	% [†]	[kΩ]	% [†]	[pF]	% [†]	[kΩ]	% [†]
1	40,98	100,0	15,05	100,0	2,0468	100,0	212,62	100,0
2	100,82	202,3	10,09	67,1	2,1134	103,3	221,20	104,0
3	140,89	282,7	8,37	55,6	2,1249	103,8	222,99	104,9
4	157,72	316,5	7,86	52,3	2,1386	104,5	225,57	106,1
5	159,32	319,6	7,83	52,1	2,1526	105,2	228,13	107,3
6	158,35	317,7	7,83	52,0	2,1856	106,8	234,29	110,2
7*	-	-	-	-	2,2386	109,4	247,11	116,2

*Probeflösung mit einer Konzentration von 3,0*10⁸ Erythrozyten/ml

[†]Prozent ausgehend vom Messwert der ersten Befüllung mit der Probeflösung (c=1,5*10⁸ Erythrozyten/ml)

Im Gegensatz zu den oben aufgenommenen Messkurven soll bei den folgenden Messungen ein kontinuierlicher Probenlösungsstrom über den Sensor gepumpt werden. Dazu wurden ebenfalls ein A₂-beschichteter und ein unbeschichteter 10 µm-IDK-Sensor herangezogen. Die Pumpgeschwindigkeit mittels Peristaltikpumpe betrug 0,413 ml/min und als Probeflösung wurde eine A₂-Erythrozytenlösung mit einer Zellenkonzentration von 1,5*10⁸ Zellen/ml in Deionat hergestellt. Um die Konditionen für die Zellen gleichbleibend zu lassen, wurden während der Messung immer wieder neue Probeflösungen hergestellt und alle 240 Sekunden eine neue hergestellte Probeflösung angesaugt. Damit soll vermieden werden, dass schon geplatze Zellen in die Messzelle gepumpt werden und so keinen oder nur einen verminderten Effekt auf die Messung des Widerstandes oder der Kapazität verursachen.

Durch Heranziehen eines beschichteten IDK als Sensor konnte die in Abb. 54 dargestellte Widerstands- und Kapazitätskurve aufgenommen werden. Dabei wurde beobachtet, dass der

Widerstandswert beim Befüllen der Messzelle abfällt und bei der Kapazitätsmessung ansteigt. Die Messkurven zeigen, dass beim Durchpumpen der Blutprobe die Messwerte in einem konstanten Signalbereich bleiben. Bei der Kapazitätsmessung sinkt die Kapazität in den ersten 10 Minuten ab und steigt nach kurzem Verweilen wieder auf einen niedrigeren Wert an. Dieses wiederholte sich 3-mal bis der Wert konstant blieb. Beim Entleeren der Messzelle wurde ein Zurückfallen der Kapazität auf den Ausgangswert beobachtet. Bei der Widerstandsmessung steigt der Widerstand gering an und sinkt danach kurz wieder ab. Danach stellt sich ein konstanter Messwert ein, der bis zur Spülung der Messzelle mit Deionat gehalten wurde. Bei beiden Messungen konnte eine gute Reversibilität des Sensorsystems beobachtet werden, da beim Spülprozess die Messwerte wieder auf den jeweiligen Anfangswert zurück gehen.

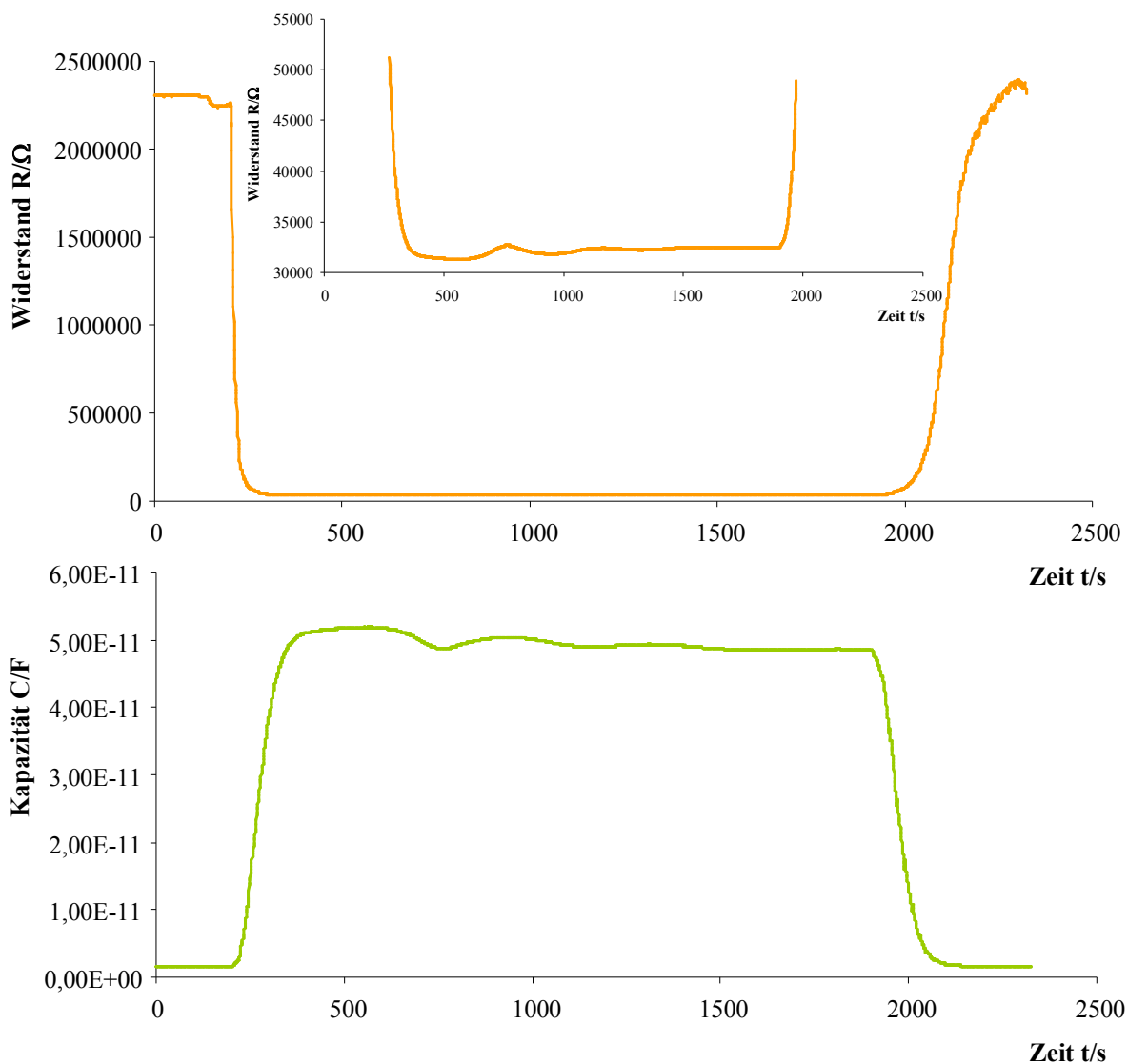


Abb. 54: Durchpumpen einer A₂-Blutprobenlösung ($1,5 \cdot 10^8$ Zellen/ml) in Deionat über einen IDK-Sensor mit einer A₂-geprägten Polyvinylpyrrolidonschicht. Das Pumpen erfolgte mittels einer Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min. Die Messfrequenz betrug 10 kHz und die Messspannung 1 V.

Bei der Messung mit dem beschichteten Interdigitalkondensator konnte weiters beobachtet werden, dass die Kapazitätsänderungen sehr rasch erfolgen, während die Widerstandsmessungen eine längere Responsdauer aufweisen. Besonders beim Spülprozess benötigt der Widerstandswert wesentlich länger, um wieder auf den Ausgangswert zu gelangen, als die Kapazität. Dieses ist darauf zurück zu führen, dass in den Poren des Polymers Ionen eingeschlossen sind, welche erst nach längerem Spülen aus diesen herausgewaschen werden können, während die Blutzellen aus den Kavitäten sehr schnell herausgelöst werden.

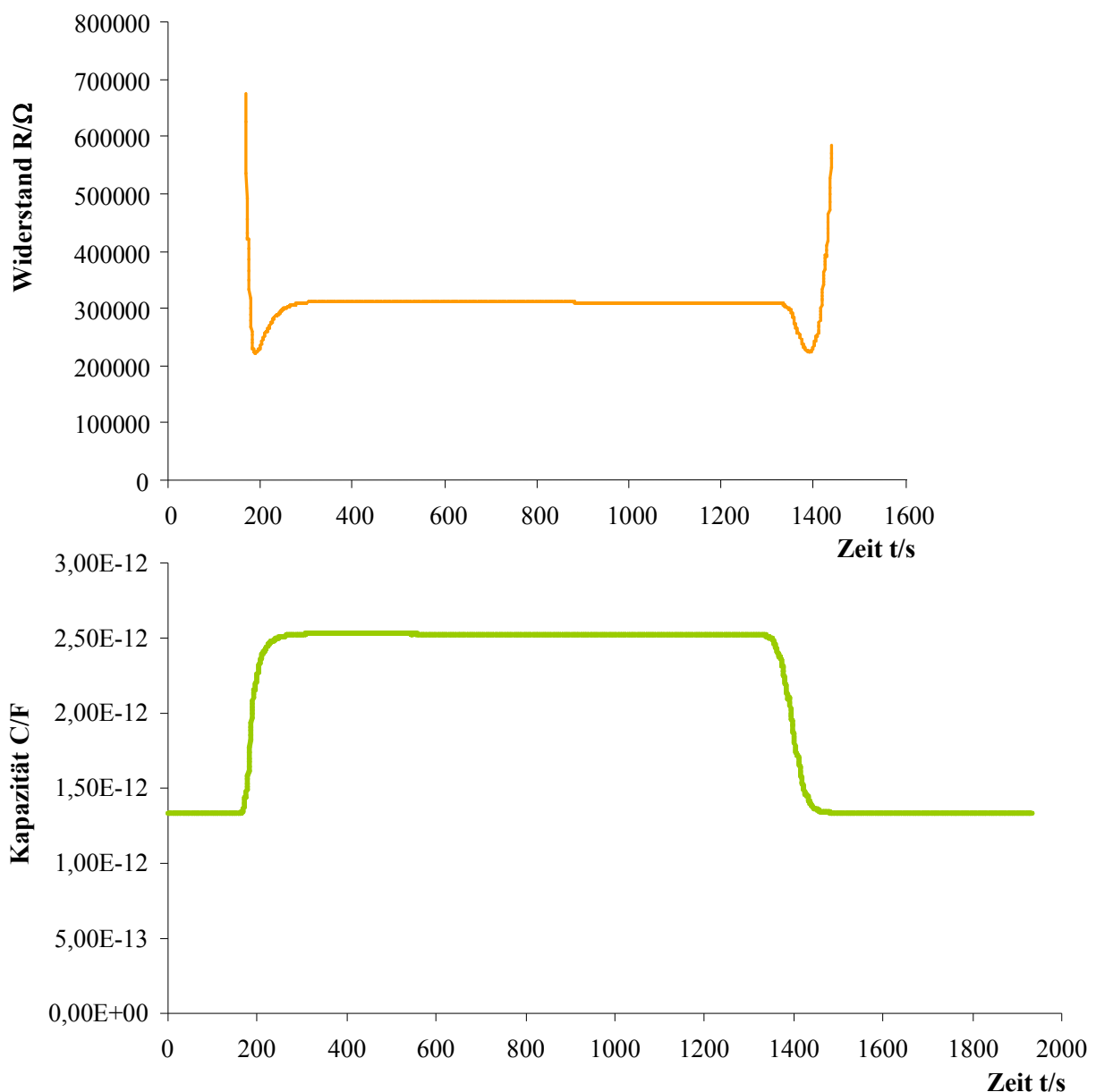


Abb. 55: Durchpumpen einer A₂-Blutprobenlösung ($1,5 \cdot 10^8$ Zellen/ml) in Deionat über einen unbeschichteten 10 µm-IDK-Sensor. Das Pumpen erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min. Die Messfrequenz betrug 1 MHz und die Messspannung 1 V.

Zum Vergleich dazu wurde eine Messserie mit einem unbeschichteten IDK durchgeführt. Eine Messkurve der Kapazitäts- und der Widerstandsmessung mit einem unbeschichteten 10 µm-IDK-Sensor und einer kontinuierlich durchströmenden Probelösung ist in Abb. 55 dargestellt. Als Messfrequenz wurde dabei 1 MHz angelegt, da bei dieser Frequenz der unbeschichtete IDK ein ähnliches Verhalten zeigt, wie ein mit einer Polymerschicht versehener IDK (siehe auch Kapitel 4.3.1). Dabei fällt der Widerstand schnell ab, und steigt danach innerhalb der ersten Minute auf einen konstanten Wert an. Dieser Wert wird während der gesamten Messdauer gehalten und verändert sich erst wieder beim Einströmen von Wasser in die Messzelle. Dabei wird der Widerstand wieder auf den am Anfang erreichten Wert abgesenkt und steigt danach rapide an, bis der Ausgangswert mit Deionat wieder erreicht wird. Die Kapazität steigt im Gegensatz zum Widerstand am Anfang stark an und stellt sich auf einen gleichbleibenden Wert ein, welcher während der gesamten Messung gehalten wird und sinkt erst wieder beim Befüllen mit Deionat ab. Beide Messkurven zeigen, dass das Sensorsystem reversibel ist und die Messwerte nach dem Spülen der Messzelle wieder den Anfangswert erreichen.

In Abb. 56 sind die unterschiedlichen Verhalten der Blutzellen beim Durchpumpen über den IDK-Sensor schematisch dargestellt. Im Fall des beschichteten Sensors, lagern sich die Zellen in die Kavitäten ein und werden dort fixiert. Erst nach einiger Zeit werden sie dann durch das Nachpumpen wieder herausgerissen und weiter transportiert. Bei einem unbeschichteten IDK können sich die Blutzellen zwischen oder auf den Elektrodenstrukturen absetzen und eine Fixierung erfolgt nur durch Wechselwirkungen zwischen dem Gold und der Zellmembran. Da dieses nicht zur Ausbildung einer so starken Interaktion wie beim Einlagern in die Kavitäten einer selektiven Schicht führt, können die Blutzellen leicht durch die Strömung der Lösung mitgerissen und weiter transportiert werden.

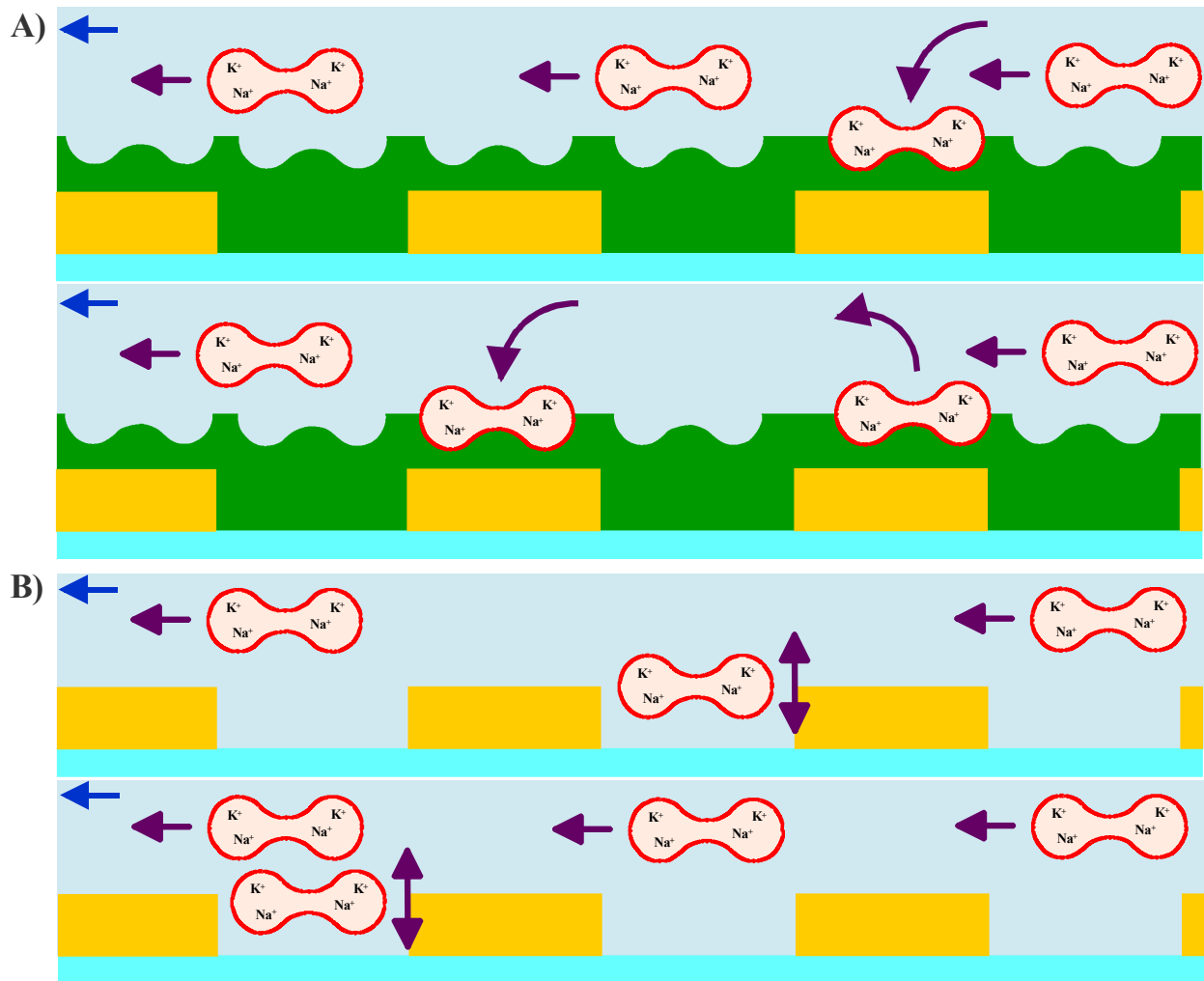


Abb. 56: Schematische Darstellung der Wanderung von Erythrozyten über einen mit Polymer beschichteten IDK (**A**) und über einen unbeschichteten IDK (**B**). **A:** Blutzellen werden in die Kavitäten der Polymerschicht eingelagert und verweilen einige Zeit dort, bevor sie wieder in die Lösung gelangen und weiter gepumpt werden. **B:** Ist kein Polymer vorhanden, können sich die Blutzellen zwischen den Elektrodenstrukturen absenken und werden kurz, aufgrund der hohen Frequenz von 1 MHz, fixiert und werden dann weiter befördert.

4.3. Einfluss des Polymers auf die Messungen

Bei der Messung mittels IDK-Sensoren ist auf die Auswahl des verwendeten Polymers besonders zu achten. Das Polymer muss über das molekulare Prägen, gute rekognitive Fähigkeiten und konstante dielektrische Eigenschaften bei einer gleichbleibenden Porosität aufweisen. Da das Polymer bei der IDK-Messung nicht nur als sensitive Schicht sondern auch als Dielektrikum fungiert, muss ein guter Ausgleich zwischen einer selektiven und stabilen Einlagerung des Analyten und einem konstanten Einfluss auf das elektrische Feld gefunden werden. Des Weiteren ist die Porosität der Polymerschicht und der damit verbundenen Ansammlung beziehungsweise Extraktion von Ionen aus der Lösung in das Polymer für die Messung der Kapazität und vor allem des Widerstandes von Bedeutung. Hohe Konzentrationen und eine Möglichkeit der Migration der Ionen können die Messsignale verändern und beeinflussen. Daher wurden verschiedene Polymere für die Messung herangezogen, getestet und optimiert.

Im Folgenden wurden Messungen durchgeführt, bei denen die Polymere Polyvinylpyrrolidon, Polyacrylat und Polyurethan als sensitive Schicht verwendet wurden. Dabei wurden die Eigenschaften der verschiedenen Polymere im Zusammenhang auf die Kapazitäts- und Widerstandsmessung untersucht. Im Vergleich dazu wurden auch massensensitive Messungen mittels QCM durchgeführt, um die Einflüsse auf die Einlagerungseigenschaften von jenen der elektrischen Veränderungen zu unterscheiden. Im Vorfeld wurden auch Messungen mit einem unbeschichteten IDK durchgeführt, damit Frequenz- und Strömungseigenschaften ohne Einfluss von Adsorptionsvorgängen beobachtet werden können.

4.3.1. Messung mit einem unbeschichteten IDK

Für die Messserie wurde ein unbeschichteter 10 μm -IDK in die Messzelle eingebaut und das Verhalten des Sensors bei unterschiedlichen Frequenzen bestimmt, um so eine Referenz zu den folgenden Messungen mit einer Polymerschicht über der Elektrodenstruktur zu erhalten. Da keine Polymerschicht vorhanden ist, werden die Blutzellen nicht aus der Lösung in die Kavitäten extrahiert und können sich so frei zwischen den Elektrodenstrukturen einlagern, mit anderen Zellen den Platz tauschen und sich zwischen den Elektroden bewegen. Dadurch erfolgt auch keine Anreicherung der Erythrozyten in der Nähe der Elektrodenstruktur und somit auch keine erhöhte Interaktion mit dem elektrischen Feld des DK.

In der nachstehenden Graphik ist eine Aufnahme der nackten Elektrodenstruktur mittels Atomkraftmikroskopie dargestellt. Dabei ist zu erkennen, dass die Strukturbreite 10 μm und die Höhe der Elektroden 125 nm beträgt. Der Abstand zwischen den einzelnen Elektrodenstrukturen beträgt 10 μm .

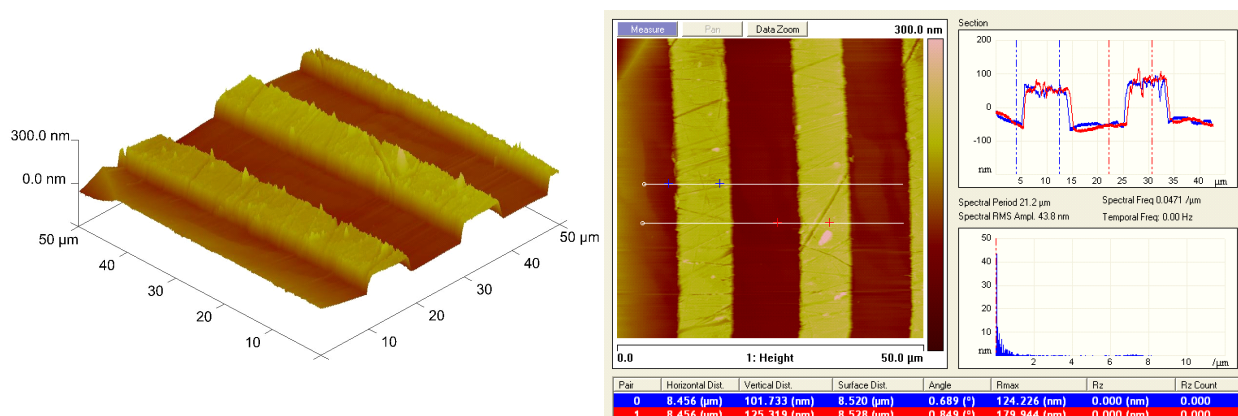


Abb. 57: AFM-Aufnahme der Elektrodenstrukturen auf einem Interdigitalkondensator (*contact-*Modus bei 0,5 Hz Scan-Rate und 1024 Punkte/Linie)

In Abb. 58 bis Abb. 62 sind die Kapazitäts- und Widerstandsmesskurven eines unbeschichteten Sensors mit einer A₁-, A₂- und B-Blut-Probeflösung mit Konzentrationen von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml abgebildet. Als Lösungsmittel wurde Deionat verwendet und die Probeflösungen wurden innerhalb von 5 Minuten nach dem Zusammenmischen gemessen. Die Einpump- und Auspumpgeschwindigkeit betrug 0,413 ml/min und das Pumpen erfolgte mittels Peristaltikpumpe, wie in Kapitel 3.5.2 beschrieben. Als Messspannung wurde 1 V angelegt und die Frequenz wurde für die Messungen zwischen 1 kHz und 1 MHz variiert, um so die unterschiedlichen Bewegungseigenschaften der Blutzellen im elektrischen Feld zu erfassen.

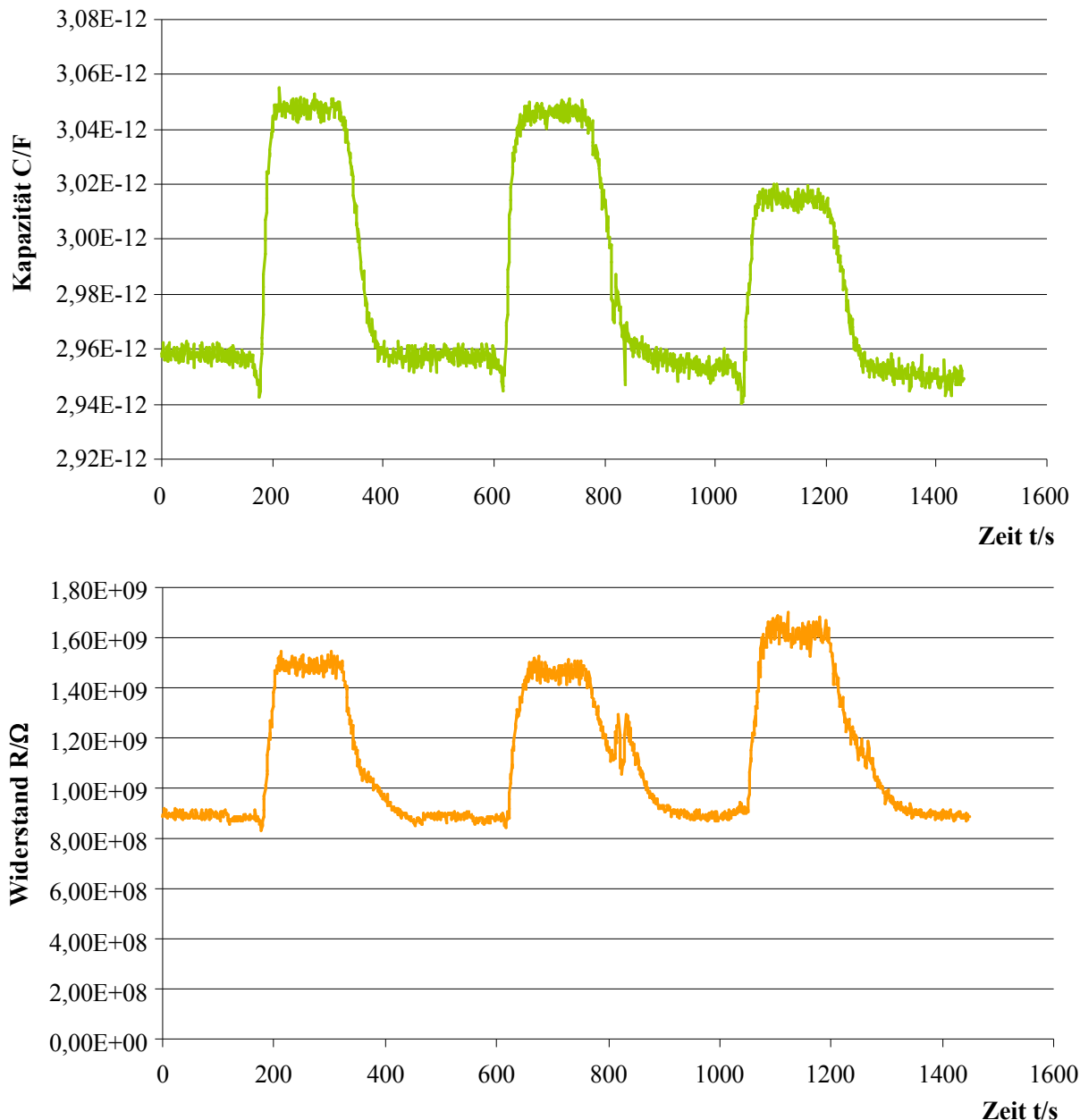


Abb. 58: Messung der Blutgruppe A₁, A₂ und B (von links nach rechts) mit einem 10 μ m-IDK-Sensor ohne Polymerschicht bei einer Frequenz von 1 kHz und einer Messspannung von 1 V. Die Konzentration der Probelösungen betrug $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Die Lösungen wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Bei einer Frequenz von 1 kHz wurden dabei Kapazitätswerte zwischen 3,01 pF und 3,5 pF gemessen. Eine Differenzierung der unterschiedlichen Blutgruppen anhand der Kapazität ist nicht möglich. Die Widerstandswerte erhöhen sich bei dieser Messung von $9,0 \cdot 10^8$ Ω , was dem Grundwert bei nur mit Lösungsmittel befüllter Messzelle entspricht, auf Werte zwischen $1,5 \cdot 10^9$ Ω bis $1,6 \cdot 10^9$ Ω . Die Messkurve für 1 kHz ist in Abb. 58 zu sehen.

Da die Blutzellen nicht fixiert werden, können sie sich im elektrischen Feld bewegen und durch die niedrige Frequenz besteht eine längere Wanderungszeit der Blutzellen in der Lösung, bis durch die Umpolung eine Bewegung in die andere Richtung erfolgt. So können die Zellen direkt auf die Elektrodenstruktur gelangen und dadurch kann es zum Platzen der Zellen aufgrund der durch den Stromfluss generierten punktuellen Erhitzung und aufgrund von Wechselreaktionen der Erythrozytenmembran mit der Goldstruktur kommen, wie es schematisch in Abb. 59 zu erkennen ist. Durch die Zellmembran, welche sich nach dem Platzen über beziehungsweise auf die Elektroden legen kann, wird eine Isolatorschicht aufgebaut, welche die Kontaktierung von den Elektroden mit dem Lösungsmittel und somit den in der Lösung befindlichen Ionen verhindert. Dadurch erfolgt ein Ansteigen des gemessenen Widerstandes, da die leitfähige Oberfläche abnimmt.

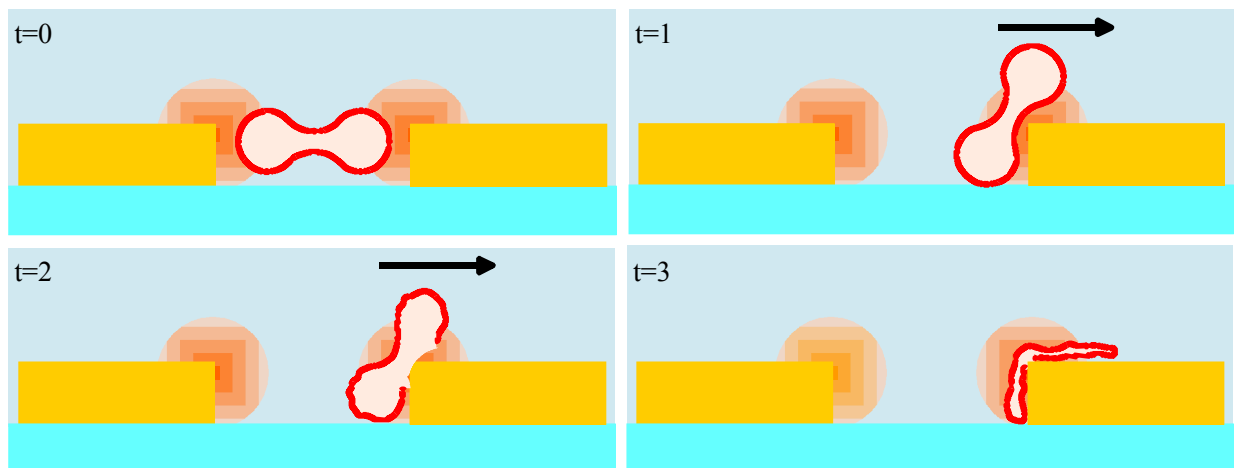


Abb. 59: Bewegung der Blutzellen zwischen den Elektrodenstrukturen bei einer niedrigen Frequenz: **t=0:** Blutzellen lagern sich beim Befüllen zwischen den Elektroden ab; **t=1:** Blutzelle bewegt sich zur geladenen Elektrode; **t=2:** thermische Zerstörung der Erythrozytenmembran; **t=3:** Rückstände der Zellmembran lagern sich auf der Elektrodenstruktur ab

Auch bei einer Frequenz von 10 kHz kann dasselbe Verhalten wie bei einer Messfrequenz von 1 kHz beobachtet werden: Die Kapazität steigt leicht und der Widerstand steigt stark an, wie in Abb. 60 zu sehen ist. Die Kapazität wird dabei von einem Grundwert von 2,61 pF auf Werte zwischen 2,95 pF und 3,00 pF erhöht. Dabei weisen alle Blutgruppen in etwa dieselbe Kapazität auf: A₁ liefert 2,970 pF, A₂ 2,964 pF, B 2,969 pF, 0 2,984 pF, A₁B 2,960 pF und A₂B 2,973 pF. Der Widerstand steigt von $2,75 \cdot 10^7 \Omega$ auf Werte zwischen $1,6 \cdot 10^8 \Omega$ und $1,9 \cdot 10^8 \Omega$, wobei die Blutgruppe A₁ einen Widerstand von $1,832 \cdot 10^8 \Omega$ liefert, die Blutgruppe A₂ $1,835 \cdot 10^8 \Omega$, die Blutgruppe B $1,665 \cdot 10^8 \Omega$, die Blutgruppe 0 $1,744 \cdot 10^8 \Omega$, die Blutgruppe A₁B $1,845 \cdot 10^8 \Omega$ und die Blutgruppe A₂B $1,850 \cdot 10^8 \Omega$.

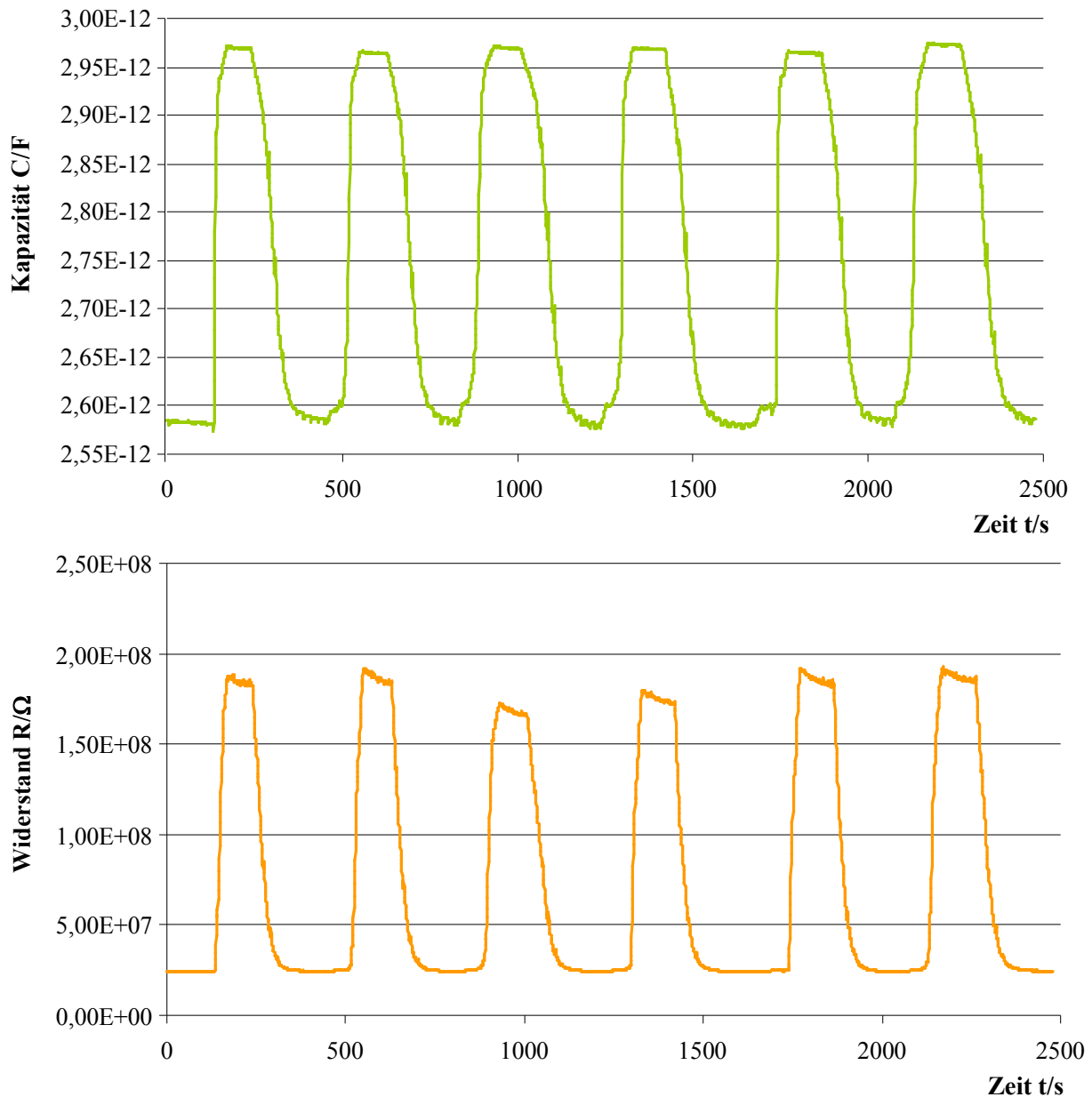


Abb. 60: Messung der Blutgruppe A₁, A₂, B, 0, A₁B und A₂B (von links nach rechts) mit einem 10 μm -IDK-Sensor ohne Polymerschicht bei einer Frequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Die Konzentration der Probelösungen betrug $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Die Lösungen wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Ein anderes Bild zeigt die Messung mit einer Frequenz von 100 kHz, welche in Abb. 61 dargestellt ist. Bei dieser Messfrequenz steigt zwar die Kapazität genauso an wie bei den beiden vorherigen Messungen (Frequenzen: 1 kHz und 10 kHz), jedoch die Widerstandsmessung zeigt einen anderen Kurvenverlauf. Dabei erreicht die Blutgruppe A₁ eine Kapazität von 2,841 pF, die Blutgruppe A₂ 2,842 pF, die Blutgruppe B 2,828 pF, die Blutgruppe 0 2,841 pF, die Blutgruppe A₁B 2,833 pF und die Blutgruppe A₂B 2,905 pF.

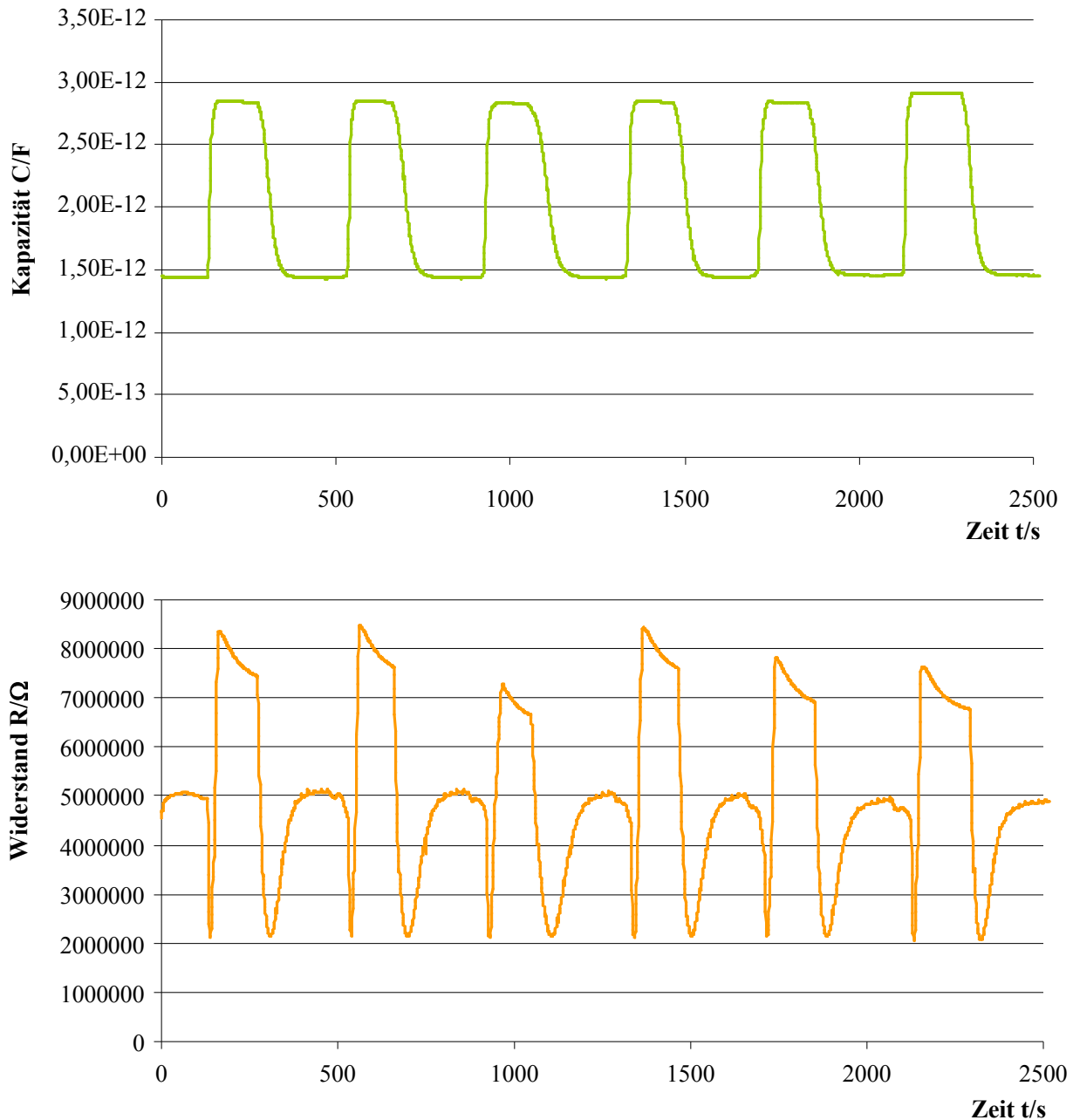


Abb. 61: Messung der Blutgruppe A₁, A₂, B, 0, A₁B und A₂B (von links nach rechts) mit einem 10 μ m-IDK-Sensor ohne Polymerschicht bei einer Frequenz von 100 kHz und einer Messspannung von 1 V. Die Konzentration der Probelösungen betrug $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Die Lösungen wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Die Widerstandsmessungen zeigen, dass der Widerstandswert in dem Fall bei der Befüllung der Messzelle zuerst abfällt und dabei einen Wert im Bereich von 2,2 bis 2,3 M Ω erreicht, steigt dann bei gefüllter Messeinheit an und beim Entleeren der Messzelle sinkt dieser wieder kurzfristig unter den Grundwert von rund 5,1 M Ω , welche mit dem Lösungsmittel bestimmt wurde, ab. Dabei erreicht die Blutgruppe A₁ nach dem Abfall des Widerstandes einen Messwert

von 7,424 M Ω , die Blutgruppe A₂ von 7,642 M Ω , die Blutgruppe B von 6,648 M Ω , die Blutgruppe 0 von 7,559 M Ω , die Blutgruppe A₁B von 6,921 M Ω und die Blutgruppe A₂B von 6,770 M Ω , wie in Abb. 61 zu sehen ist.

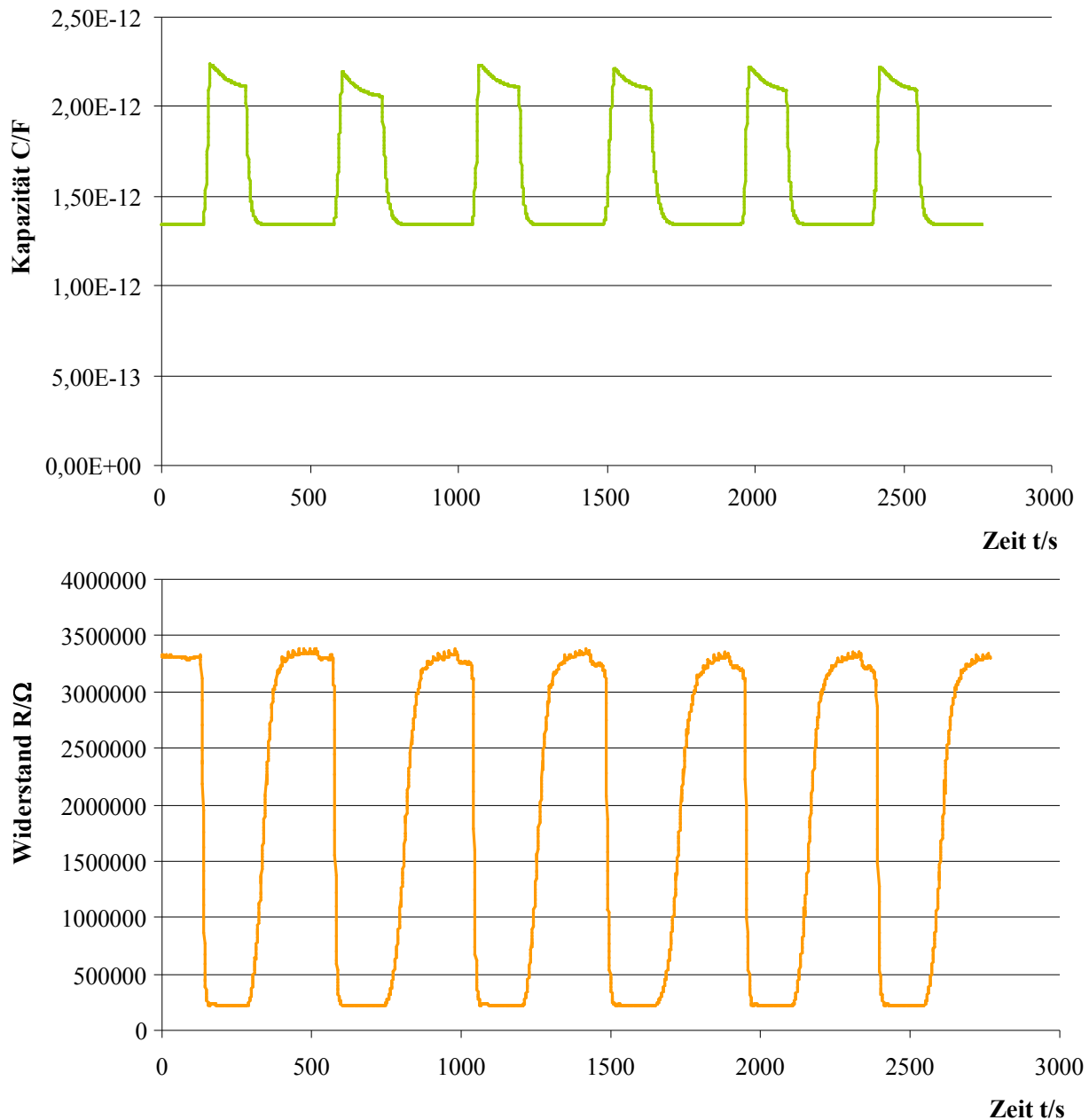


Abb. 62: Messung der Blutgruppe A₁, A₂, B, 0, A₁B und A₂B (von links nach rechts) mit einem 10 μ m-IDK-Sensor ohne Polymerschicht bei einer Frequenz von 1 MHz und einer Messspannung von 1 V. Die Konzentration der Probelösungen betrug 1,5 $\cdot$ 10⁸ Erythrozyten/ml. Die Lösungen wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Erst bei einer hohen Frequenz können dieselben Messkurvenverläufe, wie bei der Messung mit einem beschichteten IDK-Sensor beobachtet werden. Bei einer Messfrequenz von 1 MHz steigt

die Kapazität während des Befüllens der Messzelle an und fällt danach asymptotisch auf einen konstanten Wert ab, beim Spülen kehrt der Kapazitätswert auf den Ausgangswert zurück. Die unterschiedlichen Blutgruppen erreichen dabei einen etwas geringeren Messwert als bei den vorangegangenen Messungen: Die Blutgruppe A₁ weist 2,111 pF auf, die Blutgruppe A₂ 2,057 pF, die Blutgruppe B 2,094 pF, die Blutgruppe 0 2,100 pF, die Blutgruppe A₁B 2,092 pF und die Blutgruppe A₂B 2,093 pF. Bei der Widerstandsmessung fällt der Widerstand beim Einpumpen der Blutlösungen ab und bleibt bei gefüllter Messzelle konstante. Dabei beträgt der Widerstand bei der Blutgruppe A₁ 222,4 kΩ, bei der Blutgruppe A₂ 221,7 kΩ, bei der Blutgruppe B 222,4 kΩ, bei der Blutgruppe 0 222,4 kΩ, bei der Blutgruppe A₁B 221,6 kΩ und bei der Blutgruppe A₂B 221,7 kΩ. Während des Entleerens kehrt der Widerstandswert auf den Grundwert zurück, wobei dieses wesentlich rascher erfolgt, als bei einem beschichteten Sensor. Die Messkurven für die Kapazitätsmessung und die Widerstandsmessung bei einer Frequenz von 1 MHz sind in Abb. 62 gezeigt.

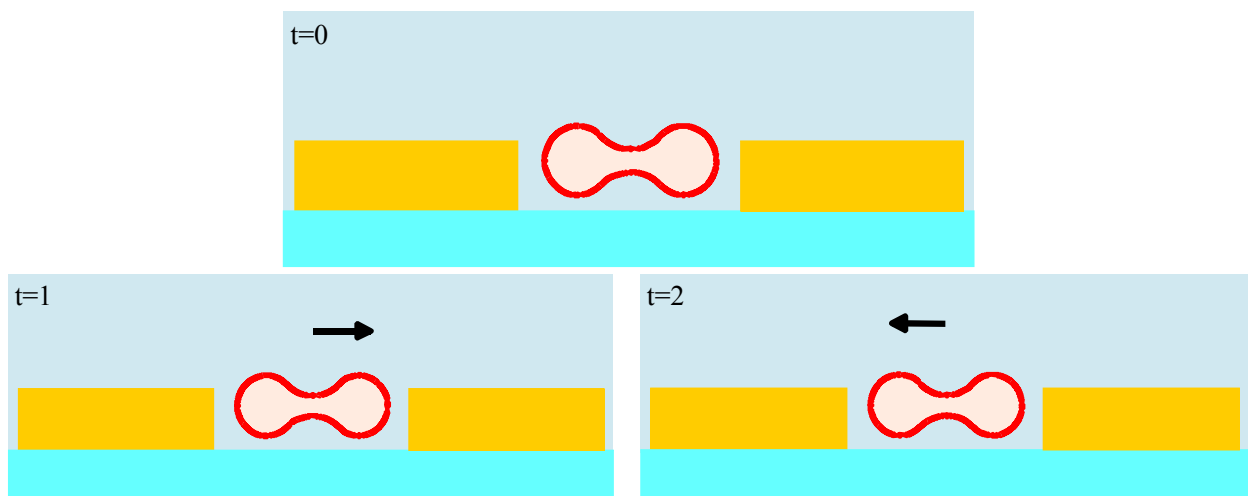


Abb. 63: Bewegung der Blutzellen zwischen den Elektrodenstrukturen bei einer hohen Frequenz: **t=0:** Blutzellen lagern sich beim Befüllen zwischen den Elektroden ab; **t=1 & t=2:** Bewegung der Blutzelle zur geladenen Elektrode, aufgrund der schnellen Umpolung kann sich die Blutzelle nicht vollständig weg bewegen und bleibt am Platz fixiert beziehungsweise „schwingt“

Durch die hohe Frequenz und der damit verbundenen raschen Umpolung der beiden Elektrodenstrukturen werden die Erythrozyten zwischen diesen „fixiert“. Dies erfolgt dadurch, dass auf der Zellenmembran geladene Gruppen vorhanden sind, welche eine Migration im erzeugten elektrischen Feld bewirken. Wird die Frequenz nun so hoch angesetzt, dass die

Migrationsgeschwindigkeit und die Ausrichtung der Zellen nicht mehr der Änderung der Ladung der Elektroden nachkommen, bleiben die Erythrozyten auf ihren Plätzen fixiert, wie in Abb. 63 schematisch dargestellt. Es erfolgt nur mehr ein Platztausch durch Konvektions- und Diffusionsbewegungen mit der Lösung und den darin befindlichen Zellen oberhalb der Elektrodenstruktur. Daher ist die Kapazität wesentlich geringer als wenn die Zellen aus der Lösung in eine Polymerschicht extrahiert werden. Die Widerstandswerte sinken ab, da die Zellen nicht mehr zu den Elektrodenstrukturen wandern und dort als Isolatorschicht fungieren, das heißt Ionen, welche durch das Platzen beziehungsweise durch das Lysieren der Zellmembran freigesetzt werden, erhöhen die Leitfähigkeit der Lösung und verringern somit den Widerstandswert.

4.3.2. Messung mit Polyurethan als sensitive Schicht

Für die Messung mit einer Polyurethanschicht wurde der Polymer-Ansatz wie in Kapitel 3.4 beschrieben benutzt. Die beiden Sensortypen (QCM und IDK) wurden mit der Polymerschicht beschichtet, mit der Templatblutgruppe A₁ geprägt und ausgehärtet. Dabei betrug die Konzentration der Prägelösung $1,0 \cdot 10^7$ Zellen/ μ l. Für die Messungen wurden die Sensor in die jeweilige Apparatur eingebaut, an die Messgeräte angeschlossen und anschließend für die Konditionierung für 4 Stunden mit Deionat gespült. Als Probelösungen wurden Verdünnungen aus dem Erythrozytenkonzentrat mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml der Blutgruppen A₁ und A₂ in Deionat gemessen. Die Lösungen wurden sofort nach deren Herstellung gemessen, damit die Blutzellen ihre bikonkave Form beibehalten und so eine optimale Anpassung in die Kavitäten aufweisen.

Für die IDK Messung wurde ein 10 μ m-IDK-Sensor herangezogen und es wurde eine Frequenz von 10 kHz und eine Spannung von 1 V verwendet. Die erhaltenen Messkurven für die Widerstands- und Kapazitätsbestimmung sind in Abb. 64 dargestellt. Dabei erreicht die Kapazität bei der mit Deionat gefüllten Messzelle einen Grundwert von 0,78 pF. Wird nun die Templatblutgruppe A₁ vermessen wird ein Wert von 4,56 pF erreicht und bei der Blutgruppe A₂ ein Wert von 3,68 pF (81% der Templatblutgruppe). Die Kapazitätsmesskurve zeigt dabei ein steiles Ansteigen der Kapazität beim Einpumpen der Blutlösung, während bei gefüllter Messzelle der Wert nur geringfügig abfällt. Beim Spülen erfolgt wieder ein rasches Abfallen auf den Anfangswert von 0,79 pF. Der Widerstand erreicht als Grundwert 7,567 M Ω und nimmt beim Befüllen der Zelle mit der Blutgruppe A₁ auf 1164474 Ω ab und bei der Blutgruppe A₂ auf 1171526 Ω . Beim Befüllen der Messzelle fällt der Widerstandswert rasch ab und es stellt sich ein konstanter Wert ein, welcher über die gesamte Messdauer gehalten wird. Beim Spülschritt steigt der Widerstandswert wie bei der Messung mit einem unbeschichteten IDK und im Vergleich zu den folgenden Messungen, sehr rasch an und erreicht wieder einen Wert (7,688 M Ω) im Bereich des anfänglichen Widerstands.

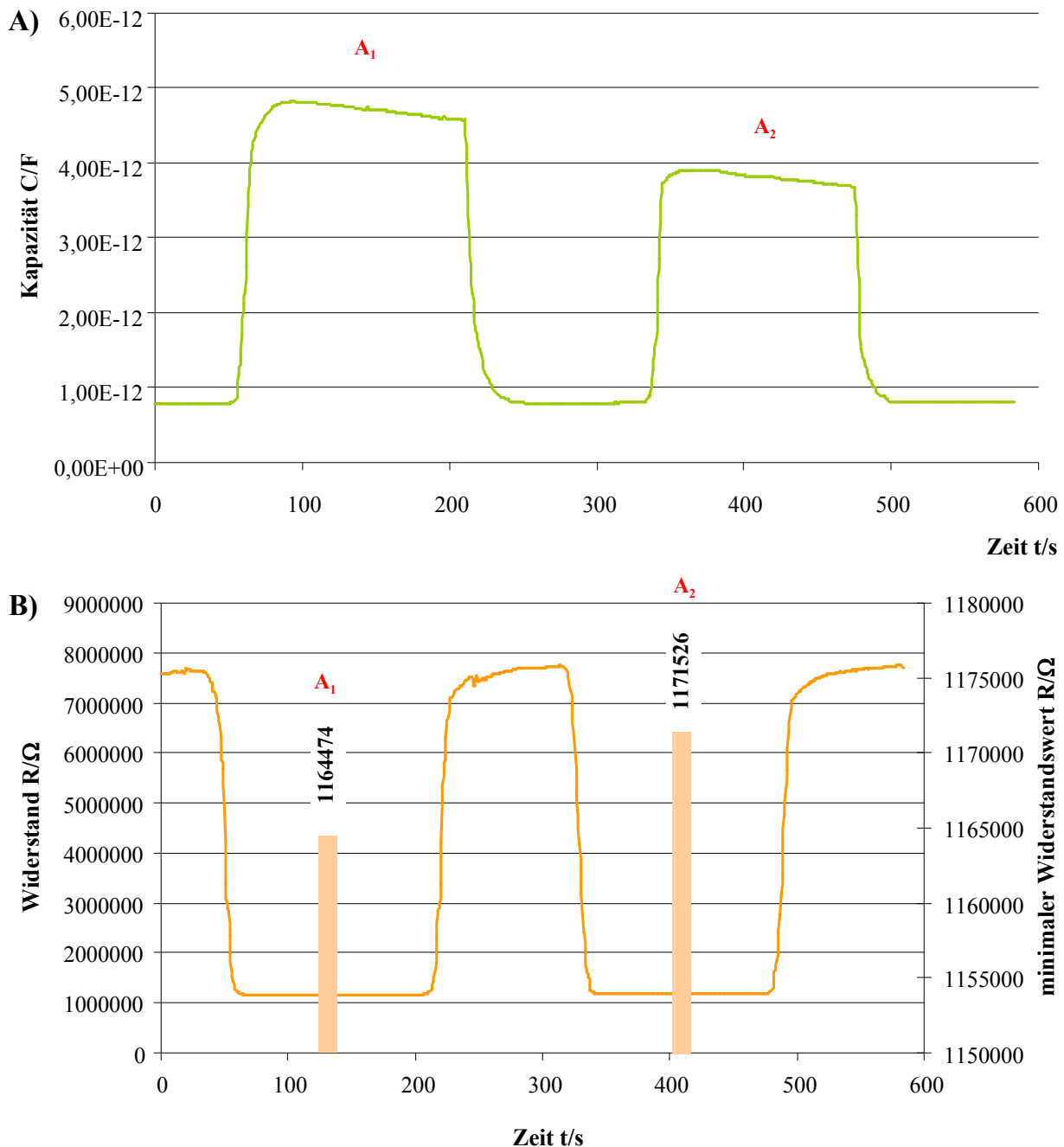


Abb. 64: Messkurve einer Kapazitätsmessung (A) und einer Widerstandsmessung (B) mit einem A_1 -geprägten 10 μ m-IDK-Sensor mit einer Polyurethan-Schicht. Die Messfrequenz betrug 10 kHz und die Messspannung 1 V. Die Konzentration der Blutprobelösungen betrug $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und als Lösungsmittel wurde Deionat verwendet.

Es wurde für die Polyurethanbeschichtung auf dem IDK eine Schichtdicke von 1328,94 nm ermittelt. Dazu wurde in die Polymerschicht ein Schnitt eingeritzt und dieser mittels AFM (siehe Kapitel 2.5) gemessen. Die Messung erfolgte im *contact*-Modus. Aufgrund der Dicke kam es beim Einschneiden der Polymerschicht zur Anhäufung des Polymers an den Rändern. Die Aufnahme ist in der Abb. 65 dargestellt.

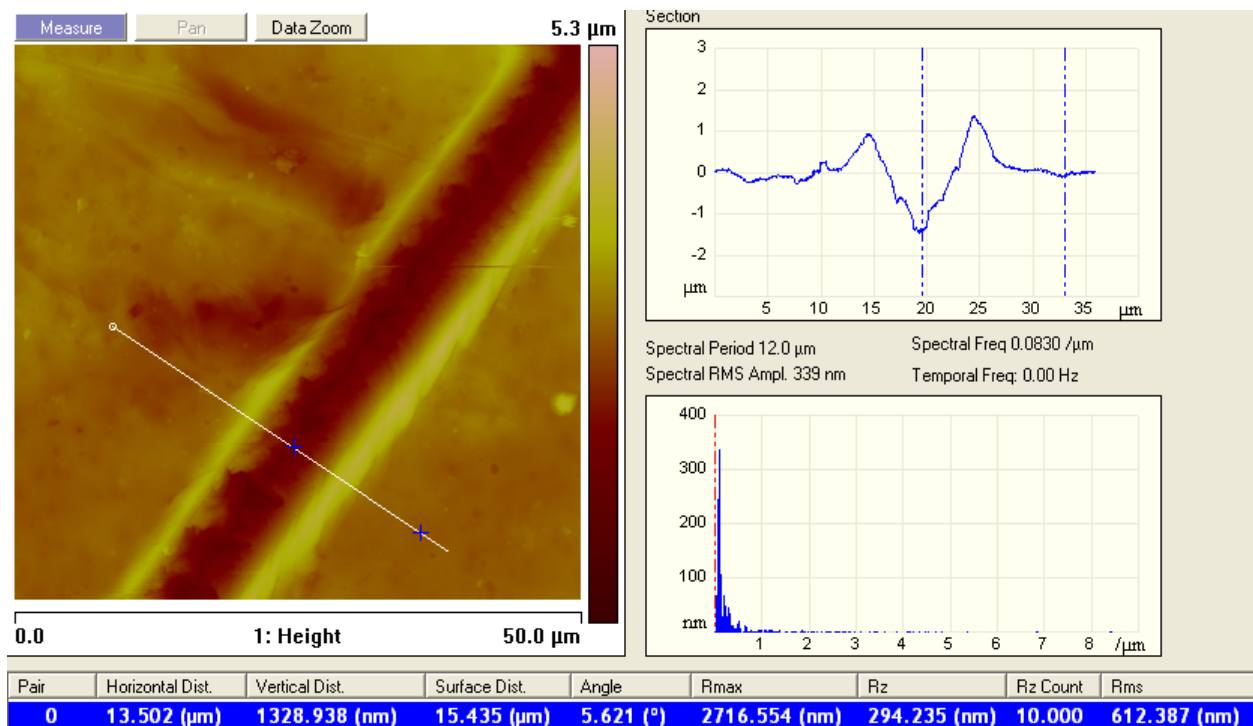


Abb. 65: Bestimmung der Schichtdicke von Polyurethan auf einem IDK mittels AFM (*contact-*Modus bei 0,5 Hz Scan-Rate und 1024 Punkte/Linie)

Bei der QCM-Messung wurde ein 10 MHz-Quarz bei einer angelegten Spannung von 12 V verwendet. Die bei der Messung erhaltene Kurve ist in Abb. 66 dargestellt und zeigt ein hohes Signal der Referenzelektrode (rot). Dieses zeigt eine Frequenzänderung von 535 Hz (bei der Blutgruppe A₂) bis zu 600 Hz (bei der Blutgruppe A₁). Aufgrund der hohen Erniedrigung der Referenzseite ist auf eine starke Adsorption von Erythrozyten auf dem Polyurethans zurückzuschließen, welches auch eine große Querselektivität bewirkt, da die Blutzellen sich aufgrund der unspezifischen Wechselwirkungen zwischen Polymer und Erthrozytenmembran auch blutgruppenunspezifisch auf der Messelektrode anlagern können und so einen Beitrag zur Massenbeladung leisten. Im Vergleich zur Referenzelektrode zeigt die geprägte Elektrodenfläche eine Frequenzerniedrigung von 1700 Hz für die Templatblutgruppe A₁ und für die Blutgruppe A₂ von 775 Hz. Damit beträgt der Unterschied zwischen der Mess- und der Referenzelektrode bei der Templatblutgruppe nur 925 Hz (rund 55% des gesamten Messsignals) und bei der Blutgruppe A₂ nur 240 Hz. Beide Messschritte, sowohl das Vermessen der Templatblutgruppe, als auch jener der Blutgruppe A₂, sind reversibel und die anfangs eingestellte Frequenz konnte wieder erreicht werden. Für das Polyurethan auf der Quarzelektrode wurde mittels AFM eine Schichtdicke von 373,04 nm ermittelt, wie in Abb. 67 zu sehen ist.

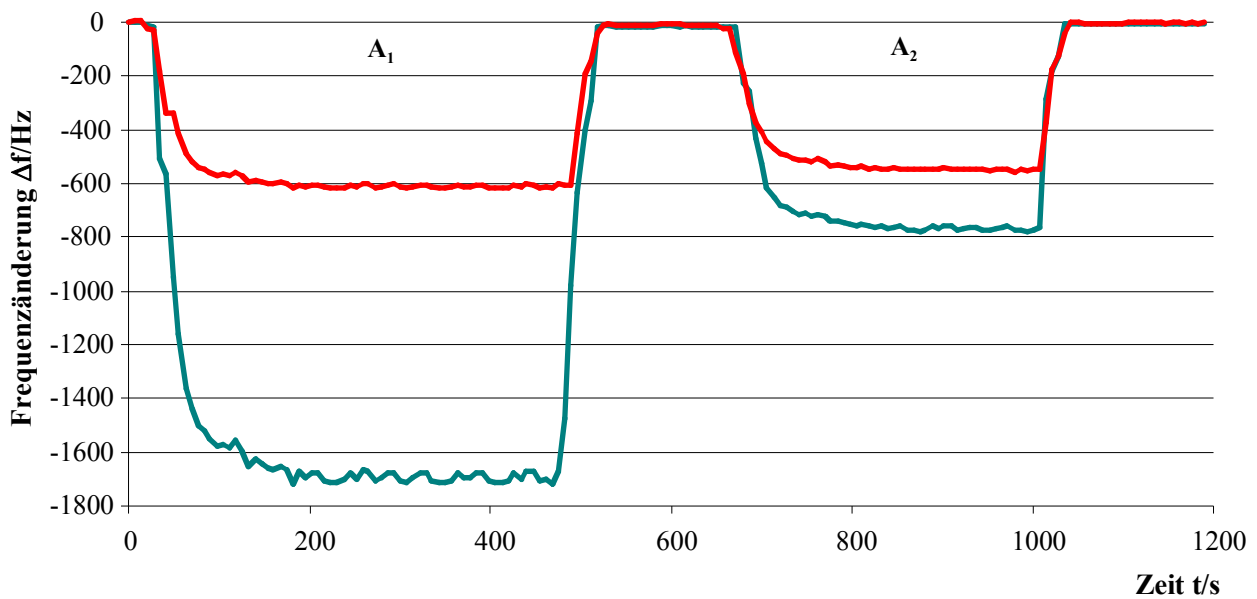


Abb. 66: Messkurve mit einem 10 MHz-QCM-Sensor mit einer Zwei-Elektroden-Struktur ($\varnothing_{\text{Elektrode}} = 5 \text{ mm}$): **türkis:** Messelektrode; **rot:** ungeprägte Referenzelektrode. Die Prägung der Polyurethanschicht der Messelektrode erfolgte mit einem A_1 -Erythrozytenkonzentrat und die Konzentration der Messlösungen betrug $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml (in Deionat). Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min. Als Messspannung wurden 12 V an die Oszillatorschaltung angelegt.

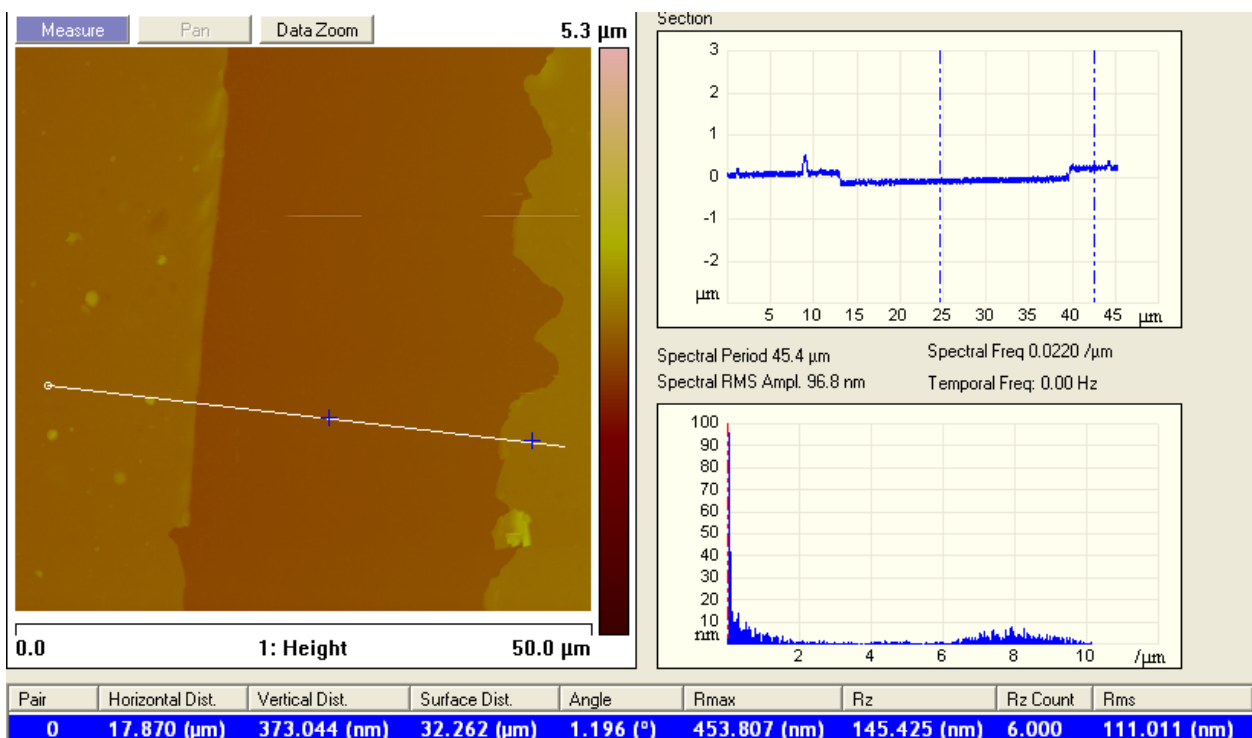


Abb. 67: Bestimmung der Schichtdicke von Polyurethan auf einem Quarz mittels AFM (*contact-*Modus bei 0,5 Hz Scan-Rate und 1024 Punkte/Linie)

4.3.3. Messung mit Polyacrylat als sensitive Schicht

Das Polyacrylat wurde nach dem Ansatz wie in Kapitel 3.4 beschrieben hergestellt und die Sensoren (QCM und IDK) beschichtet, geprägt und ausgehärtet. Dabei betrug die Konzentration der Prägelösung $1,0 \cdot 10^7$ Zellen/ μl . Als Probelösungen wurden Verdünnungen mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml der Blutgruppen A_1 und A_2 in Deionat herangezogen. Die Lösungen wurden sofort nach deren Herstellung gemessen, damit die Blutzellen ihre bikonkave Form beibehalten und so eine optimale Passform für die Kavitäten aufweisen. Die Konditionierung des Sensors erfolgte durch Spülen mit Deionat für eine Dauer von 4 Stunden.

Für die Widerstands- und Kapazitätsbestimmung wurde ein $10\text{ }\mu\text{m}$ -IDK-Sensor herangezogen, welcher mit einem Erythrozytenkonzentrat der Blutgruppe A_1 ($c = 1,0 \cdot 10^7$ Zellen/ μl) geprägt wurde. Es wurde eine Frequenz von 10 kHz und eine Spannung von 1 V für die Messung verwendet. Die erhaltenen Kurven für die Widerstands- und Kapazitätsmessungen sind in Abb. 68 abgebildet. Dabei steigt beim Befüllen der Messzelle die Kapazität rasch an, fällt anschließend asymptotisch ab und beim Spülen mit Deionat wird der Anfangswert von 1,8 pF wieder erreicht. Die Messung der Blutgruppe A_1 zeigt dabei einen maximalen Kapazitätswert von 11,1 pF an, welcher auf 9,32 pF abfällt. Die Blutgruppe A_2 zeigt einen maximalen Wert von 7,15 pF (64% der maximalen Kapazität der Blutgruppe A_1) und erreicht nach 70 s einen Wert von 6,35 pF (68% vom minimalen Wert der Templatblutgruppe). Bei der Widerstandsmessung wird bei der mit Deionat gefüllten Messzelle ein Wert von 4,351 M Ω bestimmt. Dieser fällt beim Befüllen rasch ab und erreicht einen konstanten Wert (Templatblutgruppe A_1 : 186833 Ω und Blutgruppe A_2 : 187489 Ω). Wird die Messzelle gespült, so steigt der Wert langsam wieder auf den Anfangswert an und erreicht nach Beendigung der Messung beider Blutgruppen einen Widerstand von 4,312 M Ω .

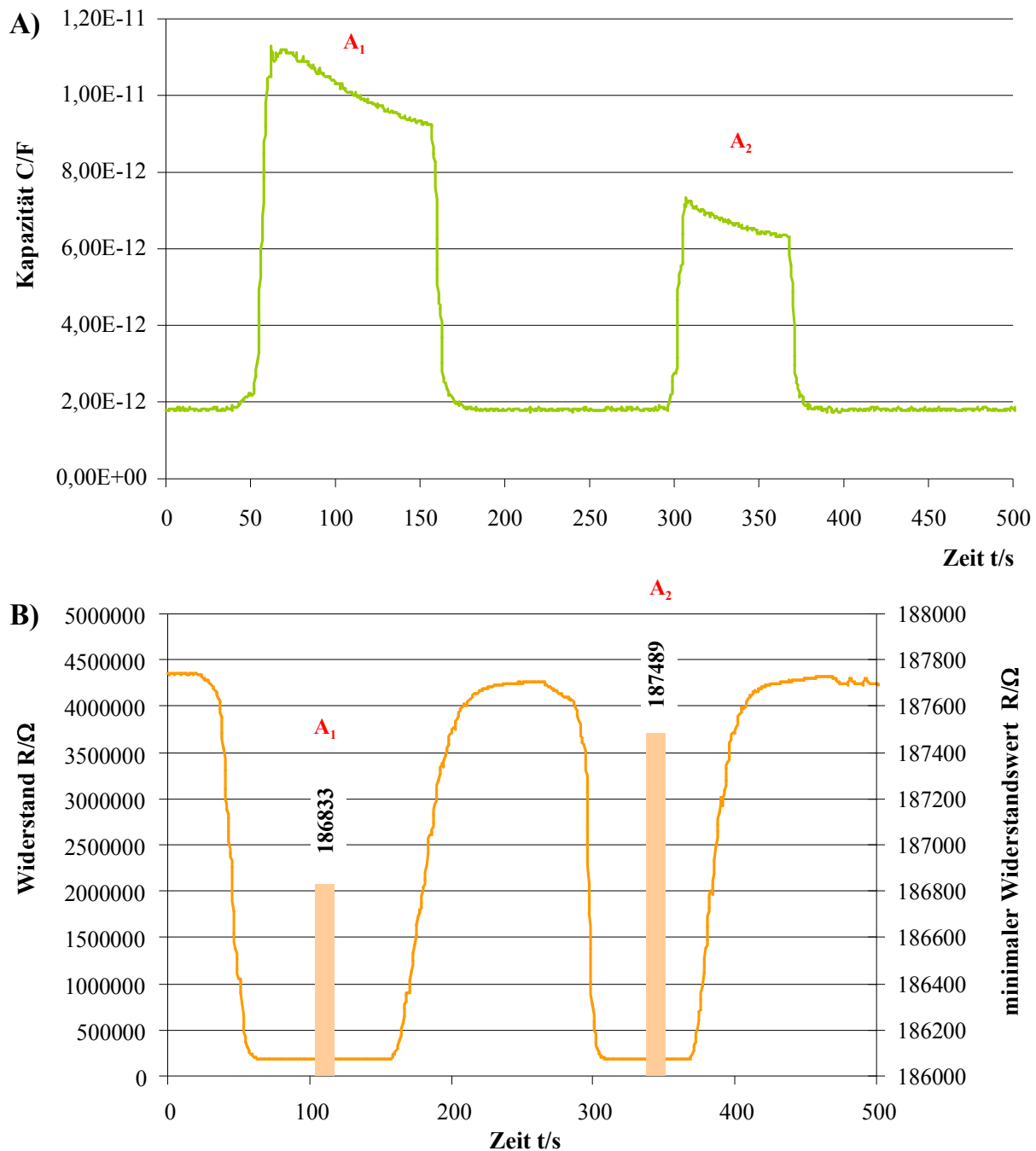


Abb. 68: Messkurve einer Kapazitätsmessung (A) und einer Widerstandsmessung (B) mit einem A_1 -geprägten 10 μm -IDK-Sensor mit einer Polyacrylat-Schicht. Die Messfrequenz betrug 10 kHz und die Messspannung 1 V. Die Konzentration der Blutprobelösungen betrug $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und als Lösungsmittel wurde Deionat verwendet.

Bei der Verwendung des Polyacrylats als sensitive Schicht des IDK konnte eine Schichtdicke von 1469,19 nm ermittelt werden. Die Aufnahme zur Bestimmung der Dicke mittels AFM ist in der Abb. 69 dargestellt und erfolgte mittels *contact*-Modus.

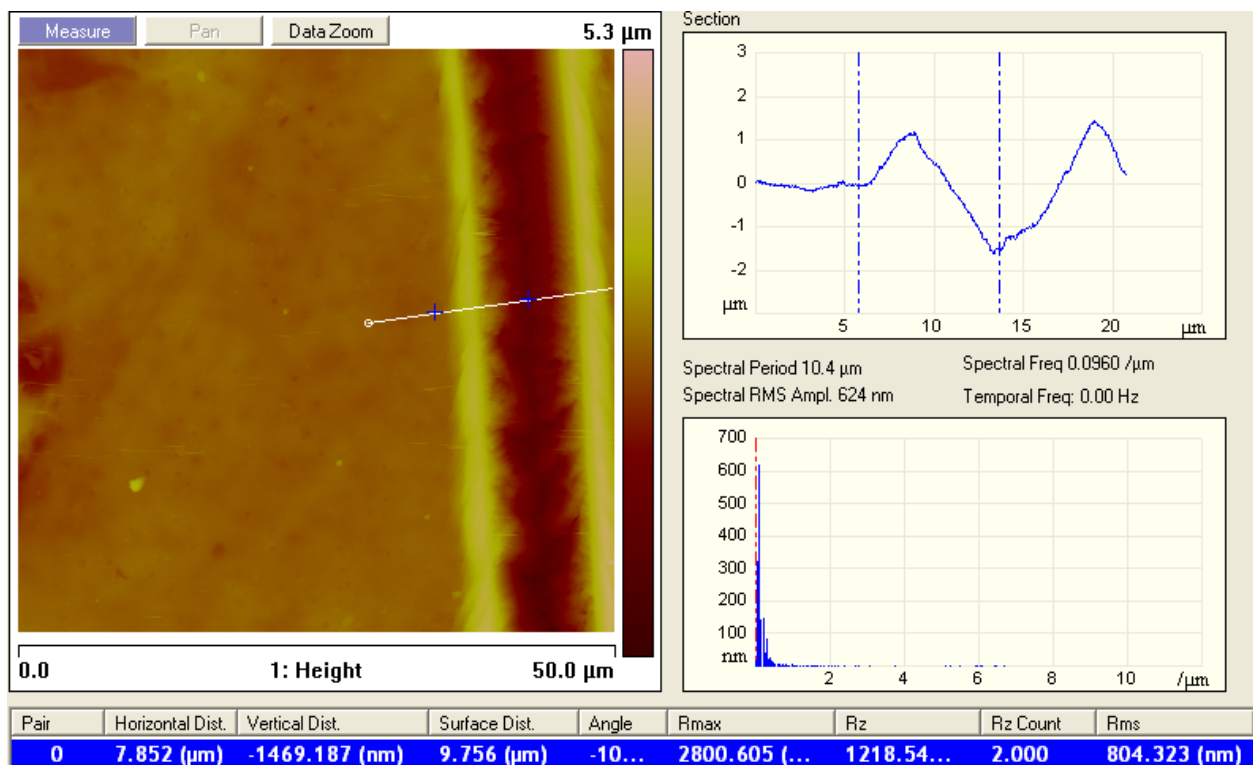


Abb. 69: Bestimmung der Schichtdicke von Polyacrylat auf einem IDK mittels AFM (*contact-*Modus bei 0,5 Hz Scan-Rate und 1024 Punkte/Linie)

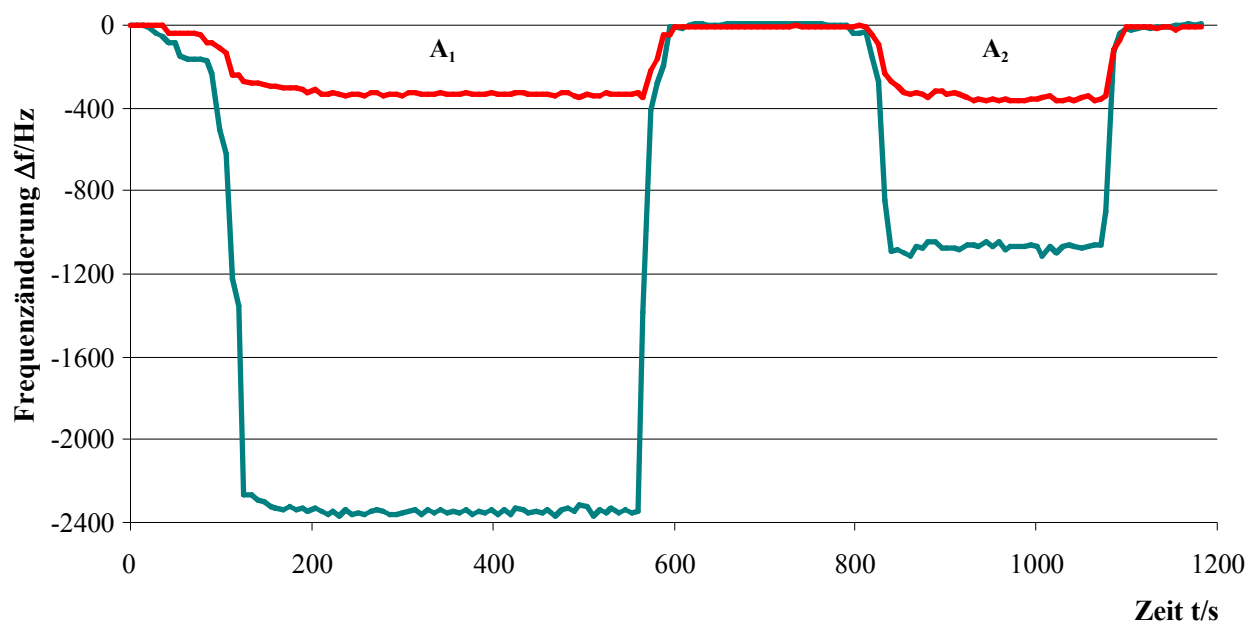


Abb. 70: Messkurve mit einem 10 MHz-QCM-Sensor mit einer Zwei-Elektroden-Struktur ($\varnothing_{\text{Elektrode}} = 5 \text{ mm}$): **türkis:** Messelektrode; **rot:** ungeprägte Referenzelektrode. Die Prägung der Polyacrylatschicht der Messelektrode erfolgte mit einem A_1 -Erythrozytenkonzentrat und die Konzentration der Messlösungen betrug $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml (in Deionat). Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min. Als Messspannung wurden 12 V an die Oszillatorschaltung angelegt.

Bei der QCM-Messung wurde eine Spannung von 12 V an die Oszillatorschaltung angelegt und die erhaltene Frequenz des Schwingquarzes mittels Frequenzzähler ausgelesen. Dadurch konnte die folgende Messkurve, welche in Abb. 70 abgebildet ist, aufgezeichnet werden. Dabei fällt die gemessene Frequenz beim Befüllen der Messzelle ab, da die Masse auf den Elektroden erhöht wird. Die Templatblutgruppe A₁ (-2350 Hz) zeigt hierbei eine größere Frequenzerniedrigung als die Blutgruppe A₂ (-1100 Hz) und sind somit voneinander zu differenzieren. Die unselektive Wechselwirkung der ungeprägten Elektrodenseite ist im Vergleich zum Messsignal geringer als bei der Messung mit Polyurethan und bewegt sich bei beiden Blutgruppenproben in der Größenordnung von 300 bis 360 Hz. Die Schichtdicke auf der Quarzelektrode beträgt hierbei 481,17 nm. Die Bestimmung erfolgte mittels AFM im *contact*-Modus und ist in Abb. 71 zu sehen.

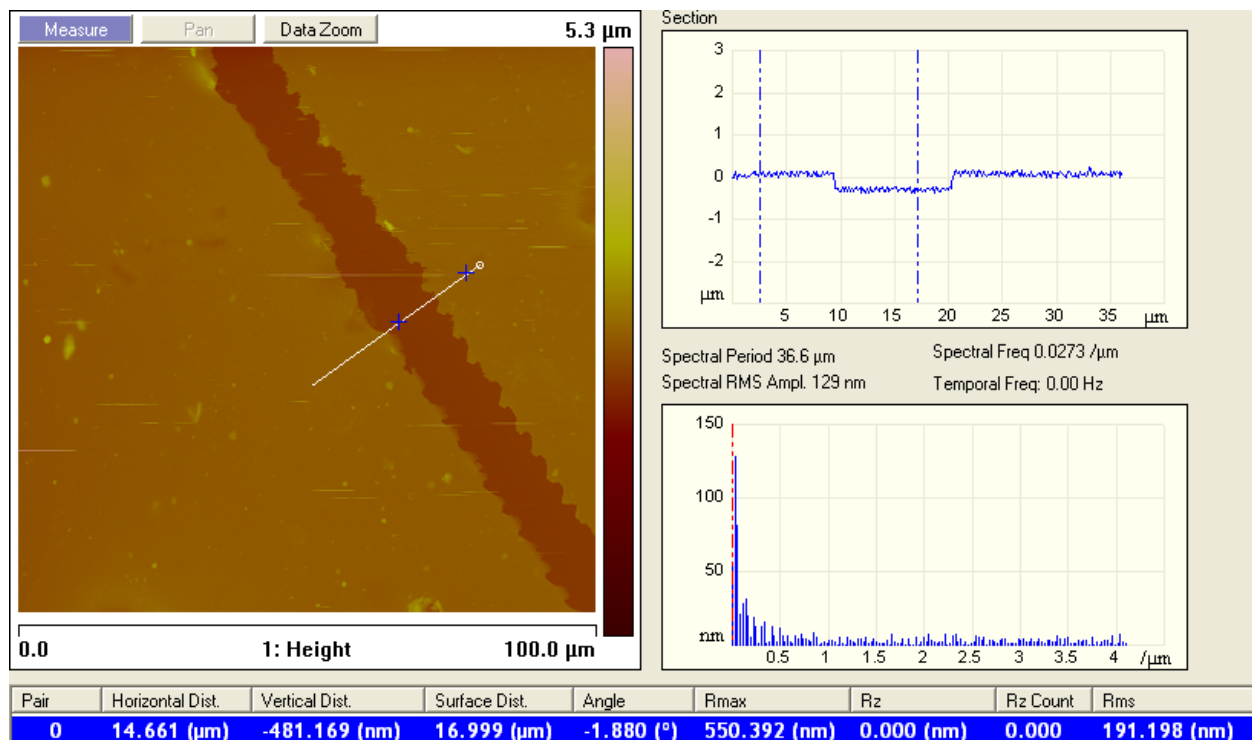


Abb. 71: Bestimmung der Schichtdicke von Polyurethan auf einem Quarz mittels AFM (*contact*-Modus bei 0,5 Hz Scan-Rate und 1024 Punkte/Linie)

4.3.4. Messung mit Polyvinylpyrrolidon als sensitive Schicht

Für die Messung mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht wurde der Polymer-Ansatz, wie in Kapitel 3.4 beschrieben benutzt und der Sensor, sowohl IDK als auch QCM, mit der Blutgruppe A₁ geprägt und ausgehärtet. Dabei betrug die Konzentration der Prägelösung $1,0 \cdot 10^7$ Zellen/ μ l. Für die Testmessung wurde der jeweilige Sensor in die Messapparatur eingebaut, für 4 Stunden gespült und Probelösungen der Blutgruppen A₁ und A₂ in Deionat mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml vermessen. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Blutzellen innerhalb von 5 Minuten gemessen wurden, damit diese ihre Form beibehalten und nicht aufplatzen.

In Abb. 72 sind die Kapazitäts- und die Widerstandsmessung zu sehen. Die Messfrequenz wurde für diese Messungen auf 10 kHz eingestellt und eine Messspannung von 1 V angelegt. Bei der Kapazitätsmessung steigt dabei die Kapazität an und fällt wie in Kapitel 4.1.1 beschrieben ab. Die Templatblutgruppe A₁ zeigt dabei ein wesentlich höheres Messsignal als die Blutgruppe A₂. Bei der Messung der Blutgruppe A₁ zeigt diese eine maximale Kapazität von 137 pF, welche nach 200 s auf 121 pF abfällt. Die Blutgruppe A₂ weist bei der Messung einen maximalen Wert von 78,5 pF auf und fällt nach 160 s auf 63,9 pF ab. Bei der Widerstandsmessung wurde ein Anfangswert von 2,511 M Ω bestimmt. Es ist zu erkennen, dass dieser beim Befüllen der Messzelle mit den Probelösungen rasch abfällt und sich bei der Blutgruppe A₁ bei einem niedrigeren Wert ein als bei der Blutgruppe A₂ einstellt. Dieser Wert bleibt während des gesamten Messschrittes annähernd konstant und schwankt nur im Bereich von einigen Ohm. Dabei erreicht die Templatblutgruppe A₁ einen Widerstand von 10441 Ω und die Blutgruppe A₂ von 18488 Ω . Wird die Messzelle mit Deionat gespült, steigt der Widerstand wieder an. Dieses erfolgt langsam und es wird ein Messwert von 2,431 M Ω erreicht.

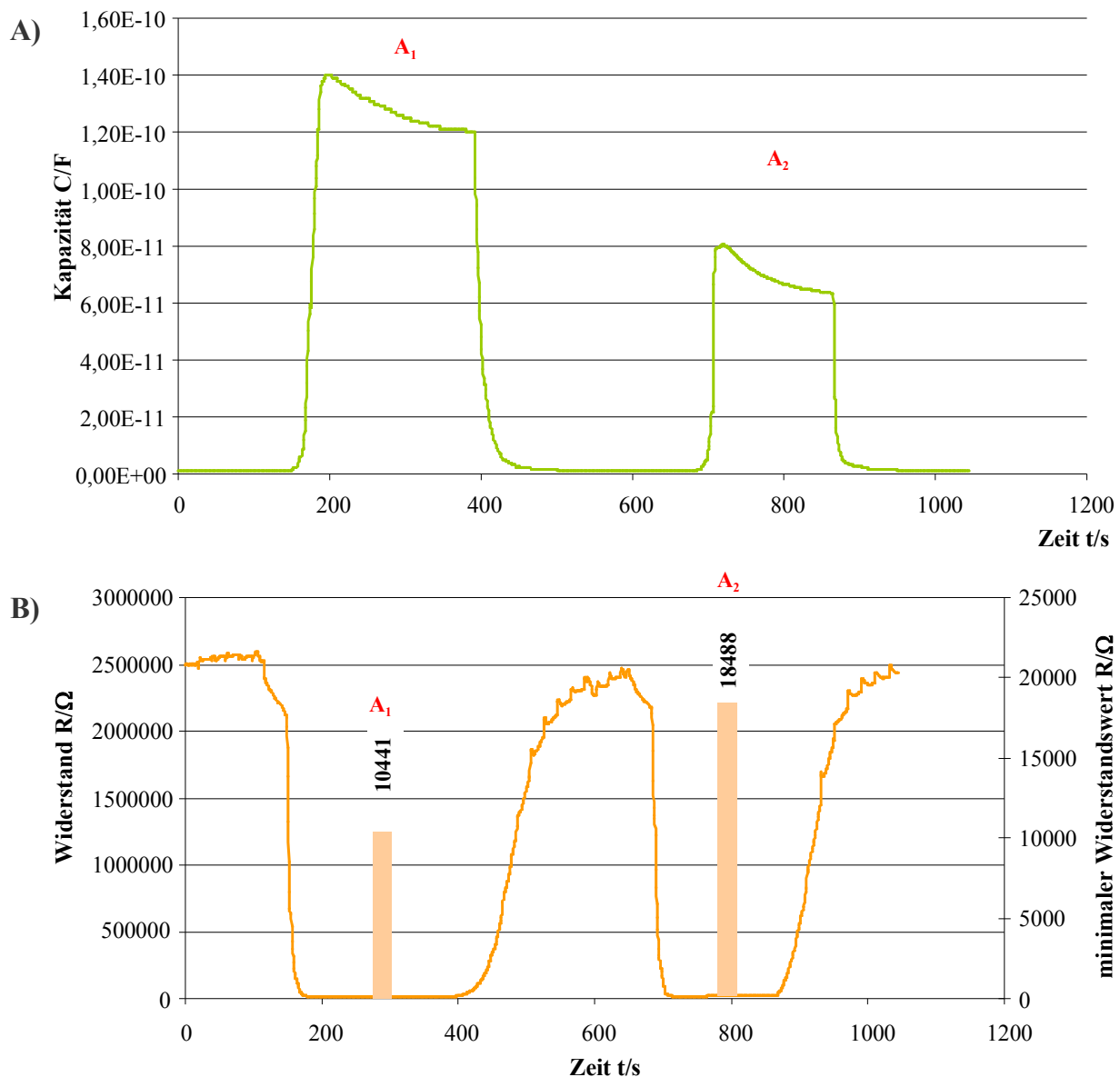


Abb. 72: Messkurve einer Kapazitätsmessung (A) und einer Widerstandsmessung (B) mit einem A₁-geprägten 10 µm-IDK-Sensor mit einer Polyvinylpyrrolidon-Schicht. Die Messfrequenz betrug 10 kHz und die Messspannung 1 V. Die Konzentration der Blutprobelösungen betrug $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und als Lösungsmittel wurde Deionat verwendet.

Die Dicke der Polyvinylpyrrolidonschicht auf dem IDK wurde mittels AFM bestimmt, indem mit einer Rasierklinge ein Schnitt in das Polymer geritzt und dessen Tiefe ermittelt wurde. Die Aufnahme erfolgte im *contact*-Modus mit einer Silicium-Nitrid-Spitze. Die Schichtdicke wurde mit 1432,75 nm ermittelt, wie in Abb. 73 zu erkennen ist. Wie auch schon bei den vorangegangenen AFM-Messungen auf dem IDK ist am Rand des Schnittes eine Anhäufung von Polymersubstanz zu erkennen.

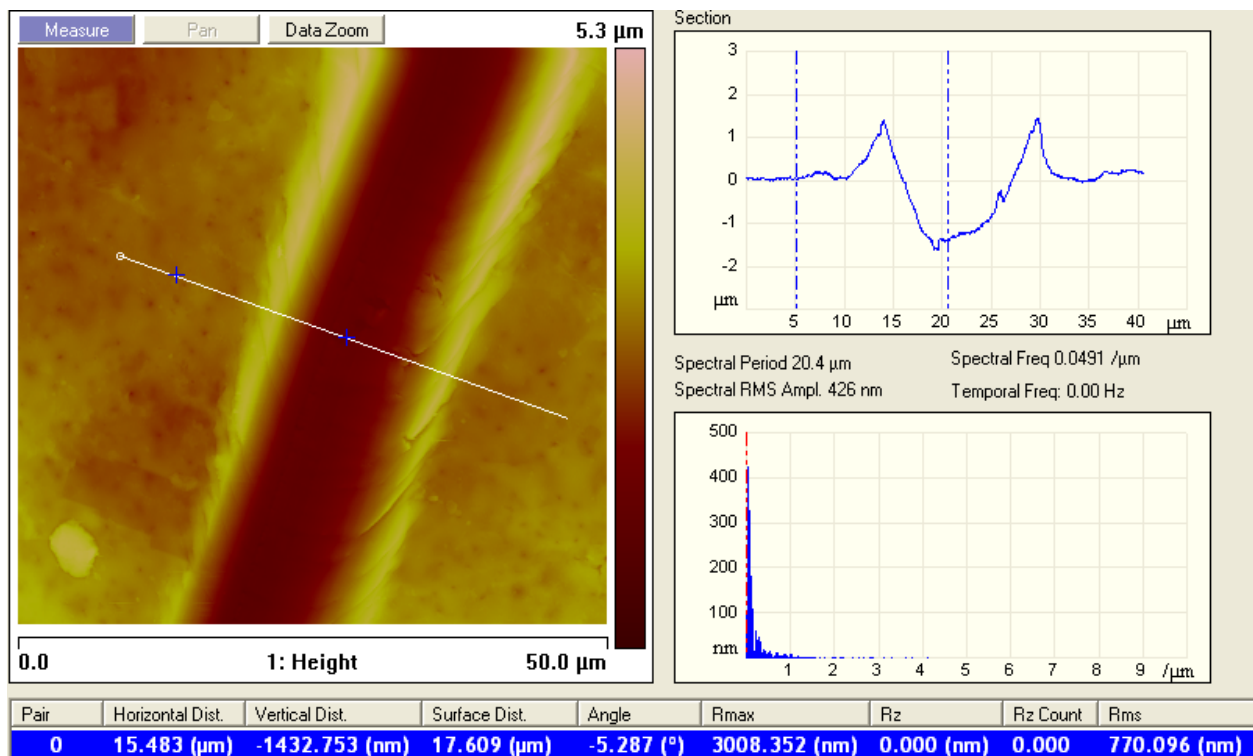


Abb. 73: Bestimmung der Schichtdicke von Polyacrylat auf einem IDK mittels AFM (*contact-*Modus bei 0,5 Hz Scan-Rate und 1024 Punkte/Linie)

Für die QCM-Messung wurde ein 10 MHz-Quarz mit einer Zwei-Elektroden-Struktur herangezogen. Um den Quarz in Schwingung zu versetzen, wurde ein Strom mit einer Spannung von 12 V und mit einer Stromstärke von 60 mA an die Oszillatorschaltung angelegt. Das Auslesen der Messfrequenz erfolgte mittels PC über einen Frequenzzähler. Bei der Messung wurde die folgende Messkurve (Abb. 74) aufgezeichnet, wobei das Signal der mit der Blutgruppe A₁ geprägten Messelektrode in türkis und das Signal der Referenzelektrode in rot eingezeichnet ist. Dabei zeigt die Templatblutgruppe A₁ (-7550 Hz) eine signifikant größere Frequenzerniedrigung als die Blutgruppe A₂ (-1830 Hz). Die unselektive Wechselwirkung der ungeprägten Elektroden-seite ist im Vergleich zum Messsignal zu vernachlässigen und bewegt sich bei beiden Blutgruppenproben in der Größenordnung von 100 bis 250 Hz.

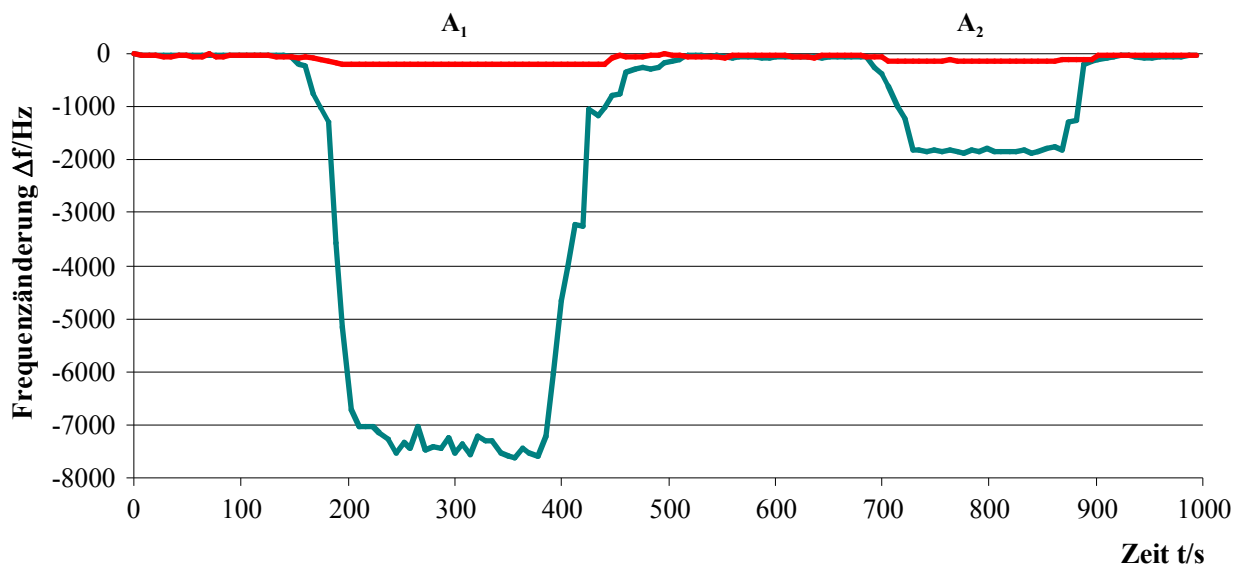


Abb. 74: Messkurve mit einem 10 MHz-QCM-Sensor mit einer Zwei-Elektroden-Struktur ($\varnothing_{\text{Elektrode}} = 5 \text{ mm}$): **türkis:** Messelektrode; **rot:** ungeprägte Referenzelektrode. Die Prägung der Polyvinylpyrrolidonschicht der Messelektrode erfolgte mit einem A_1 -Erythrozytenkonzentrat und die Konzentration der Messlösungen betrug $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml (in Deionat). Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min. Als Messspannung wurden 12 V an die Oszillatorschaltung angelegt.

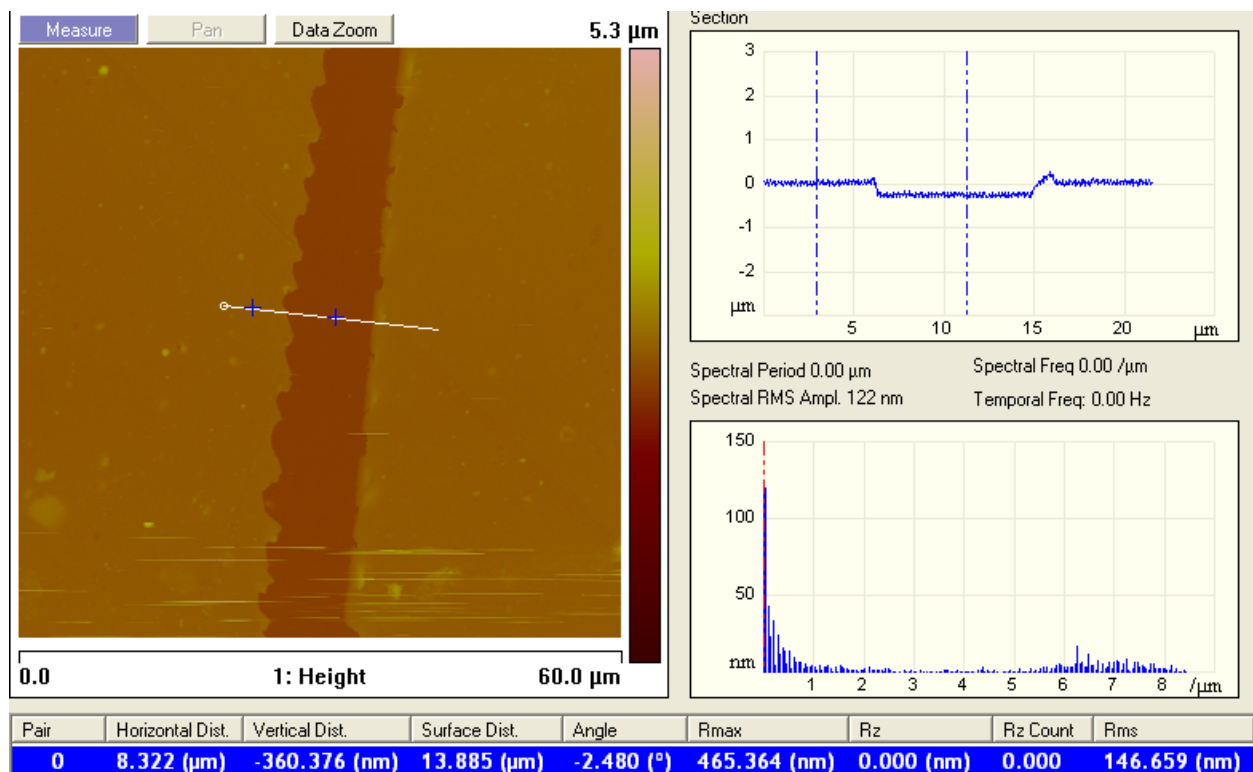


Abb. 75: Bestimmung der Schichtdicke von Polyvinylpyrrolidont auf einem Quarz mittels AFM (*contact*-Modus bei 0,5 Hz Scan-Rate und 1024 Punkte/Linie) bei einer Spindndauer von 20 s

Bei der Bestimmung der Höhe der Polyvinylpyrrolidonschicht auf der Messelektrodenseite wurde eine Dicke von 360,38 nm ermittelt, wie in Abb. 75 zu sehen ist. Dabei wurde der Quarz, wie in Kapitel 3.4.5 beschrieben, für 20 Sekunden bei 2000 Umdrehungen pro Minute abgespinn und anschließend geprägt. Da die Schichtdicke bei der QCM-Beschichtung von der Dauer des Abspinnen und der Anzahl der Umdrehungen abhängig ist, wurde zum Vergleich ein Quarz mit demselben Polyvinylpyrrolidonansatz beschichtet, wobei die Spinnzeit nur 5 Sekunden (bei 2000 Umdrehungen pro Minute) betrug. Bei der Bestimmung der Höhe der Schicht wurde eine Schichtdicke von 738,48 nm ermittelt (siehe Abb. 76). Für die durchgeführten Messungen wurde der Quarz nach der ersten Methode (20 Sekunden bei 2000 Umdrehungen pro Minute) beschichtet, da dadurch bei den QCM-Messungen eine geringere Dämpfung der Messfrequenz auftritt und somit für die Messungen besser geeignet ist.

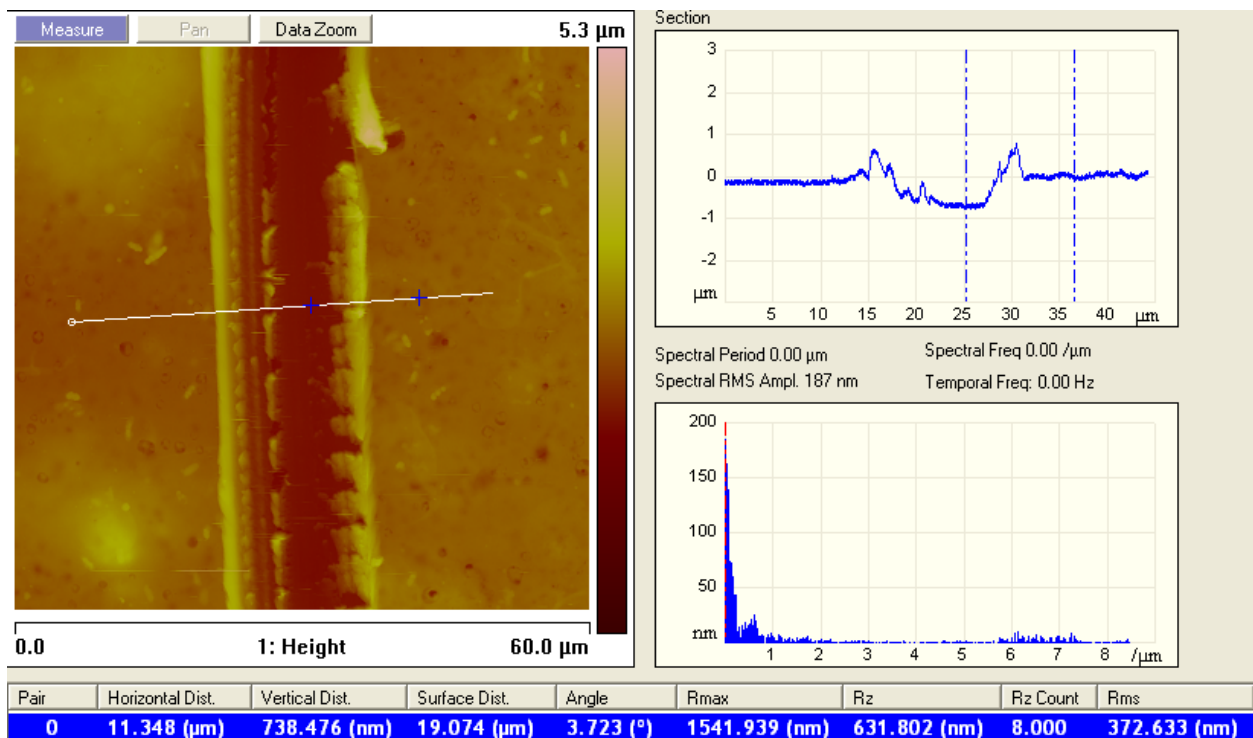


Abb. 76: Bestimmung der Schichtdicke von Polyvinylpyrrolidion auf einem Quarz mittels AFM (*contact*-Modus bei 0,5 Hz Scan-Rate und 1024 Punkte/Linie) bei einer verkürzten Spinddauer von 5 s

4.3.5. Zusammenfassung der Tests der unterschiedlichen Polymere

In Tabelle 14 sind die erhaltenen Ergebnisse der unterschiedlichen Polymere zusammengefasst. Wie zu sehen ist, konnte mit allen Sensorschichten die Templatblutgruppe A₁ von der Blutgruppe A₂ unterschieden werden. Die bei den jeweiligen Sensoren ermittelte Schichtdicke bewegt sich bei den QCM-Sensoren im Bereich von 300 nm bis 500 nm und bei den IDK-Sensoren im Bereich von 1,3 bis 1,5 µm. Dabei erreicht die Polyvinylpyrrolidonschicht auf dem IDK eine Dicke von 1432,75 nm und auf beim Schwingquarz eine Dicke von 360,38 nm. Polyacrylat zeigt Schichtdicken von 1469,19 nm (IDK) und 481,17 nm (QCM) und das Polyurethan Schichtdicken von 1328,94 nm (IDK) und 373,04 nm (QCM).

Tabelle 14: Zusammenfassung der Messungen mit unterschiedlichen Polymerschichten mit der Blutgruppe A₁ als Templatblutgruppe: Polyvinylpyrrolidon, Polyacrylat und Polyurethan. Die IDK-Messungen erfolgten mit einem 10 µm-IDK bei einer Frequenz von 10 kHz und einer Spannung von 1 V. Die QCM-Messungen erfolgten mit einem 10 MHz-Quarz. Die Konzentration der Probelösungen betrug $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml.

	Polyvinylpyrrolidon		Polyacrylat		Polyurethan	
Blutgruppe	A ₁	A ₂	A ₁	A ₂	A ₁	A ₂
IDK						
Kapazität C [†] [pF]	120,0	63,5	9,22	6,34	4,56	3,68
Widerstand R [‡] [Ω]	10442	18488	186833	187489	1164474	1171526
Schichtdicke [*] [nm]	1432,75		1469,19		1328,94	
QCM						
Frequenzänderung Δf Messelektrode [Hz]	-7550	-1830	-2350	-1100	-1700	-775
Frequenzänderung Δf Referenz [Hz]	-210	-150	-370	-375	-610	-535
Schichtdicke* [nm]	360,38		481,17		373,04	

[†] Messwertablesung wie in Abb. 40 beschrieben; [‡] Messwertablesung wie in Abb. 44 beschrieben

* Mittels AFM bestimmte Dicke der verwendeten Polymerschicht

Die wesentlich geringeren Schichtdicken bei der QCM-Messung sind auf die Spin-Methode bei der Beschichtung zurückzuführen. Dabei wird das Polymer aufgetragen und durch die bei der Rotation auftretende Zentrifugalkraft von der Quarzoberfläche weggeschleudert. Wird die Dauer des Spin-Prozesses verkürzt, so wird die Schicht auf der Oberfläche dicker, wie am Beispiel von

Polyvinylpyrrolidion gezeigt worden ist. Dabei beträgt die Schichtdicke bei 5 Sekunden Spindauer 738,48 nm und bei 20 Sekunden nur mehr 360,38 nm. Im Gegensatz dazu wird auf den IDK die Präpolymer-Lösung aufgetragen und anschließend abgestrichen, wodurch höhere Schichtdicken erreicht werden. Beim Prägeprozess konnte durch das Auftragen der Erythrozytenkonzentrate eine Kavitätendichte von 40 bis 50% erreicht werden, wie in der folgenden Abb. 77 zu sehen ist. Dabei wurden die Blutzellen beim Prägeprozess des Polyvinylpyrrolidon auf einem 10 µm-IDK mittels Lichtmikroskop (10-fache Vergrößerung) aufgenommen.



Abb. 77: Lichtmikroskopaufnahme (10-fachen Vergrößerung) der Blutzellen auf der Polyvinylpyrrolidonoberfläche beim Prägeprozess.

Zur Messung von Erythrozyten mittels IDK und QCM eignet sich von den getesteten Polymeren das Polyvinylpyrrolidon am besten. Die Einlagerung der Blutzellen erfolgt rasch und liefert somit schnell ein Messsignal, das Auswaschen der Zellen nach der Messung erfolgt zügig und reversibel und bei beiden Messprinzipien zeigt die Polyvinylpyrrolidonschicht die größten Effekte. Bei der QCM-Messung mit Polyvinylpyrrolidon weist die Messelektrode eine bis um den Faktor 4,5 größere Frequenzerniedrigung auf als bei den anderen Polymeren. Im Gegensatz dazu zeigt die Referenzelektrode die geringste Frequenzerniedrigung (150-200 Hz) auf, welches auf eine geringe unspezifische Adsorption von Erythrozyten auf der ungeprägten Elektrodenseite zurückzuführen ist. Die Blutgruppen A₁ (minus 7550 Hz) und A₂ (minus 1830 Hz) sind bei der Messung gut voneinander zu unterscheiden. Bei der IDK-Messung mit Polyvinylpyrrolidon als sensitive Schicht, zeigt sich, dass die Kapazitätswerte hier am höchsten ansteigen (120,0 pF beziehungsweise 63,5 pF), da die Blutzellen bei diesem Polymer die beste Einlagerungsmöglichkeit vorfinden, gut fixiert werden und die beste Interaktion mit dem elektrischen Feld

aufweisen können. Die Widerstandswerte weisen die geringsten Werte im Bereich von 10 bis 20 k Ω auf. Dabei liegt der Unterschied zwischen den beiden Blutgruppen bei 8046 Ω . Aufgrund der größeren Dicken der Polymerschicht auf dem IDK, ist jedoch eine längere Spüldauer von 3 bis 5 Stunden nötig um konstante Ausgangsbedingungen für die Messung zu erreichen.

Das Polyacrylat ermöglicht bei beiden Messprinzipien eine gute Differenzierung der Testblutgruppen A₁ und A₂. Jedoch zeigt es bei der QCM-Messung eine wesentlich schwächere Frequenzerniedrigung als das Polyvinylpyrrolidon. Des Weiteren ist auch das Signal der Referenzelektrode stärker ausgeprägt und weist auf ein unselektives Adsorbieren von Erythrozyten auf dem Polymer hin und somit zu einer unspezifischen Massenbeladung. Bei der IDK-Messung konnte bei der Kapazitätsbestimmung, als auch bei der Widerstandsmessung, eine Unterscheidung der beiden Blutgruppen gezeigt werden. Dabei erreicht die Kapazität Werte im Bereich von 5 bis 10 pF. Der Widerstand sinkt bei dieser Messserie nur mehr auf rund 180 k Ω ab. Die Differenz bei der Widerstandsänderung der beiden Blutgruppen beträgt 656 Ω .

Wird Polyurethan als sensitive Schicht verwendet, zeigt sich, dass bei der QCM-Messung die geringsten Frequenzänderungen gemessen wurden, wobei die Templatblutgruppe A₁ noch von der Blutgruppe A₂ unterscheidbar ist. Die Referenzelektrode wies jedoch bei diesem Polymer die höchsten Signale auf, was auf eine hohe Anzahl an unselektiv auf dem Polyurethan adsorbierte Erythrozyten zurückzuführen ist. Die Referenzelektrode erreicht eine Frequenzerniedrigung von bis zu 600 Hz. Bei der IDK-Messung steigt die Kapazität nur mehr auf 4,56 pF (Blutgruppe A₁) oder 3,68 pF (Blutgruppe A₂) an, wobei schon bei der nur mit Deionat gefüllten Messzelle die niedrigsten Kapazitätswerte im Bereich von 0,7 bis 0,8 pF gemessen wurde. Bei der Widerstandsmessung wurden Werte im M Ω -Bereich gemessen und zeigen die höchsten Messwerte für den Widerstand bei den getesteten Polymeren. Des Weiteren war zu beobachten, dass der Widerstandsanstieg beim Spülen sehr rasch erfolgte, was auf eine sehr geringe Anzahl an Poren beziehungsweise Kanäle im Polymer rückzuführen ist und damit ein schnelleres Ausspülen von eingedrungenen Ionen ermöglicht.

Wegen der guten Differenzierung der Blutgruppen A₁ und A₂, der geringen Beeinflussung durch Adsorptionseffekte am Polymer, der großen Sensorantwort, aufgrund der guten Fixierung, den ausreichend vorhandenen Poren für eine Interaktion von Ionen mit den IDK-Elektroden, und der guten Reversibilität der Polyvinylpyrrolidonschicht wurde dieses Polymer für die weiteren Messungen herangezogen.

4.4. Blutgruppendifferenzierung

4.4.1. Kapazitätsmessungen zur Blutgruppendifferenzierung

Für die Differenzierung der Blutgruppen wurden der Interdigitalkondensatoren mit einer Polyvinylpyrrolidon-Schicht beschichtet und mit den unterschiedlichen Blutgruppenlösungen geprägt. Die Interdigitalkondensatoren hatten einen Elektrodenabstand und eine Elektrodenbreite von 10 μm . Für den Prägeprozess wurde ein Erythrozytenkonzentrat mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^7$ Zellen/ μl herangezogen, auf das Präpolymer aufgetropft und für 3 Stunden unter UV Licht und für 24 Stunden unter Raumbedingungen auspolymerisiert. Der Sensor wurde vor der ersten Anwendung für 5 Stunden mit Deionat gespült, um das Templat vollständig zu entfernen. Für die Messung wurde von allen sechs zu untersuchenden Blutgruppen eine Lösung mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Die Blutproben wurden vor der Messung frisch hergestellt, und nach spätestens 5 Minuten nach deren Mischung gemessen. Damit soll das Platzen beziehungsweise Verklumpen der Blutzellen vermieden werden. Als Messfrequenz wurde 10 kHz und als Messspannung 1 V verwendet. Die Pumpgeschwindigkeit zum Befüllen und Entleeren der Messzelle betrug 0,413 ml/min, wozu eine Peristaltikpumpe eingesetzt wurde.

Wird ein A_1 -Sensor zur Messung herangezogen, zeigt die Probelösung der Blutgruppe A_1 mit 120 pF die höchste Kapazität auf und die Blutgruppe A_1B die zweithöchste mit 87,2 pF. Dies ist auf die ähnliche A-Antigen-Anzahl zurück zu führen. Dabei besitzt die Blutgruppe A_1 zwischen 800000 und 1700000 A-Antigene und die Zellmembran der A_1B -Erythrozyten besitzen zwischen 420000 und 850000 A-Antigene auf deren Oberfläche. Somit können sich die A_1B -Zellen auch in die durch das A_1 -Templat erzeugten Kavitäten einlagern und erzeugen so durch deren Fixierung eine bessere Interaktion mit dem elektrischen Feld als die anderen Blutgruppenproben. Die A_2 -Erythrozyten besitzen 160000 bis 440000 A-Antigene auf deren Oberfläche und zeigen die dritthöchste Kapazität von 63,5 pF auf. Die Blutgruppen A_2B und 0 weisen bei der Messung in etwa dieselbe Kapazität von 46,5 pF beziehungsweise 45,6 pF auf. Dabei besitzen die A_2B -Zellen rund 120000 A-Antigene und die Blutgruppe 0 besitzen keine A-Antigene. Die B-Erythrozyten besitzen ebenfalls keine A-Antigene und zeigen die niedrigste Kapazität von 35,2 pF. Die Messkurve der Kapazitätsmessung mit dem A_1 -geprägten IDK-Sensor ist in Abb. 78 dargestellt.

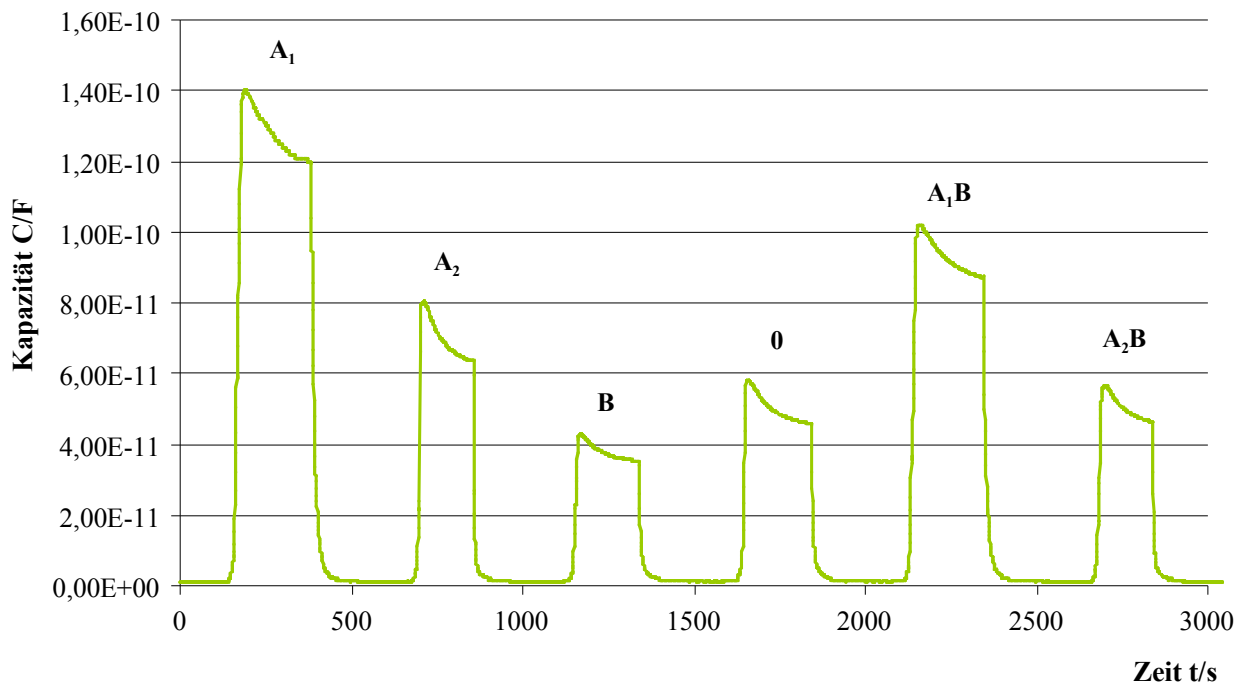


Abb. 78: Messkurve der Kapazitätsmessung mit einem Blutgruppe A₁-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Bei der Verwendung eines A₂-geprägten IDK-Sensors zeigt die Templatblutgruppe die höchste Kapazität auf (87,7 pF), gefolgt von der Blutgruppe A₂B, welche eine Kapazität von 59,5 pF liefert. Im Vergleich zur Messung mit dem A₁-Sensor zeigt bei dieser Messung die Blutgruppe A₁ eine sehr geringe Querselektivität zur A₂-Templatblutgruppe, obwohl Erythrozyten beider Blutgruppen A-Antigene auf deren Oberfläche besitzen. Dieses ist auf die um den Faktor 2 bis 5 höheren Dichte an A-Antigenen bei der Blutgruppe A₁ rückzuführen, da aufgrund dieser hohen Besetzung der Oberfläche die A₁-Erythrozyten nicht mehr beziehungsweise nicht mehr vollständig in die Kavitäten der A₂-Blutzellen passen. Durch die schlechte Fixierung liefert die Blutgruppe A₂ somit ein geringeres Signal. Im Gegensatz dazu konnte sich die Blutgruppe A₂ in A₁-Kavitäten einlagern und durch die geringe Anzahl von rund 160000 bis 440000 A-Antigene an den Bindungsstellen in der Kavität befestigt werden, wie in der vorherigen Messung gezeigt wurde. Damit reiht sich das Messsignal der Probelösung der Blutgruppe A₁, bei Verwendung eines A₂-Sensor, mit einer Kapazität von 21,7 pF hinter den Signalen der Blutgruppen 0 (36,9 pF), A₁B (30,0 pF) und B (23,7 pF) ein und stellt bei dieser Messung die geringste Kapazität dar. Die Messkurve ist in Abb. 79 abgebildet.

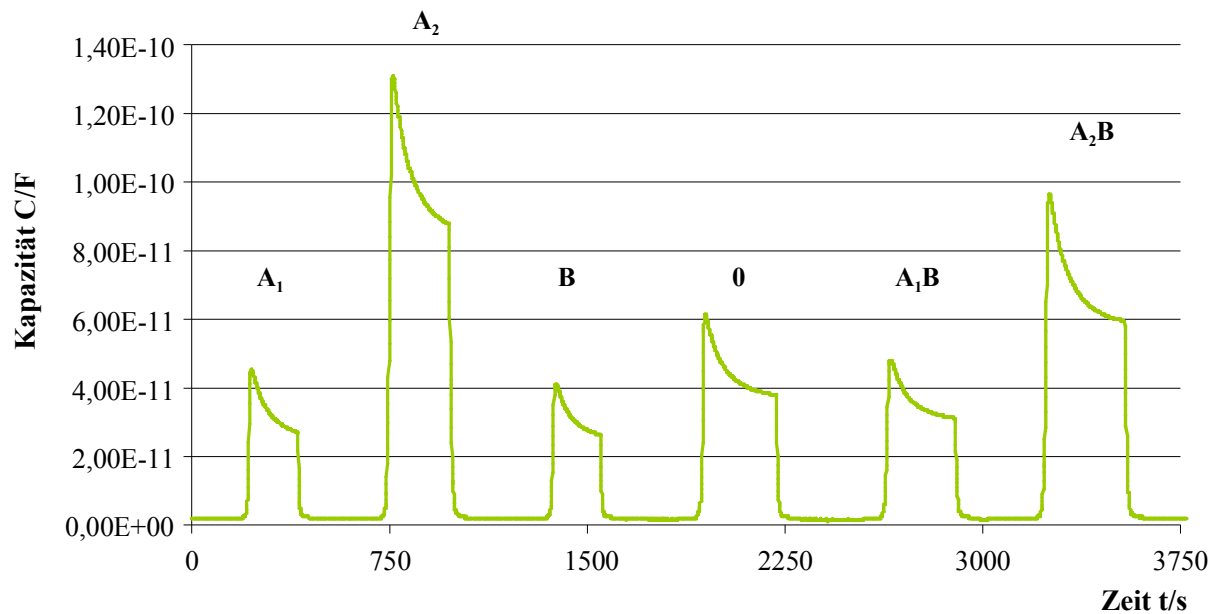


Abb. 79: Messkurve der Kapazitätsmessung mit einem Blutgruppe A₂-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Wird die Sensorschicht mit Erythrozyten der Blutgruppe B geprägt, zeigt sich, dass alle Blutgruppen, mit Ausnahme der Templatblutgruppe sehr geringe Kapazitätswerte aufweisen, wie in Abb. 80 zu erkennen ist. Die Blutzellen der Blutgruppe B besitzt neben den 610000 bis 830000 B-Antigenen und 400000 bis 470000 H-Antigene pro Zelle keine A-Antigene auf der Zellmembran und die daraus resultierenden Kavitäten liefern somit mit Blutzellen mit B- oder H-Antigenen bessere Wechselwirkungen und eine stärkere Befestigungsmöglichkeit. Da Zellen der Blutgruppen A₁ und A₂ nur A-Antigene auf deren Zellmembran besitzen, zeigen diese beiden Gruppen die geringsten Kapazitätswerte auf: A₁ liefert 7,5 pF und A₂ liefert 8,2 pF. Die Blutgruppen A₁B und A₂B besitzen neben A-Antigenen auch 310000 bis 560000 B-Antigene, jedoch keine H-Antigene und liefern Kapazitäten von 8,7 pF (A₁B) und 10,0 pF (A₂B). Die Blutgruppe 0 besitzt keine A- oder B-Antigene, jedoch eine sehr hohe Anzahl von 1,6 bis 1,9 Millionen H-Antigene, welche als Vorläufersubstanz für die A- und B-Strukturen dienen und passt damit neben der Templatblutgruppe am besten in die Kavitäten, was jedoch trotzdem nur ein Signal von 15 pF beziehungsweise von rund 25% der Kapazität der B-Blutgruppenprobelösung (61,3 pF) darstellt.

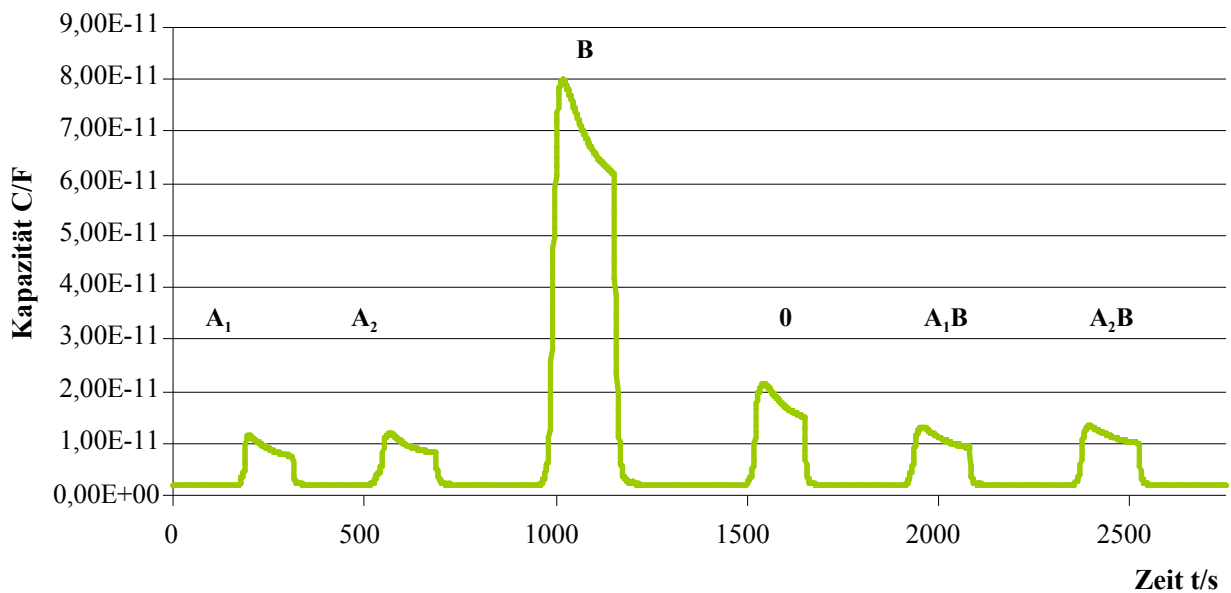


Abb. 80: Messkurve der Kapazitätsmessung mit einem Blutgruppe B-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

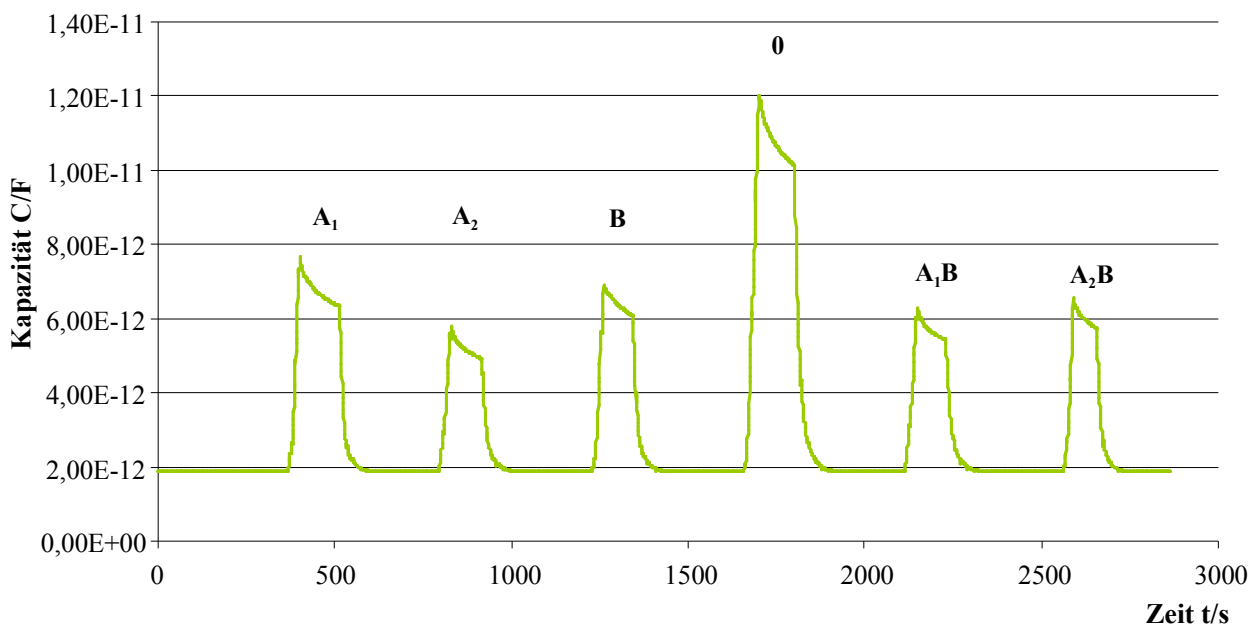


Abb. 81: Messkurve der Kapazitätsmessung mit einem Blutgruppe 0-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Die Abb. 81 zeigt die Messkurve eines Sensors, welcher mit der Blutgruppe 0 geprägt wurde. Die Blutgruppe 0 besitzt nur H-Antigene auf der Zellmembran seiner Erythrozyten, welche als Vorläufersubstanz für die anderen Antigene dient, wie in Kapitel 2.6.4 erörtert wurde. Bei der Messung mit dem Blutgruppen-0-Sensor zeigt die Templatblutgruppe 0 die höchste Kapazität von 10,1 pF während die anderen Blutgruppen geringere Werte aufweisen: Die Blutgruppe A₁ 6,3 pF, die Blutgruppe A₂ 4,8 pF, die Blutgruppe B 6,1 pF, die Blutgruppe A₁B 5,4 pF und die Blutgruppe A₂B 5,7 pF.

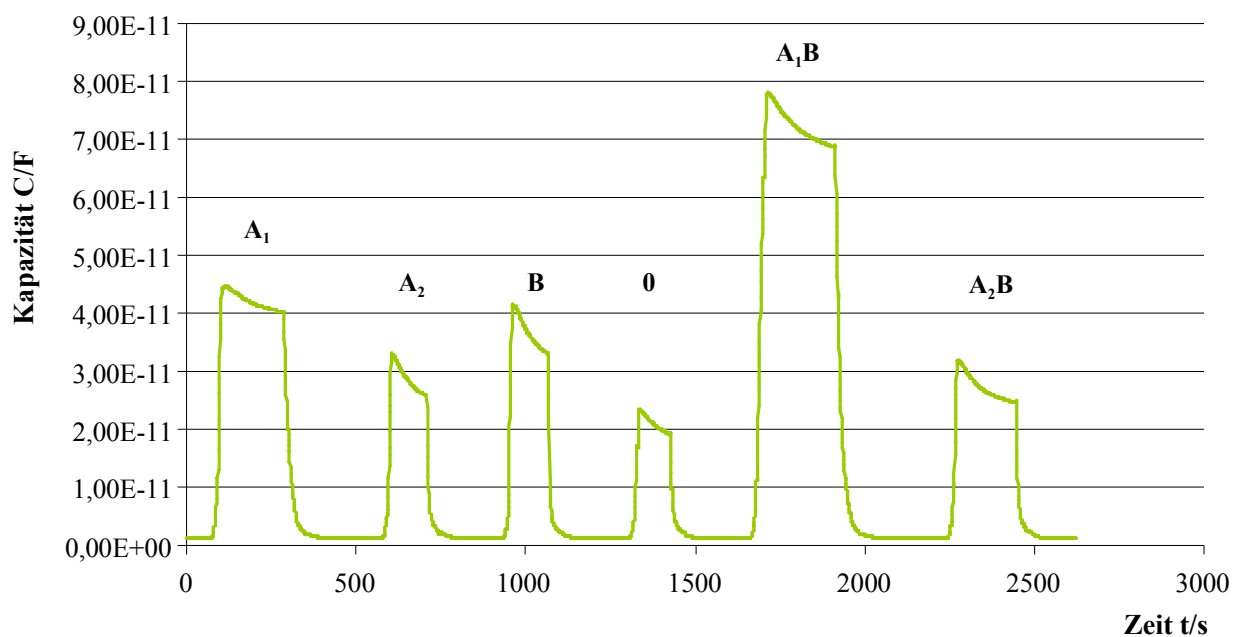


Abb. 82: Messkurve der Kapazitätsmessung mit einem Blutgruppe A₁B-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Bei der Messung mit einem A₁B-geprägten Sensor weist die Templatblutgruppe mit einer Kapazität von 54,9 pF das höchste Signal auf. Aufgrund der Antigenstrukturen auf der Erythrozytenmembran, welche 420000 bis 850000 A-Antigene und 310000 bis 560000 B-Antigene besitzt, zeigen die Blutgruppen A₁ (810000-1700000 A-Antigene) und B (610000-830000 B-Antigene) die höchsten Querempfindlichkeiten auf. Dabei steigt die Kapazität bei der mit A₁-Erythrozyten-Probelösung gefüllten Messzelle auf 40,3 pF und beim Messen der Blutgruppe B-Probelösung auf 33,1 pF. Die Blutgruppe A₂, welche 160000 bis 440000 A-Antigene besitzt, weist eine Kapazität von 25,8 pF auf und die Blutgruppe A₂B mit 120000 A-Antigene und 310000 bis 560000 B-Antigene liefert eine Kapazität von 24,6 pF. Die Blutgruppe

0, welche nur H-Antigene auf der Zellmembran aufweist, stellt dabei jene Blutgruppe mit dem geringsten Signal bei Verwendung eines A₁B-Sensors dar und kommt auf eine Kapazität von 19,3 pF. Die Messkurve der Kapazitätsmessung mit dem A₁B-geprägten IDK-Sensors ist in der folgenden Abb. 82 dargestellt.

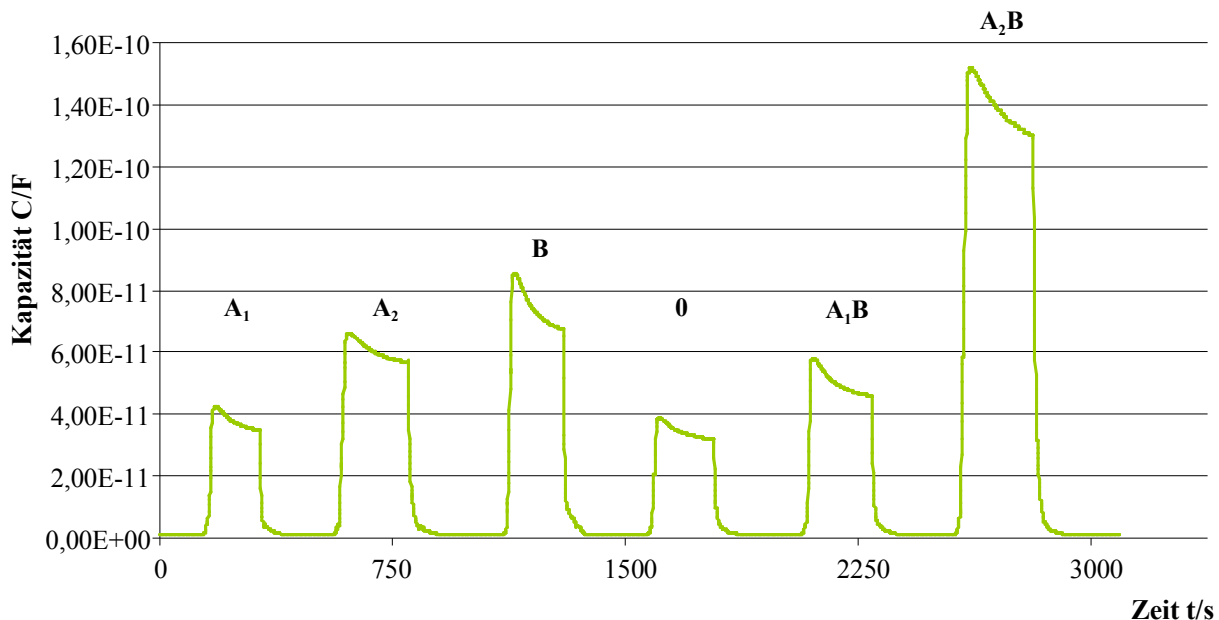


Abb. 83: Messkurve der Kapazitätsmessung mit einem Blutgruppe A₂B-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Bei der Prägung mit Erythrozyten der Blutgruppe A₂B zeigt sich ein ähnliches Bild wie bei der vorangegangenen Messung mit einem A₁B-Sensor, wie in Abb. 83 zu sehen ist. Aufgrund der 420000 bis 850000 A-Antigene und der 310000 bis 560000 B-Antigene zeigt der Sensor eine Querempfindlichkeit zu der Blutgruppe A₂ und B. Dabei erreicht die Templatblutgruppe A₂B einen Kapazitätswert von 130 pF, die Blutgruppe B von 67,5 pF und die Blutgruppe A₂ von 56,7 pF. Die Blutgruppe A₁B liefert bei der Messung eine Kapazität von 46,0 pF. Dabei ist die Anzahl der A-Antigene für die unterschiedlich gute Fixierung und die damit verbundene niedrigere Kapazität für A₁B-Erythrozyten ausschlaggebend. Auf den Zellmembranen der A₁B-Zellen ist eine um 4- bis 8-fach höhere A-Antigenanzahl verankert, welche eine gute Einlagerung in die A₂B-Kavitäten verhindert. Ebenso besitzt die Blutgruppe A₁ eine wesentlich höhere Antigenanzahl als die Templatzele und liefert eine Kapazität von 34,9 pF. Die

Blutgruppe 0 zeigt eine Kapazität von 32,0 pF und stellt so das niedrigste Messsignal bei dieser Messung dar.

Aufgrund der Kapazitätsmessung mit dem IDK-Sensor sind die sechs Blutgruppen des AB0-Systems voneinander zu unterscheiden. Die Kapazitätswerte der Templatblutgruppen weisen bei allen Messserien die höchsten Werte auf. Blutgruppen mit einer ähnlichen Oberflächenstruktur zeigen dabei, neben der Templatblutgruppe, die nächsthöheren Werte auf. Jene Blutgruppen, welche sehr unterschiedliche Antigene auf deren Membranfläche besitzen, liefern die geringsten Werte.

4.4.2. Widerstandsmessungen zur Blutgruppendifferenzierung

Für die Messung der Änderung der Widerstandswerte, welche bei der Einlagerung der Blutzellen in die durch die Templatblutzelle beim Prägeprozess zurück gelassene Kavität erfolgt, wurde der 10 µm-Interdigitalkondensator mit einer Polyvinylpyrrolidon-Schicht beschichtet und mit den unterschiedlichen Blutgruppenlösungen geprägt. Für den Prägeprozess wurde ein Erythrozytenkonzentrat mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^7$ Zellen/µl herangezogen und auf das Präpolymer aufgetropft und für 3 Stunden unter UV Licht und für 24 Stunden unter Raumbedingungen auspolymerisiert. Der Sensor wurde vor der ersten Anwendung für 5 Stunden mit Deionat gespült, um das Templat vollständig aus dem Polymer zu entfernen. Für die Messungen wurden von allen sechs zu untersuchenden Blutgruppen eine Lösung mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Die Blutproben wurden vor der Messung frisch hergestellt, und nach spätestens 5 Minuten nach dem Zusammenmischen gemessen. Damit soll das Platzen beziehungsweise Verklumpen der Blutzellen vermieden werden. Als Messfrequenz wurde 10 kHz und als Messspannung 1 V verwendet. Die Pumpgeschwindigkeit zum Befüllen und Entleeren der Messzelle betrug 0,413 ml/min und es wurde eine Peristaltikpumpe verwendet.

Für die erste Messserie wurde ein A₁-geprägter Sensor herangezogen und die Probenlösungen in der Reihenfolge A₁, A₂, B, 0, A₁B und A₂B gemessen. Dabei wurde ein Anfangswert des Widerstandes von 2,5 MΩ für die nur mit Deionat gefüllte Messzelle ermittelt. Da das Einbringen der Blutlösungen in umgekehrter Pumprichtung erfolgt, ist ein Effekt aufgrund der Richtungsänderung der Pumpe zu beobachten. Dabei steigt der Widerstand kurz um einige kΩ an und fällt dann rasch ab, wobei nach knapp einer Minute der eigentliche Messwert, das Minimum der Kurve, erreicht wird. Dieser bleibt über die gesamte Messung in einem Bereich von einigen hundert Ohm konstant. Die Messkurve ist in Abb. 84 dargestellt und die daraus resultierenden Widerstandswerte für die einzelnen Blutgruppen-Probeflösungen ist in Abb. 85 zusammengefasst. Die Probeflösung der Blutgruppe A₁ liefert dabei einen Widerstandswert von 10442 Ω, gefolgt von der Blutgruppe A₁B mit 14438 Ω und den Blutgruppen A₂B und 0 mit 22207 Ω und 22706 Ω. Die Blutgruppen B und A₂ zeigen die höchsten Widerstandswerte: 26696 Ω (Blutgruppe B) und 31758 Ω (Blutgruppe A₂).

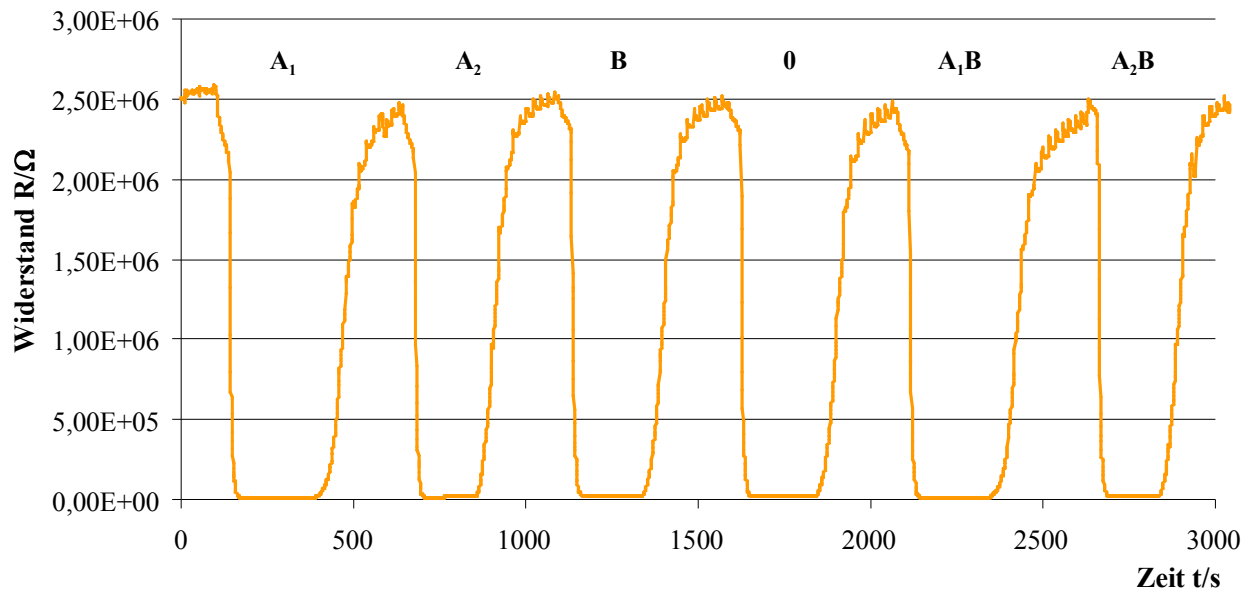


Abb. 84: Messkurve der Widerstandsmessung mit einem Blutgruppe A₁-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

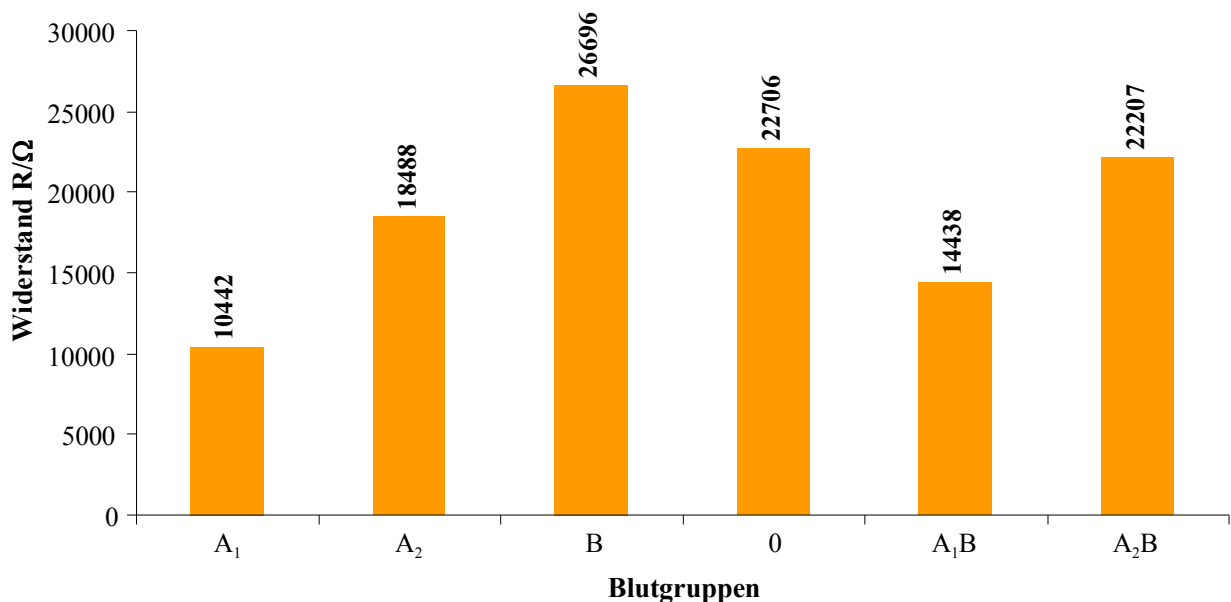


Abb. 85: Zusammenfassung der Messwerte bei gefüllter Messzelle der Widerstandsmessung mit einem Blutgruppe A₁-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Bei der Verwendung eines A₂-geprägten Sensors, zeigt die Messkurve ein gleiches Bild wie bei der vorangegangenen Messung: Durch die Umkehrung der Pumprichtung steigt der Widerstandswert kurz geringfügig an und fällt danach rasch ab. Nachdem die Probelösung in die Messzelle einströmt, fällt der Wert dann auf einige Tausend Ohm ab und entspricht den Widerstands-Messwerten für die jeweilige Probe. Beim Spülen mit Deionat steigt der Widerstand wieder an und erreicht nach zirka 2 bis 5 Minuten den Ausgangswert. Eine längere Spüldauer ist in Abb. 86 zum Beispiel bei der Messung der Blutgruppe B und der Blutgruppe 0 zu erkennen. In beiden Fällen steigt der Widerstandswert beim Spülen rasch auf Werte von 2 bis 2,5 MΩ an und benötigt dann eine längere Zeit, bis der ursprüngliche Wert von 3,2 MΩ erreicht wird.

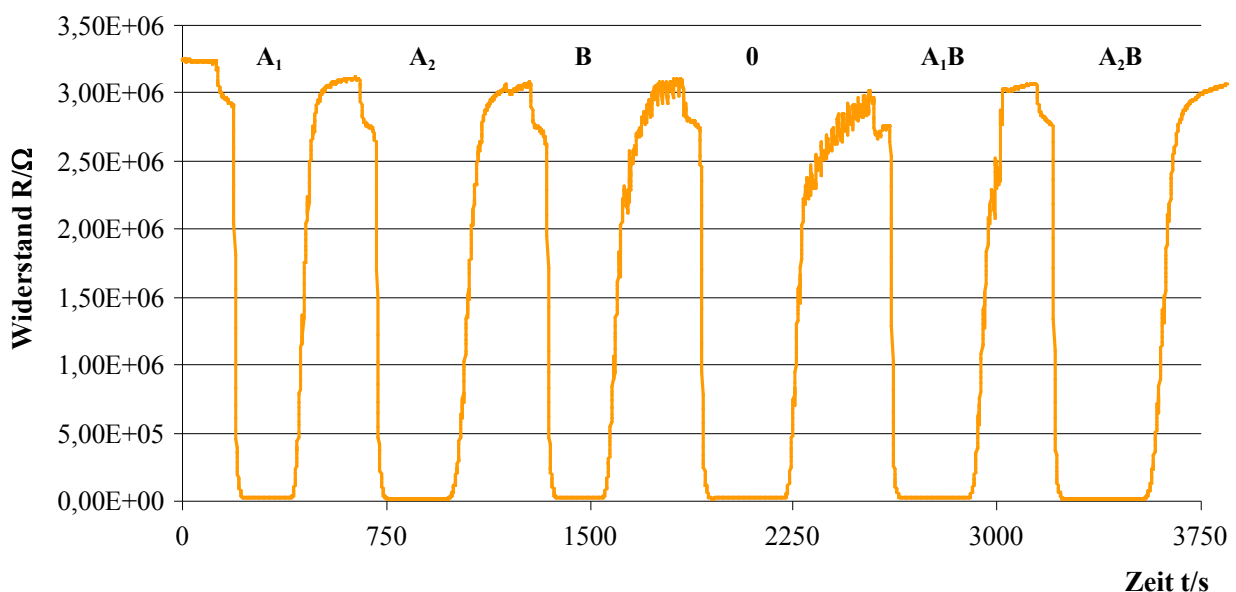


Abb. 86: Messkurve der Widerstandsmessung mit einem Blutgruppe A₂-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Die ermittelten Messwerte der einzelnen Widerstandswerte der verschiedenen Probelösungen sind in Abb. 87 graphisch dargestellt. Die Templatblutgruppe A₂ erreicht dabei einen Wert von 13933 Ω und zeigt somit mit großem Abstand den geringsten Widerstandswert bei dieser Messserie auf. Die Blutgruppe A₂B liefert einen Messwert von 17969 Ω und stellt den zweitniedrigsten Wert dar. Gefolgt von der Blutgruppe 0 mit 23601 Ω, der Blutgruppe A₁B mit 26071 Ω, der Blutgruppe A₁ mit 28954 Ω und der Blutgruppe B mit 30855 Ω.

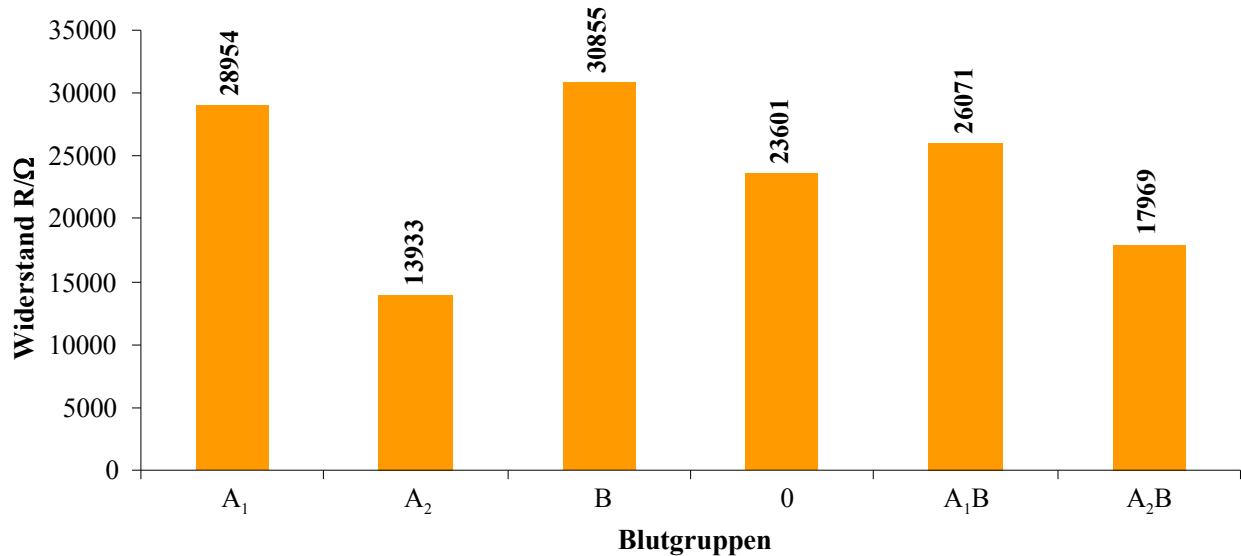


Abb. 87: Zusammenfassung der Messwerte bei gefüllter Messzelle der Widerstandsmessung mit einem Blutgruppe A₂-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

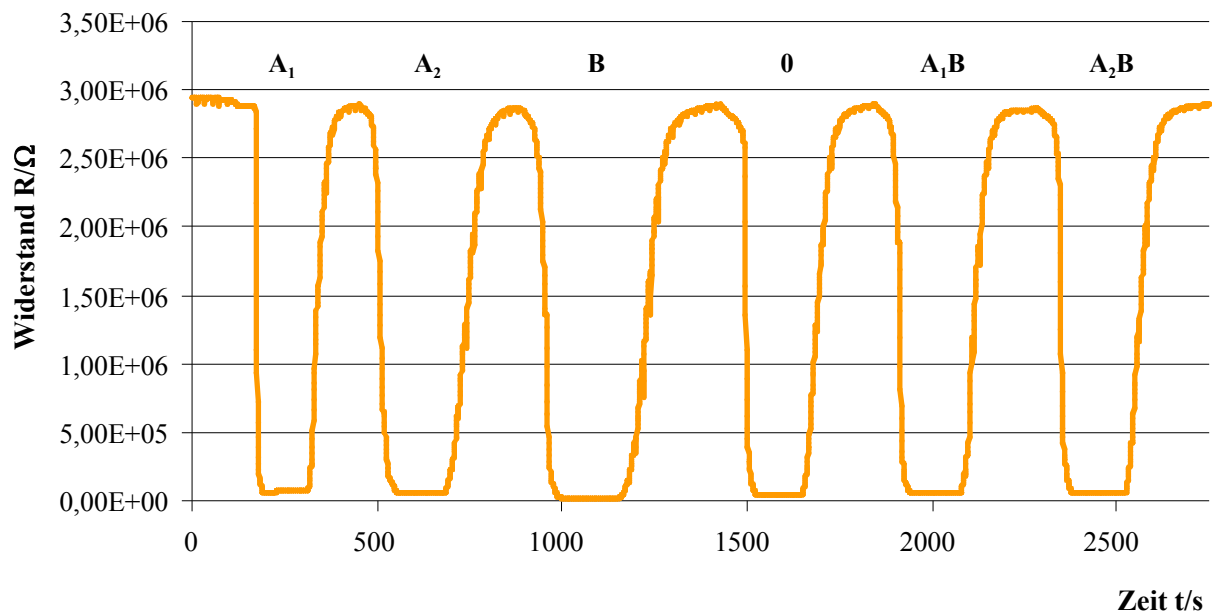


Abb. 88: Messkurve der Widerstandsmessung mit einem Blutgruppe B-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Wird der Sensor mit der Blutgruppe B geprägt ist schon an der Messkurve (Abb. 88) zu erkennen, dass die Probelösung der Blutgruppe B den niedrigsten Messwert liefert. Die Widerstände der anderen Blutgruppenproben liegen hier um den Faktor 2,5 bis 4,1 höher als der Messwert der Templatblutgruppe, wie auch in der Abb. 89 mit den Absolutwerten zu erkennen ist. Die Lösung der Blutgruppe B ergibt bei einer Erythrozytenkonzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Zellen/ml einen Widerstand von 19119Ω . Die Blutgruppe 0 liefert dagegen einen 2,5fach höheren Widerstand von 47970Ω , die Blutgruppe A₂B 63616Ω (3,3fache), die Blutgruppe A₂ 67196Ω (3,5fache), die Blutgruppe A₁B 67582Ω (3,5fache) und die Blutgruppe A₁ 79145Ω (4,1fache).

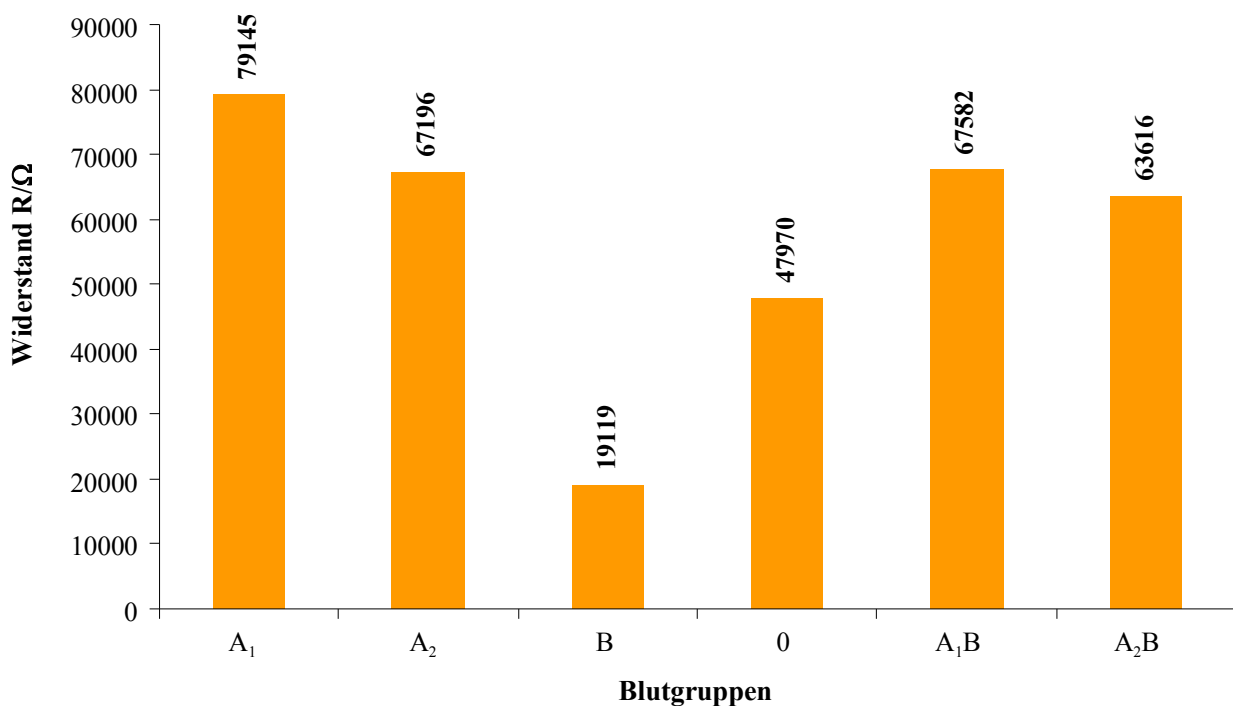


Abb. 89: Zusammenfassung der Messwerte bei gefüllter Messzelle der Widerstandsmessung mit einem Blutgruppe B-geprägten $10 \mu\text{m}$ -IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

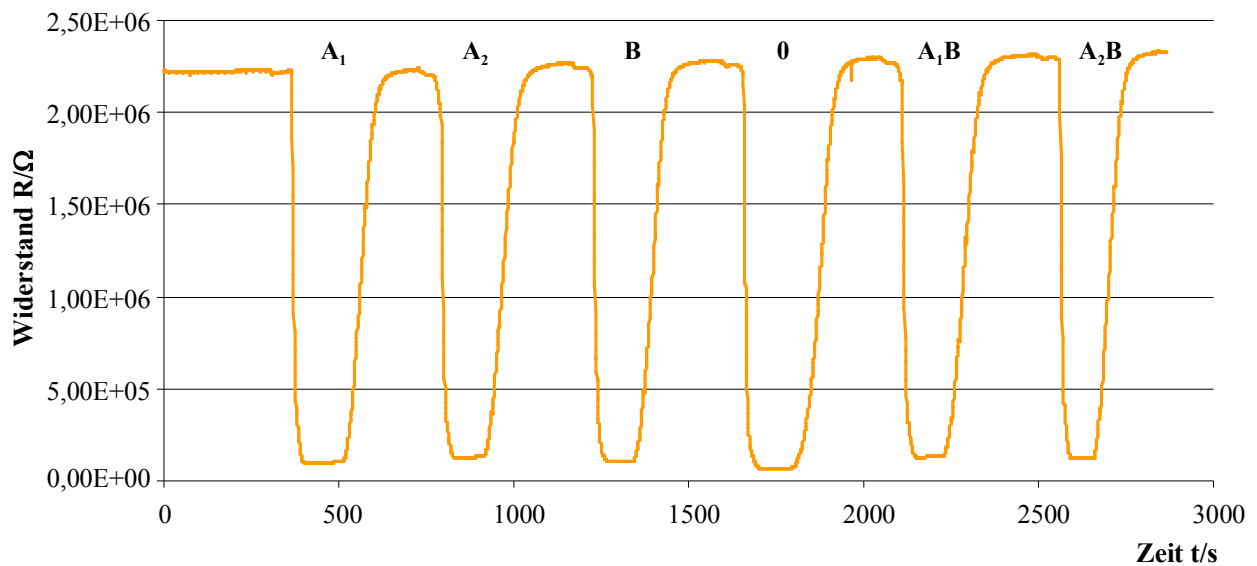


Abb. 90: Messkurve der Widerstandsmessung mit einem Blutgruppe 0-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

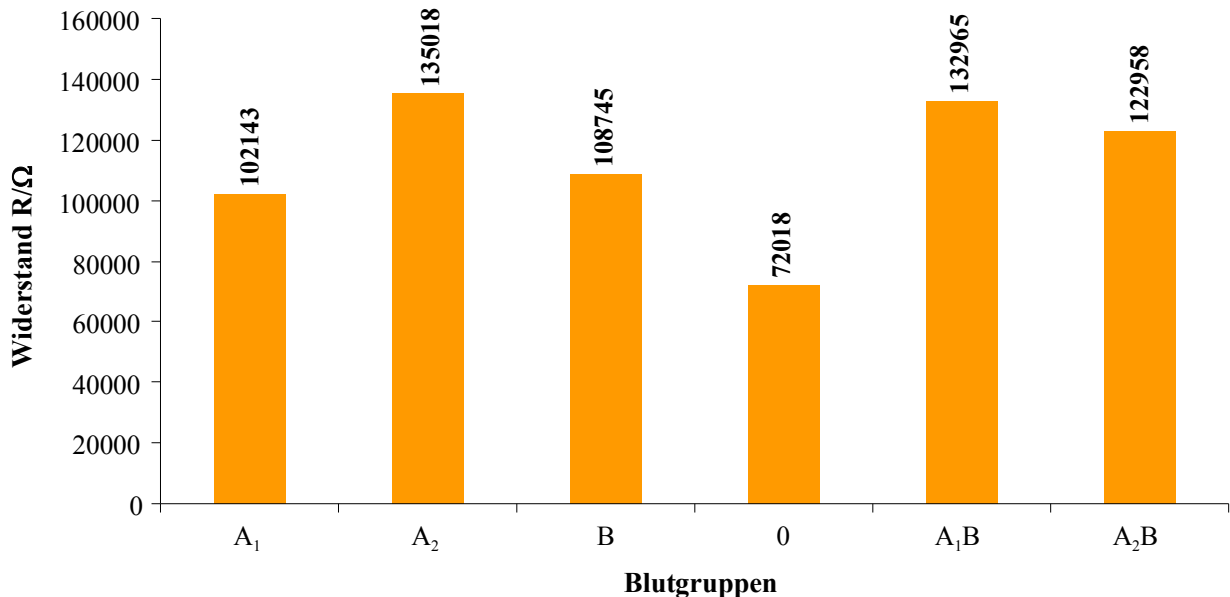


Abb. 91: Zusammenfassung der Messwerte bei gefüllter Messzelle der Widerstandsmessung mit einem Blutgruppe 0-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Bei der Messung mit dem Blutgruppen-0-Sensor liefert Deionat einen Anfangswiderstandswert von $2,2\text{ M}\Omega$. Dieser wird durch das Einpumpen der Probelösungen rasch auf den Messwert erniedrigt, wie in Abb. 90 zu sehen ist. Im Gegensatz zu anderen Messungen wies dieser Sensor nur sehr geringe Pumpeffekte auf, das heißt, der Widerstandswert sinkt sofort auf den Messwert ab und zeigt kein Abfallen des Widerstandes durch die Umkehrung der Pumprichtung. Die Probenlösungen wurden in der Reihenfolge A_1 , A_2 , B, 0, A_1B und A_2B gemessen. Das Zurückführen des Widerstandes auf den ursprünglichen Wert von $2,2\text{ M}\Omega$ durch Spülen der Messzelle erfolgte in dieser Messserie rasch und sehr reversibel, so dass nach allen Messungen ein Widerstandswert von $2,2\pm 0,1\text{ M}\Omega$ erreicht werden konnte. Die Templatblutgruppe 0 lieferte bei dieser Messserie einen Messwert von $72018\text{ }\Omega$, die Blutgruppe A_1 $102143\text{ }\Omega$, die Blutgruppe B $108745\text{ }\Omega$, die Blutgruppe A_2B $122958\text{ }\Omega$, die Blutgruppe A_1B $132965\text{ }\Omega$ und die Blutgruppe A_2 $135018\text{ }\Omega$. Somit ist die Probelösung der Blutgruppe 0 von den anderen Proben zu differenzieren gewesen. Die Absolutwerte der Messung sind in Abb. 91 zusammengefasst.

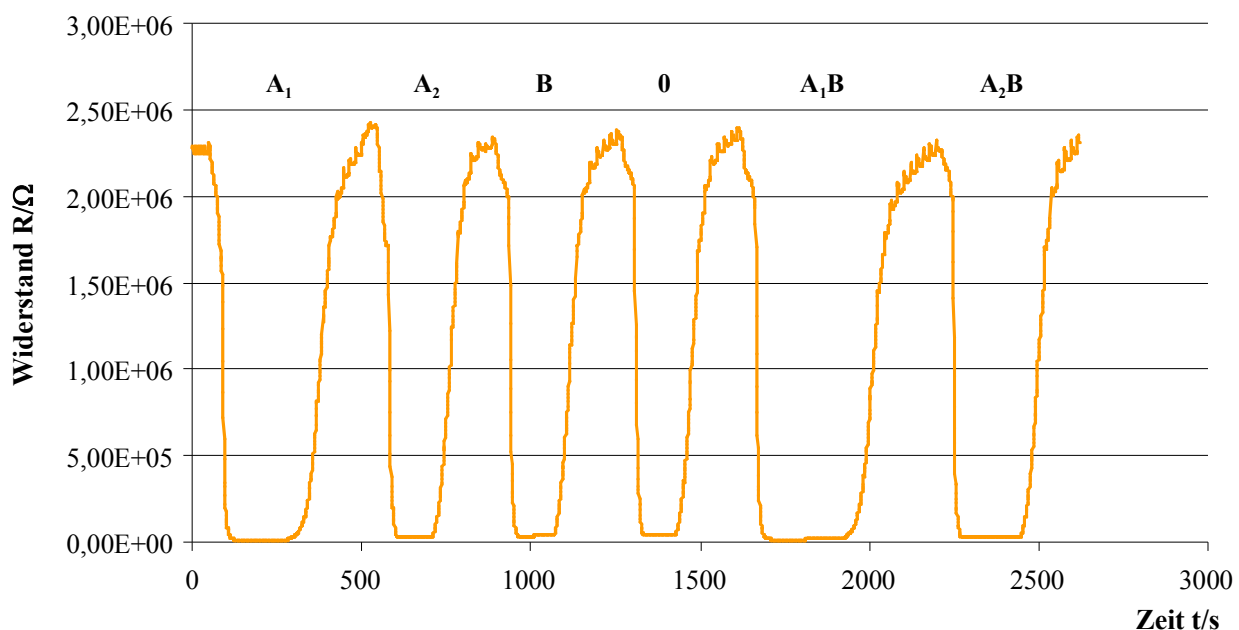


Abb. 92: Messkurve der Widerstandsmessung mit einem Blutgruppe A_1B -geprägten $10\text{ }\mu\text{m}$ -IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz , einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0\cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von $0,413\text{ ml/min}$.

Bei Verwendung eines A_1B -Sensors wurde für Deionat ein Ausgangsmesswert von $2,3\text{ M}\Omega$ ermittelt. Die Messkurve der Vermessung der unterschiedlichen Blutgruppen mit dem A_1B -Sensor ist in Abb. 92 dargestellt.

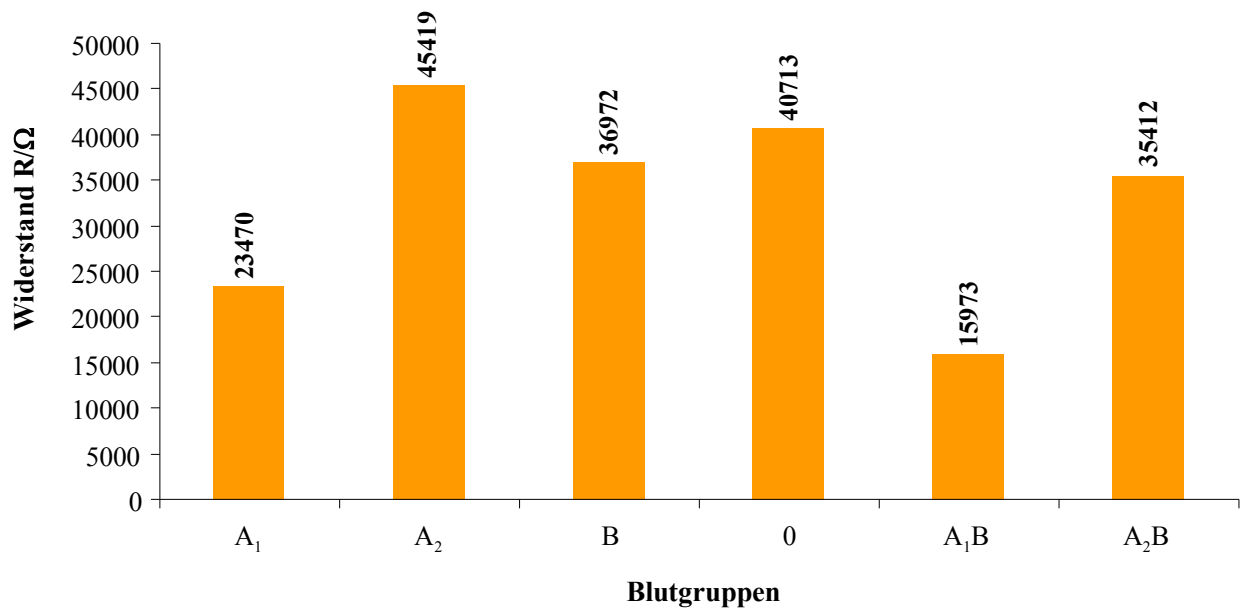


Abb. 93: Zusammenfassung der Messwerte bei gefüllter Messzelle der Widerstandsmessung mit einem Blutgruppe A₁B-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Die Blutgruppe A₁B, welche auch als Templatblutgruppe gedient hat, weist dabei den niedrigsten Messwert von 15973 Ω auf. Die Blutgruppe A₁ liefert einen Messwert von 23470 Ω und wird dabei von der Blutgruppe A₂B gefolgt, welche einen Widerstand von 35412 Ω zeigt. Die Blutgruppen B, A₂ und 0 liefern Werte im Bereich von 40 kΩ. Dabei besitzt die Blutgruppe B mit 36972 Ω um 4000Ω weniger als die Blutgruppe 0 (40713 Ω). Den höchsten Widerstand liefert die Blutgruppe A₂ mit einem Wert von 45419 Ω. Stellt man die Messwerte der unterschiedlichen Blutproben nun in Relation zur Templatblutgruppe A₁B, so liefert die Blutgruppe A₁ ein Signal, welches 146% des Messwertes der Blutgruppe A₁B entspricht. Die anderen Blutgruppen liegen mit ihren Werten weit über dem zweifachen der Widerstandswerte der Templatblutgruppe: A₂ liegt bei 284%, B bei 231%, 0 bei 254% und die Blutgruppe A₂B liegt bei 222% des Messwertes der Blutgruppe A₁B. Die Absolutwerte der einzelnen Probelösungen sind in Abb. 93 zueinander dargestellt.

Die Messkurve mit einem A₂B-Sensor ist in der folgenden Abb. 94 abgebildet. Bei dieser Messserie wurde ein Ausgangswiderstand von 2,5 MΩ ermittelt, welcher jedoch während der Messung nur mehr asymptotisch erreicht werden konnte und die Widerstandswerte nach dem Spülen nach jeder Messung unter dem Anfangswert lagen

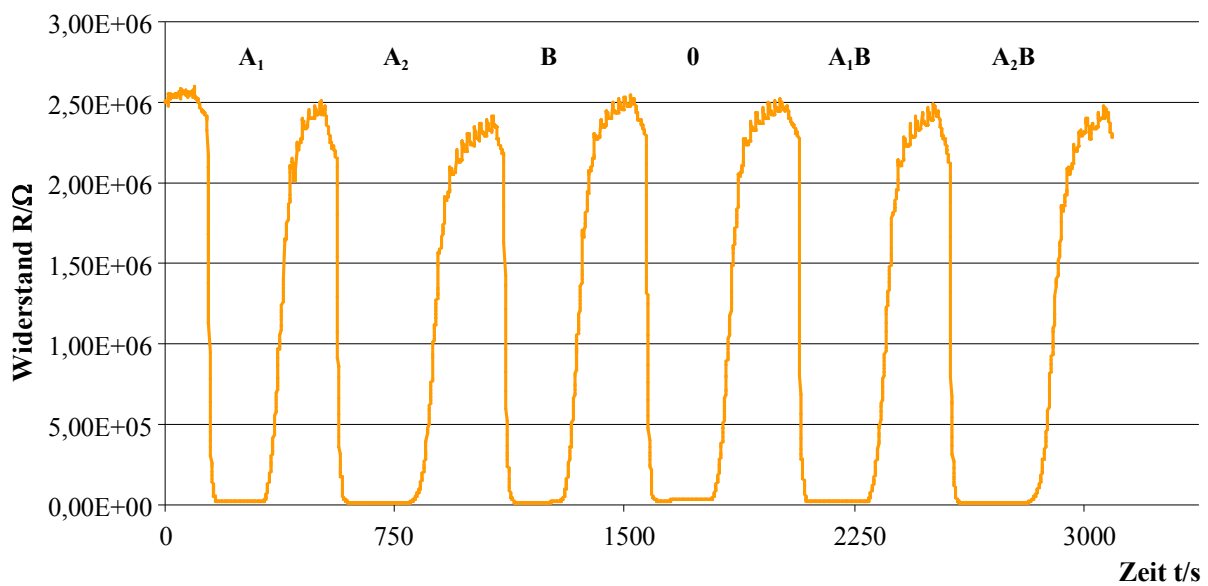


Abb. 94: Messkurve der Widerstandsmessung mit einem Blutgruppe A₂B-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

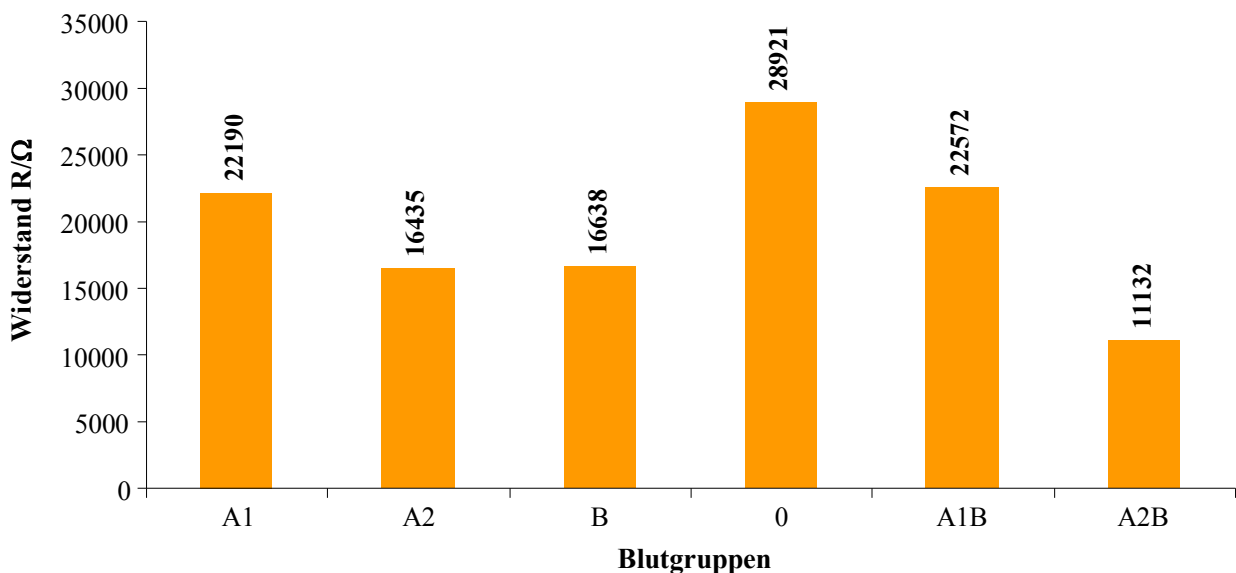


Abb. 95: Zusammenfassung der Messwerte bei gefüllter Messzelle der Widerstandsmessung mit einem Blutgruppe A₂B-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Wird ein A₂B-Sensor für die Messung herangezogen, zeigt die Templatblutgruppe die niedrigsten Widerstandswerte, wobei das Messsignal von 2,5 MΩ auf 11132 Ω abfällt. Die Blutgruppen A₂ und B liefern ebenfalls Werte unter 20 kΩ: A₂ zeigt einen Widerstand von 16435 Ω und B einen Widerstand von 16638 Ω. Die Blutgruppe A₁ erreicht einen Messwert von 22190 Ω und die Blutgruppe A₁B einen Wert von 22572 Ω. Die Blutgruppe 0 liefert den höchsten Widerstandswert von 28921 Ω, wie in Abb. 95 dargestellt ist.

Bei allen Widerstandsmessungen zeigte jene Blutgruppe mit der die Polymerschicht geprägt worden ist die niedrigsten Widerstandswerte. Auch die Subblutgruppen der Blutgruppe A konnten durch die molekular geprägten Schichten und mittels Messung des Widerstandes unter der Verwendung von IDK-Sensoren unterschieden werden. Das Sensorsystem zeigte weiters eine gute Reversibilität und reproduzierbare Messwerte. Durch Spülen der Messzelle konnten die Anfangswerte wieder erreicht werden und eine neue Messserie gestartet werden.

4.4.3. QCM-Messungen zur Blutgruppendifferenzierung

Zum Vergleich der unterschiedlichen Methoden wurde neben der kapazitiven und resistiven Messung auch eine Blutgruppendifferenzierung mittels massensensitiven Sensoren durchgeführt. Dazu wurde eine Quarzmikrowaage (10 MHz-Quarz) mit zwei Elektroden herangezogen. Beide Elektroden wurden mit Polyvinylpyrrolidon beschichtet und eine davon mit der jeweiligen Erythrozytenkonzentrat ($c = 1,0 \cdot 10^7$ Zellen/ μl) geprägt. Als Messlösungen wurde aus den sechs verschiedenen Blutgruppenproben jeweils eine verdünnte Lösung in Deionat hergestellt. Die Konzentration der Probelösung betrug $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Die Messung erfolgte bei einer angelegten Spannung von 12 V. Die Pumpgeschwindigkeit beim Befüllen, Entleeren und Waschen der Messzelle betrug 0,413 ml/min. Die Befüllung der Messzelle erfolgte analog der IDK-Messung in umgekehrter Reihenfolge, damit die Blutzellen durch die Peristaltikpumpe nicht zerquetscht oder verformt werden.

Wird ein Quarz mit einer A₁-geprägten Elektrode in die Messzelle eingebaut, so sieht man bei der Messung, dass die Templatblutgruppe die größte Frequenzänderung zeigt. Dieses ist darauf zurückzuführen, dass die Blutzellen der A₁ Blutgruppe am besten in die Kavitäten der Polymerschicht passen und dort vollständig und fest fixiert werden. Damit kann kein Austausch mehr in die Lösung erfolgen und die Masse der gesamten Zelle trägt zur Frequenzerniedrigung nach Sauerbrey bei. Dabei fällt die Ausgangsfrequenz der Messelektrode von 9933748 Hz auf 9926198 Hz ab, was einer Änderung von 7550 Hz entspricht. Bei der Referenzelektrode fällt ebenfalls der Wert geringfügig ab, da auch an der ungeprägten Polymerschicht Erythrozyten adsorbiert werden können. Diese erfolgt aufgrund von Wechselwirkungen zwischen den Proteinen in und auf der Zellmembran und den Seitenketten und funktionellen Gruppen des Polymers. Der Effekt auf der Referenzelektrode ist jedoch sehr klein: Die Grundfrequenz fällt von 9893592 Hz auf 9893350 Hz ab, was einer Änderung von 242 Hz entspricht, also einen um den Faktor 31 kleineren Wert als jener der Messelektrode. Wie auch bei den Absolutwerten zu erkennen ist, besitzt die geprägte Elektrodenseite eine höhere Anfangsfrequenz als die Referenzelektrode. Dieses kann darauf zurückgeführt werden, dass bei der Prägung Kavitäten entstehen und so weniger Polymer zurück bleibt und somit auch weniger Masse vorhanden ist.

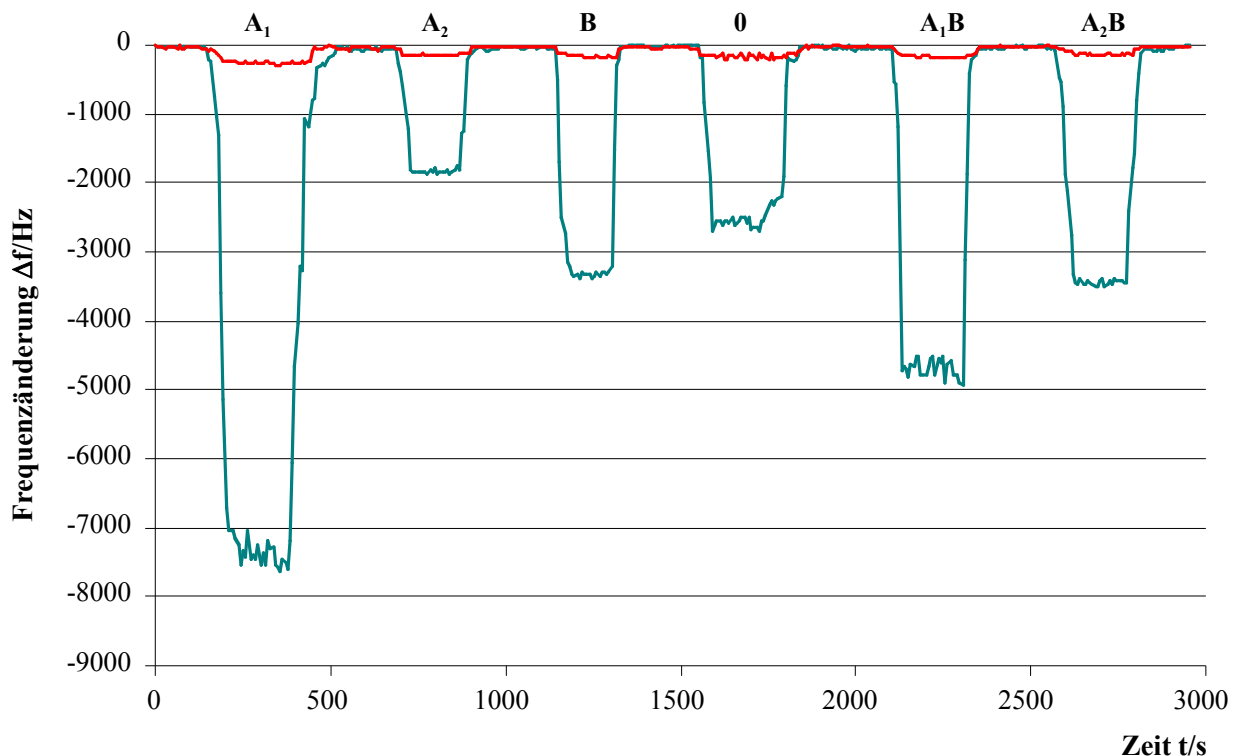


Abb. 96: QCM-Messkurve mit einem Blutgruppe A₁-geprägten 10 MHz-Quarz-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Oszillatorspannung von 12 V. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min. Dargestellt ist die Sensorantwort (in türkis eingezeichnet) von der geprägten Elektrode und das Signal der Referenzelektrode (in rot eingezeichnet).

Im Vergleich zu der Templatblutgruppe liefern die anderen Blutgruppen geringere Frequenzänderungen. Die Blutgruppe A₁B zeigt mit einer Frequenzerniedrigung von 4771 Hz die zweitgrößte Veränderung. Die Blutgruppe A₂B und die Blutgruppe B liegen bei einer ähnlich großen Erniedrigung von 3456 Hz (A₂B) beziehungsweise 3367 Hz (B), gefolgt von der Blutgruppe 0 mit 2508 Hz. Die geringste Änderung zeigt die Blutgruppe A₂ mit 1832 Hz. Wie bereits bei der Kapazitätsmessung ist die Fixierung in den Kavitäten von der Oberflächenstruktur und den auf der Zellmembran vorhandenen Wechselwirkungsstellen abhängig. So passen in die A₁-Kavitäten, die Blutgruppe A₁ besitzt 810000 bis 1700000 A-Antigene und 70000 bis 170000 H-Antigene auf der Zellmembran, die Erythrozyten der Blutgruppe A₁B (420000-850000 A-Antigene und 310000-560000 B-Antigene) – neben der Templatblutgruppe – am besten hinein. Im Gegensatz dazu wird die Blutgruppe A₂ mit ihren 160000 bis 440000 A-Antigenen und einer anti-H-Aktivität nicht so gut in der Kavität festgehalten und kann somit leichter wieder in die Lösung gelangen, was sich durch eine geringe Frequenzänderung auszeichnet. Die Messkurve mit einem A₁-Sensor ist in Abb. 96 dargestellt.

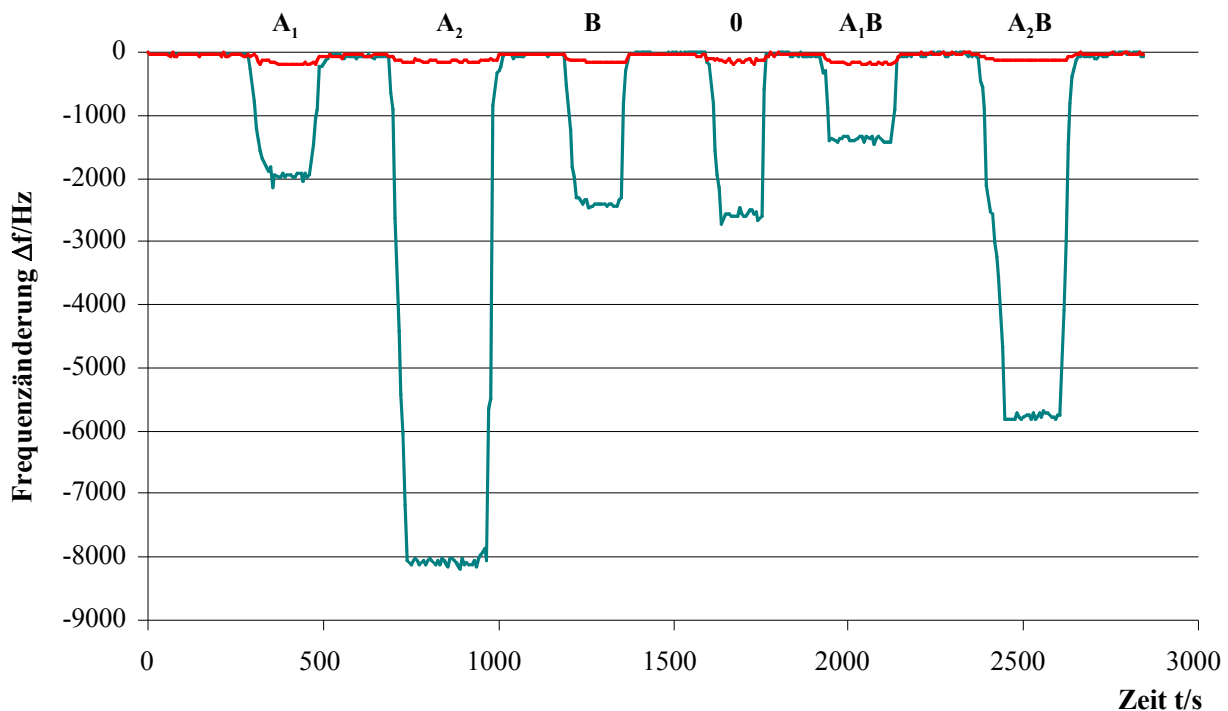


Abb. 97: QCM-Messkurve mit einem Blutgruppe A₂-geprägten 10 MHz-Quarz-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Oszillatorspannung von 12 V. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min. Dargestellt ist die Sensorantwort (in türkis eingezeichnet) von der geprägten Elektrode und das Signal der Referenzelektrode (in rot eingezeichnet).

Wird nun die Polymerschicht auf der Messelektrode mit der Blutgruppe A₂ geprägt, so zeigt die Templatblutgruppe die höchste Frequenzerniedrigung von 8150 Hz. Die Blutgruppe A₂B, welche 120000 A-Antigene und 310000 bis 560000 B-Antigene besitzt, liefert eine Änderung von 5748 Hz. Die anderen vier untersuchten Blutgruppen zeigen bei diesem Sensor nur eine geringe Änderung: Die Blutgruppe 0 bringt eine Erniedrigung von 2583 Hz, die Blutgruppe B von 2450 Hz, die Blutgruppe A₁ von 1941 Hz und die Blutgruppe A₁B die niedrigste Veränderung mit 1360 Hz. Weiters ist auch in Abb. 97 zu sehen, dass die Referenzelektrode nur sehr geringe Messsignale liefert, dabei bewegt sich die Frequenzänderung auf der Referenzseite des Quarzes zwischen 130 Hz und 180 Hz.

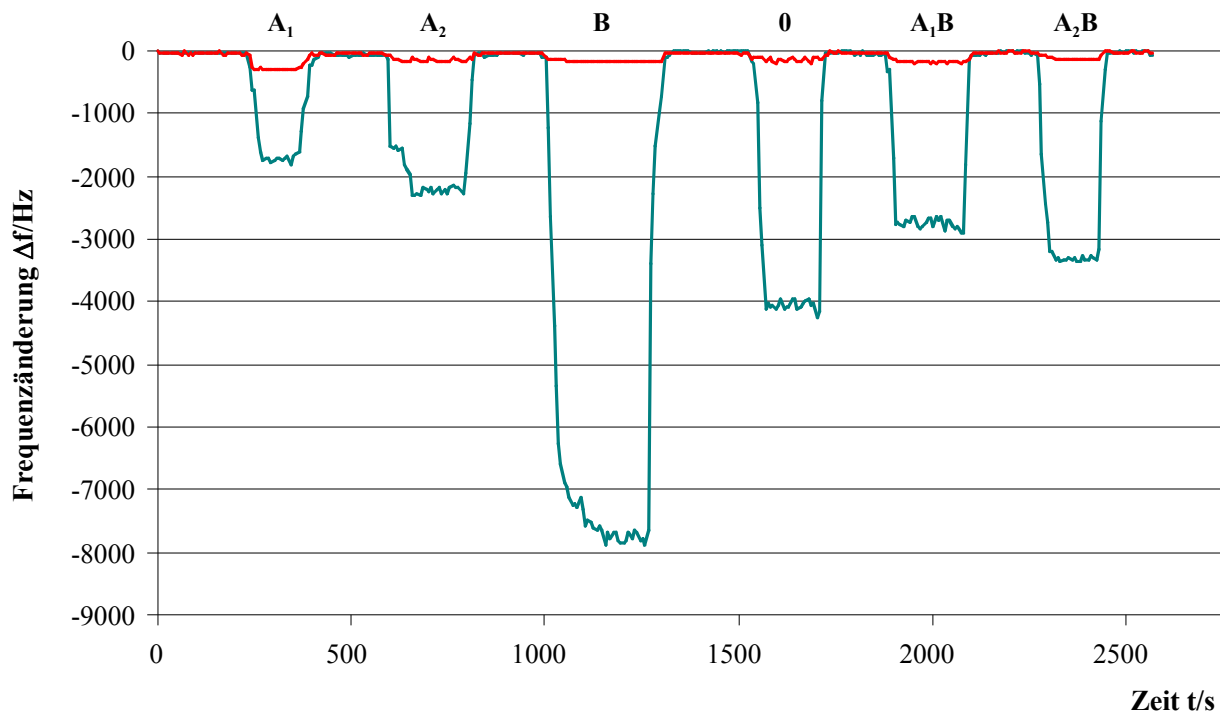


Abb. 98: QCM-Messkurve mit einem Blutgruppe B-geprägten 10 MHz-Quarz-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Oszillatorspannung von 12 V. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min. Dargestellt ist die Sensorantwort (in türkis eingezeichnet) von der geprägten Elektrode und das Signal der Referenzelektrode (in rot eingezeichnet).

Eine sehr gute Selektivität liefert ein mit der Blutgruppe B geprägter Sensor. Wie in der Messkurve (Abb. 98) zu erkennen ist, zeigt die Probelösung der Templatblutgruppe das höchste Signal, während alle anderen Blutgruppen eine wesentlich kleinere Veränderung der Frequenz liefern. Durch die hohe Anzahl an B-Antigene auf der Zellemembran der B-Erthrozyten (610000-830000) können sich die anderen Blutzellen nicht so gut in den entstandenen Kavitäten fixieren. So liefert die Blutgruppe B eine Frequenzänderung von 7876 Hz, während die Blutgruppe 0, welche die zweitgrößte Frequenzerniedrigung aufweist, nur ein Signal von 4033 Hz zeigt. Die Blutgruppe A₂B kommt auf eine Änderung von 3331 Hz, die Blutgruppe A₁B auf 2810 Hz, die Blutgruppe A₂ auf 2231 Hz und als Abschluss die Blutgruppe A₁ auf 1751 Hz.

Im Vergleich zu der vorangegangenen Messung mit einem Blutgruppe B-Sensor zeigt ein mit der Blutgruppe 0 geprägter Sensor eine schlechte Differenzierungsmöglichkeit, wie anhand der Messkurven (Abb. 99) zu erkennen ist. Die Templatblutgruppe 0 liefert dabei eine Frequenzerniedrigung von 5411 Hz, während die Blutgruppen A₂, A₁ und A₁B ebenfalls Änderungen von knapp 5 kHz bei einer gefüllten Messzelle erzeugen: A₂ zeigt eine Erniedrigung

der Frequenz von 5178 Hz, A₁ von 5167 Hz und A₁B von 4977 Hz. Die Blutgruppe A₂B bringt eine Änderung von 4715 Hz und die Blutgruppe B eine Änderung von 4534 Hz. Da die Blutgruppe 0 nur H-Antigene auf deren Oberfläche besitzen und diese auch als Vorläufersubstanz für die anderen Blutgruppen dienen, wie in Kapitel 2.6.4 bereits erläutert, können sich auch die anderen Zellen relativ gut in die Kavitäten einlagern. Daher weisen alle 6 Blutgruppen in etwa eine gleich große Frequenzänderung auf.

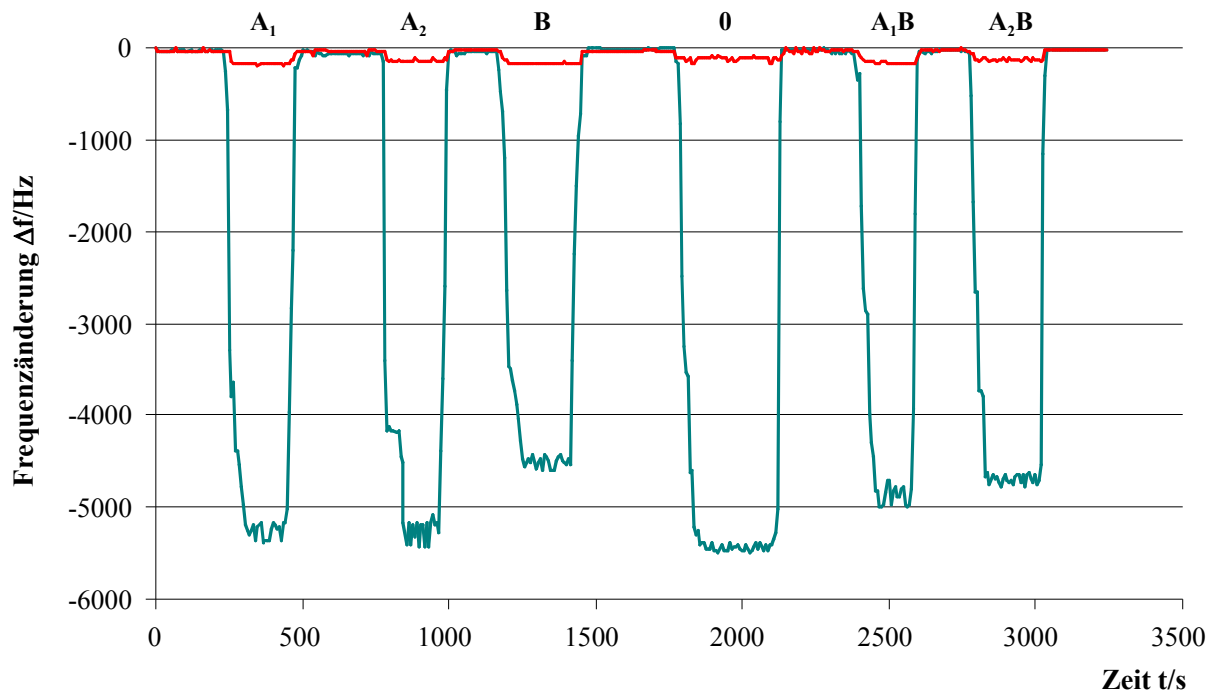


Abb. 99: QCM-Messkurve mit einem Blutgruppe 0-geprägten 10 MHz-Quarz-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Oszillatorspannung von 12 V. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min. Dargestellt ist die Sensorantwort (in türkis eingezeichnet) von der geprägten Elektrode und das Signal der Referenzelektrode (in rot eingezeichnet).

Wird ein A₁B-Sensor für die Messserie herangezogen, liefert dieser eine Frequenzänderung von 7899 Hz für die Templatblutgruppe. Da die Blutzellen der Blutgruppe A₁B auf ihrer Zellmembran sowohl A-Antigene (420000-850000) und B-Antigene (310000-560000) besitzen, ist eine Querselektivität zu den Blutgruppen A₁ und B naheliegend, was durch die Messung bestätigt wurde, wie in Abb. 100 zu sehen ist. Dabei liefert die Probelösung der Blutgruppe B eine Frequenzerniedrigung von 5781 Hz und die Blutgruppe A₁ von 5553 Hz. Im Gegensatz dazu liefern die Blutgruppen A₂ und A₂B eine wesentlich geringere Änderung, was auf die im Vergleich zur Templatblutgruppe A₁B geringe Anzahl an A-Antigene zurückzuführen ist. So

bringt die Messung der Blutgruppe A₂ eine Erniedrigung der Frequenz um 2574 Hz und die Blutgruppe A₂B um 2574 Hz. Die Blutgruppe 0 liefert eine Frequenzänderung von 1569 Hz.

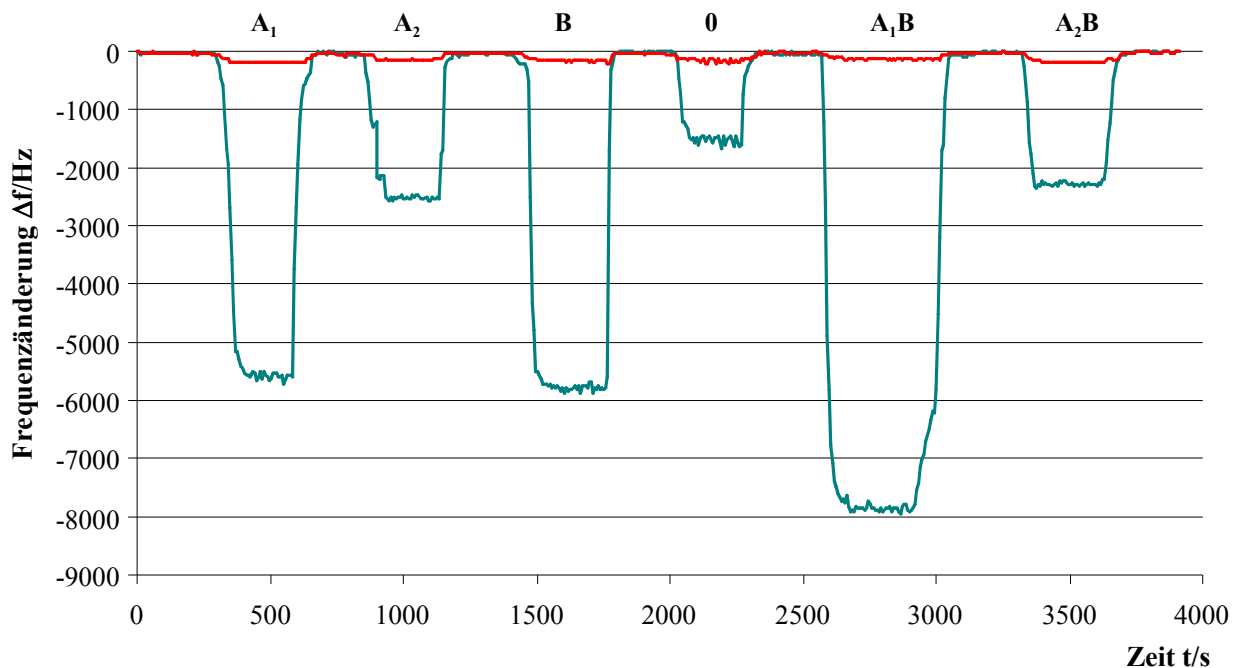


Abb. 100: QCM-Messkurve mit einem Blutgruppe A₁B-geprägten 10 MHz-Quarz-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Oszillatorspannung von 12 V. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min. Dargestellt ist die Sensorantwort (in türkis eingezeichnet) von der geprägten Elektrode und das Signal der Referenzelektrode (in rot eingezeichnet).

Wird die Blutgruppe A₂B, welche 120000 A-Antigene und 310000 bis 560000 B-Antigene besitzt für die Prägung der Polymerschicht auf der Messelektrode herangezogen, so erhält man die in der Abb. 101 abgebildete Messkurze. Dabei liefert die Templatblutgruppe A₂B die höchste Änderung der Frequenz von 8759 Hz. Die Blutgruppe B zeigt eine Erniedrigung von 6546 Hz und die Messung der Blutgruppe A₂ bringt eine Frequenzerniedrigung von 5899 Hz mit sich. Dieses ist auf die ähnliche Anzahl von A- und B-Antigene zurückzuführen. Die Blutgruppe A₂ besitzt rund 160000 bis 440000 A-Antigene und die Blutgruppe B hat 610000 bis 830000 B-Antigene auf deren Zellmembran. So passen diese beiden Blutgruppen, neben der Templatblutgruppe am besten in die Kavitäten der Polymerschicht. Eine schlechte Fixierung in diesen zeigt die Blutgruppe A₁, A₁B und 0. Durch deren Möglichkeit sich aus dem Polymer zu lösen und wieder in die Lösung zu gelangen, wird nur eine geringe Frequenzänderung gemessen. Dabei zeigt die Blutgruppe A₁, welche 810000 bis 1700000 A-Antigene pro Erythrozyt besitzt, eine Änderung von 3280 Hz. Die Blutgruppe A₁B besitzt zwar in etwa die gleiche Anzahl an B-

Antigene wie die Blutgruppe A₂B, jedoch verhindert die um den Faktor 4 bis 8 höhere A-Antigenanzahl eine gute Fixierung in der Polymerschicht, was sich an der Frequenzerniedrigung von nur 1148 Hz zeigt. Die Blutgruppe 0 weist mit einer Erniedrigung von 2375 Hz ebenfalls einen sehr geringen Wert auf.

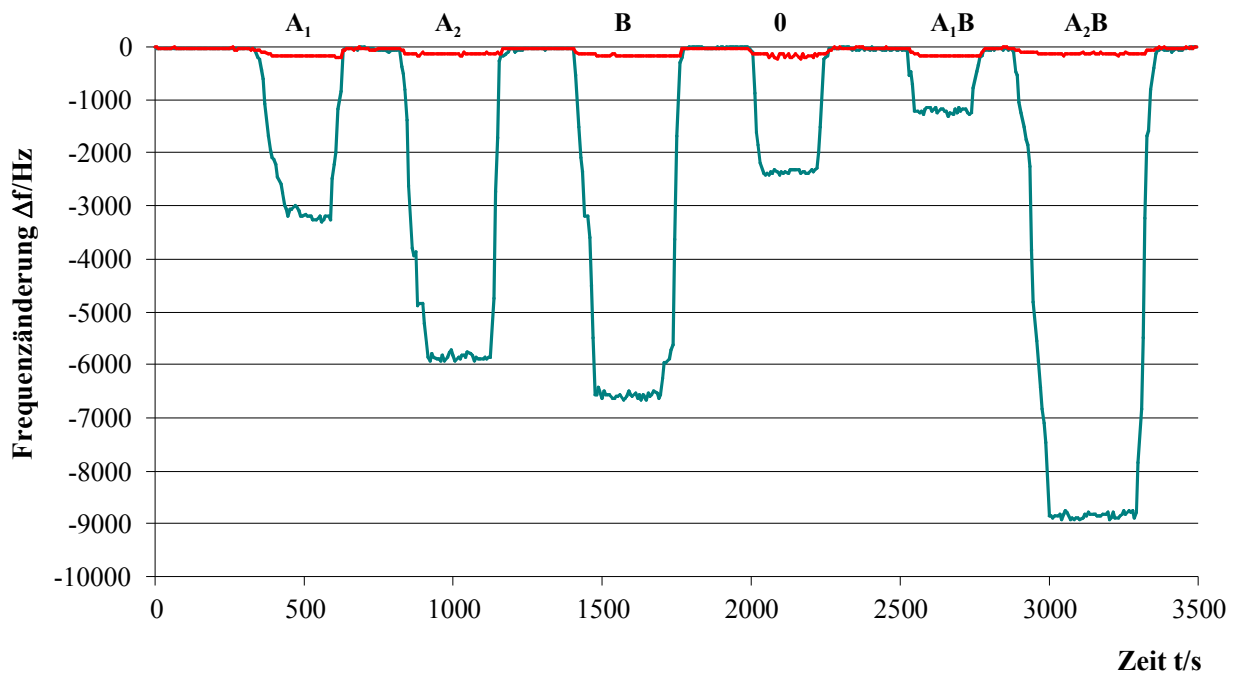


Abb. 101: QCM-Messkurve mit einem Blutgruppe A₂B-geprägten 10 MHz-Quarz-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Oszillatorspannung von 12 V. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min. Dargestellt ist die Sensorantwort (in türkis eingezeichnet) von der geprägten Elektrode und das Signal der Referenzelektrode (in rot eingezeichnet).

Durch die Verwendung von Quarzmikrowaagen mit geprägten Polyvinylpyrrolidon-Schichten ist die Produktion von Sensoren für die Differenzierung der Blutgruppen A₁, A₂, B, A₁B und A₂B möglich. Auch eine Unterscheidung der Subblutgruppen der Blutgruppe A konnte ermöglicht werden. Polymerschichten, welche mit der Blutgruppe 0 geprägt wurden, sind für die Anwendung mit einer Quarzmikrowaage nicht geeignet. Durch die hohe Anzahl an H-Antigene, welche als Vorläufersubstanz der A- und B-Antigene dient, können sich auch die anderen Blutgruppen einlagern und soweit fixiert werden, dass sie eine Massenänderung bewirken und somit eine Differenzierung nicht mehr möglich ist.

4.4.4. Zusammenfassung der Blutgruppendifferenzierung

Zielsetzung für die Blutgruppendifferenzierung war es Sensoren zu entwickeln und zu produzieren, welche eine Unterscheidung der Blutgruppen A, B, 0 und AB ermöglichen. Auch eine Differenzierung der Subblutgruppen von A, nämlich A₁, A₂, A₁B und A₂B, soll durch ein kostengünstiges Sensorsystem erreicht werden. Dazu wurden in den vorangegangenen Messungen drei verschiedene Messprinzipien angewandt: Die Messung der Kapazität, des Widerstandes unter Verwendung eines IDK-Sensors und der Messung der Massen mittels Frequenzänderung (QCM) nach Sauerbrey.

Bei der Verwendung eines 10 µm-Interdigitalkondensators zur Messung der Kapazitätsänderung konnten die unterschiedlichen Blutgruppen, inklusive der A-Subblutgruppen voneinander differenziert werden. Die Ergebnisse der einzelnen Messungen sind in der folgenden Tabelle 15 zusammengefasst.

Tabelle 15: Zusammenfassung der Kapazitätswerte der einzelnen Messungen mit unterschiedlichen Sensoren und den sechs verschiedenen Blutgruppenlösungen mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Die Messungen erfolgten mit einem 10 µm-IDK-Sensor mit einer Polyvinylpyrrolidon-Schicht bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V.

Probe	Templatblutgruppen					
	A ₁	A ₂	B	0	A ₁ B	A ₂ B
	Kapazität C					
	[pF]	[pF]	[pF]	[pF]	[pF]	[pF]
A ₁	120,0	21,7	7,5	6,3	40,3	34,9
A ₂	63,5	87,7	8,2	4,8	25,8	56,7
B	35,2	23,7	61,3	6,1	33,1	67,5
0	45,6	36,9	15,0	10,1	19,3	32,0
A ₁ B	87,2	30,0	8,7	5,4	54,9	46,0
A ₂ B	46,5	59,5	10,0	5,7	24,6	130,0

Es ist deutlich zu erkennen, dass die Templatblutgruppen der einzelnen Polymerbeschichtungen das größte Signal, also die höchste Kapazität aufweisen. So liefert zum Beispiel der A₁ Sensor eine Kapazität von 120 pF für die Blutgruppe A₁, was einem um den Faktor 1,4 höheren Signal als jenes der Blutgruppe A₁B entspricht, welche die zweithöchste Kapazität aufweist. Für den

Vergleich zwischen den einzelnen Sensoren wurde die relative Änderung zur Templatblutgruppe herangezogen, dabei werden die einzelnen Kapazitäten zu den jeweiligen Werten der Templatblutgruppe in Verhältnis gebracht. Die daraus resultierenden relativen Signalwerte können so miteinander verglichen werden. Damit können auch Effekte, welche bei der Beschichtung der IDK-Sensoren auftreten, berücksichtigt werden. Da aufgrund der Beschichtungsmethode keine exakt gleiche Dicke der Polymerschicht erreicht werden kann, ist eine direkte Gegenüberstellung der Absolutwerte nicht repräsentativ. So können die Absolutwerte voneinander abweichen und daher werden die relativen Werte, die in Tabelle 16 zusammen gefasst sind, miteinander verglichen.

Tabelle 16: Zusammenfassung der relativen Messwerte der Kapazitätsmessungen. Die Messungen erfolgten mit einem 10 µm-IDK-Sensor mit einer Polyvinylpyrrolidon-Schicht bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Die Konzentration der einzelnen Probelösungen betrug $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml.

Probe	Templatblutgruppen					
	A ₁	A ₂	B	0	A ₁ B	A ₂ B
	relatives Signal [†]					
	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]
A ₁	100,0	24,7	12,3	62,5	73,4	26,8
A ₂	52,9	100,0	13,4	47,5	47,0	43,6
B	29,3	27,0	100,0	60,0	60,3	51,9
0	38,0	42,1	24,4	100,0	35,2	24,6
A ₁ B	72,7	34,2	14,3	53,0	100,0	35,4
A ₂ B	38,8	67,8	16,4	56,5	44,8	100,0

[†] bezogen auf die Signalintensität der Templatblutgruppe

Bei allen sechs Messserien zeigt die Templatblutgruppe das höchste Signal. Jene Blutgruppen die aufgrund ihrer Antigenstruktur auf der Zellmembran noch gut in die Kavitäten passen, liefern Kapazitätswerte von 50% bis 80% jenes Wertes, der die Templatblutgruppe zeigt, die anderen Blutgruppen erreichen Kapazitätswerte von 10% bis 50%. Eine Ausnahme bildet die Blutgruppe B als Templat und deren entsprechenden Sensor. Hier liefern die weiteren Blutgruppen nur Kapazitäten, die im Bereich von 12,3 bis 24,4% der Probelösung der Blutgruppe B entspricht. Die verschiedenen relativen Werte sind in der folgenden Abb. 102 graphisch dargestellt.

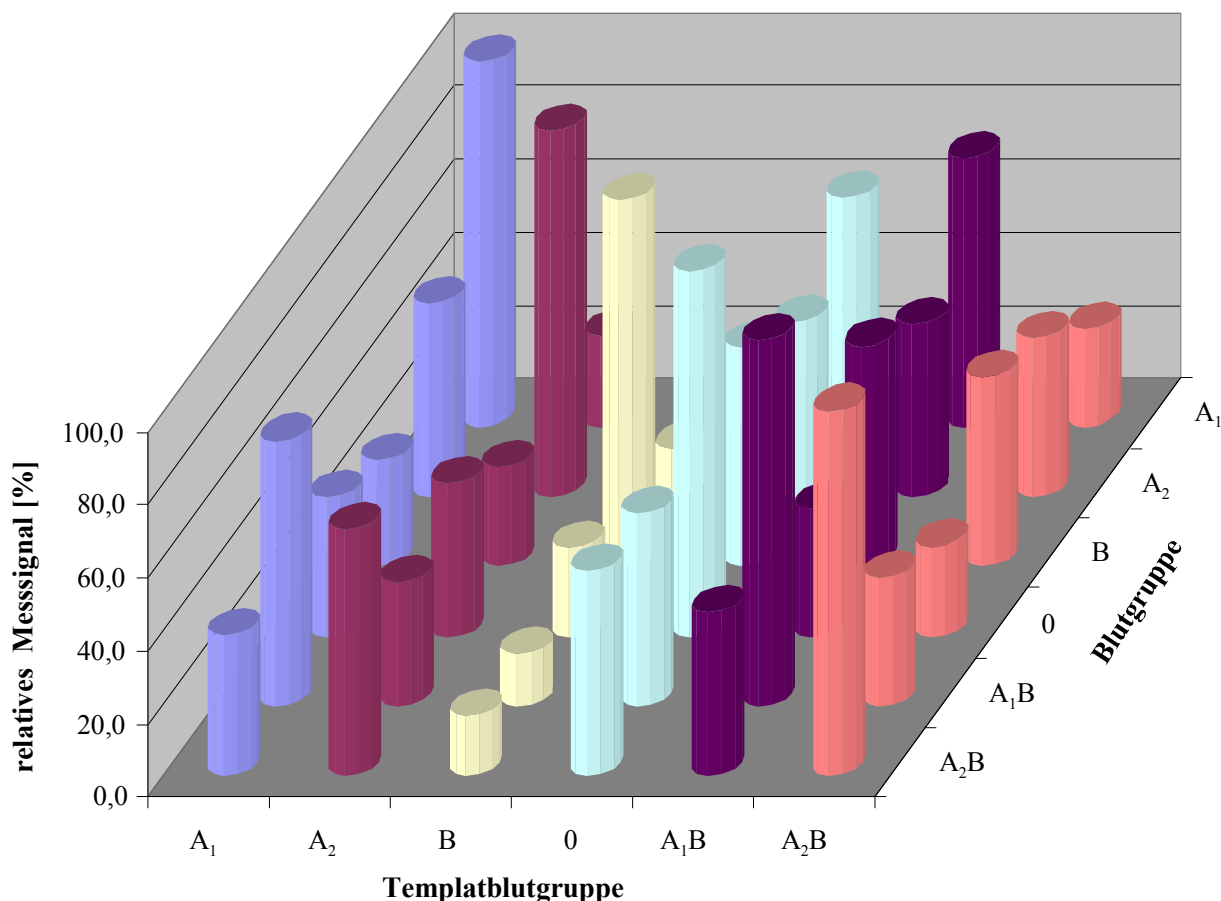


Abb. 102: Zusammenfassung der relativen Kapazitätswerte (im Bezug auf die jeweilige Templatblutgruppe). Die Messungen wurden bei einer Frequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V durchgeführt. Die Konzentration der Probelösungen betrug $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml.

Werden die Werte der Widerstandsmessungen miteinander verglichen, ist zu erkennen, dass die Sensoren der Blutgruppen A₁, A₂, A₁B und A₂B niedrige Widerstandswerte im Bereich von 10 kΩ bis 40 kΩ zeigen, während die Sensoren, welche mit der Blutgruppe 0 oder B geprägt worden sind, Widerstandswerte von bis zu 140 kΩ liefern. Dabei weist der Sensor für die Blutgruppe 0 die höchsten Werte auf. Die absoluten Widerstandswerte aus den durchgeführten Messungen sind in Tabelle 17, die relativen Messwerte sind in Tabelle 18 zusammengefasst. Wobei beim Bezug der Messwerte auf den Widerstandswert der Templatblutgruppe die anderen Blutgruppen Werte über 100% erreichen, da wie im Kapitel 4.1.2 bereits erörtert wurde, die Messwerte der Templatblutgruppe niedriger sind als jene der anderen Blutproben. Dabei erreicht der A₁-Sensor mit einem Wert von 10441,6 Ω bei seiner Templatblutgruppenlösung den geringsten Widerstandswert. Beim A₂B-Sensor beträgt der Widerstand der Templatblutgruppe 11131,6 Ω, beim A₂-Sensor 13933,4 Ω, beim A₁B-Sensor 15973,2 Ω und beim B-Sensor 19118,5 Ω. Der 0-Sensor weist die Templatblutgruppe einen Wert von 72018,1 Ω auf.

Tabelle 17: Zusammenfassung der Widerstandswerte der einzelnen Messungen mit unterschiedlichen Sensoren und den sechs verschiedenen Blutgruppenlösungen mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Die Messungen erfolgten mit einem 10 μ m-IDK-Sensor mit einer Polyvinylpyrrolidon-Schicht bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V.

Probe	Templatblutgruppen					
	A ₁	A ₂	B	0	A ₁ B	A ₂ B
	Widerstand R					
	[Ω]	[Ω]	[Ω]	[Ω]	[Ω]	[Ω]
A ₁	10441,6	28953,6	79144,7	102143,2	23469,9	22190,2
A ₂	18487,5	13933,4	67196,4	135018,7	45418,5	16435,0
B	26695,8	30855,4	19118,5	108745,1	36972,0	16637,5
0	22705,8	23601,3	47970,1	72018,1	40712,5	28921,0
A ₁ B	14437,7	26070,6	67582,3	132965,8	15973,2	22572,8
A ₂ B	22206,6	17969,4	63616,1	122958,6	35412,4	11131,6

Tabelle 18: Zusammenfassung der relativen Messwerte der Widerstandsmessungen. Die Messungen erfolgten mit einem 10 μ m-IDK-Sensor mit einer Polyvinylpyrrolidon-Schicht bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Die Konzentration der einzelnen Probelösungen betrug $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml.

Probe	Templatblutgruppen					
	A ₁	A ₂	B	0	A ₁ B	A ₂ B
	relatives Signal [†]					
	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]
A ₁	100,0	207,8	414,0	141,8	146,9	199,3
A ₂	177,1	100,0	351,5	187,5	284,3	147,6
B	255,7	221,4	100,0	151,0	231,5	149,5
0	217,5	169,4	250,9	100,0	254,9	259,8
A ₁ B	138,3	187,1	353,5	184,6	100,0	202,8
A ₂ B	212,7	129,0	332,7	170,7	221,7	100,0

[†] bezogen auf die Signalintensität der Templatblutgruppe

Werden die relativen Widerstandswerte aus der Tabelle 18 graphisch dargestellt, wird die Abb. 103 erhalten, welche die verschiedenen Widerstandsmessungen zueinander darstellt. Dabei ist zu erkennen, dass die jeweilige Templatblutgruppe immer von den anderen Blutgruppen

differenzierbar war. Weiters konnten auch ähnliche Blutgruppen, also jene die sich in der Struktur der Zellenoberfläche nur durch eine geringfügig unterschiedliche Antigenanzahl oder Antigenstrukturierung der Zellemembran unterschieden, differenziert werden. Sogar die Blutgruppe 0, welche nur H-Antigene besitzt und somit für alle anderen Blutgruppen ebenfalls Wechselwirkungsstellen bereit stellt, konnte mittels Widerstandsmessung selektiv bestimmt werden.

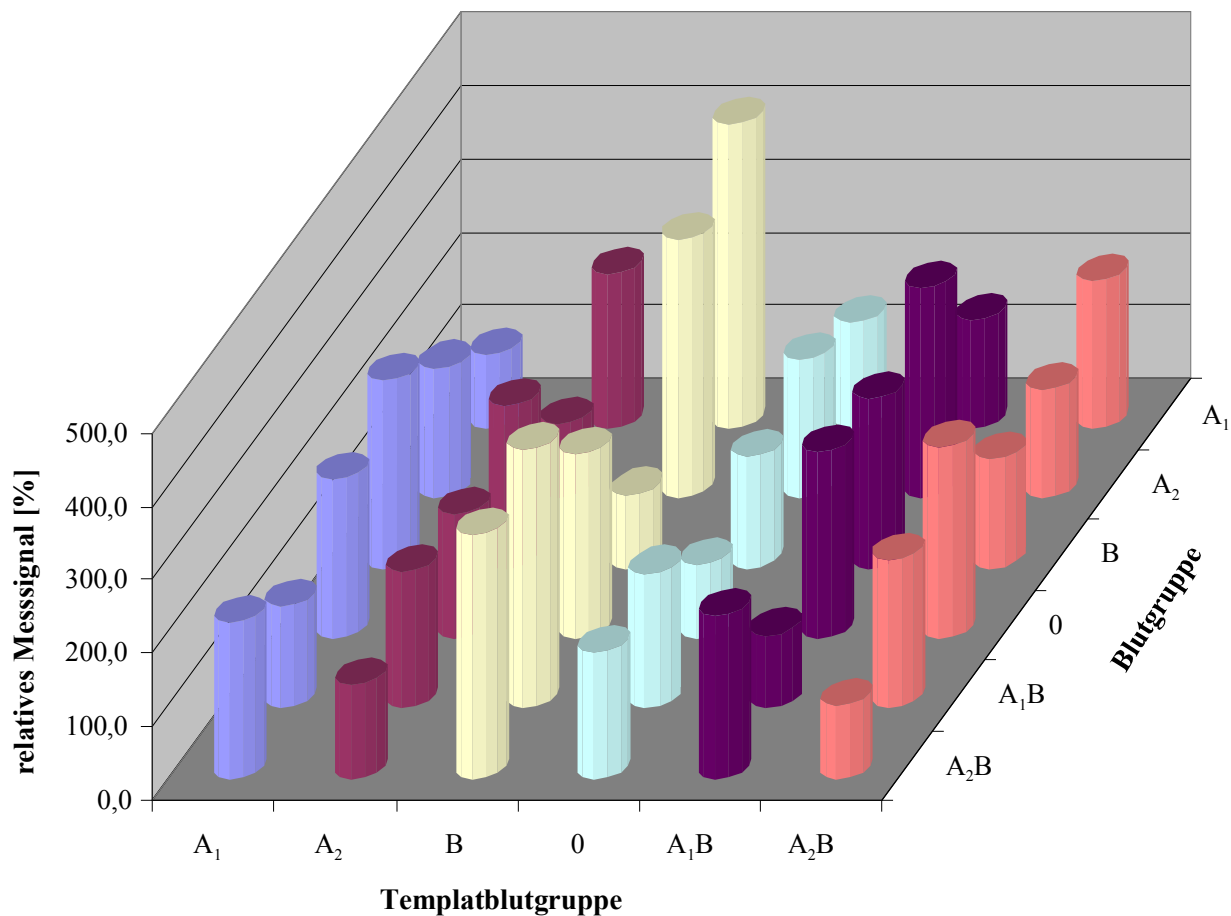


Abb. 103: Zusammenfassung der relativen Widerstandswerte (im Bezug auf die jeweilige Templatblutgruppe). Die Messungen wurden bei einer Frequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V durchgeführt. Die Konzentration der Probelösungen betrug $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Deionat diente dabei als Lösungsmittel.

Bei der Verwendung eines Quarzes mit einer Zweielektrodenstruktur konnten mittels Sensoren, welche mit den Blutgruppen A₁, A₂, B, A₁B und A₂B geprägt worden sind, die unterschiedlichen Blutgruppen voneinander unterschieden werden. Eine Ausnahme stellt die Messung mit einem Blutgruppe 0-Sensor dar. QCM-Sensoren, welche mit einer Polymerschicht, die mit der Blutgruppe 0 geprägt wurde, versehen waren, konnten die Erythrozyten der sechs unterschiedlichen Blutgruppen nicht ausreichend voneinander differenziert werden. Wie in

Tabelle 19 ersichtlich ist, liefern dabei alle Blutgruppen eine Frequenzerniedrigung im Bereich von 4500 Hz bis 5500 Hz, wobei der Unterschied zwischen der Blutgruppe 0 (-5780,8) zu der am nächsten liegenden Blutgruppe der Messserie (A₂ mit -5177,8 Hz) nur rund 250 Hz entspricht. Wird der Sensor der Blutgruppe B-Prägung betrachtet, so liefert die Templatblutgruppe (-7876,1 Hz) hier einen um den Faktor 2 höheren Werten als die Blutgruppe 0 (-4033,0 Hz), welche das zweithöchste Signal aufweist. Auch bei den anderen Sensoren zeigt die Templatblutgruppe eine Frequenzerniedrigung dar, die sich um den Faktor 1,5 bis 5 von den anderen Blutgruppen unterscheidet. Beim A₁-Sensor weist die Blutgruppe A₁B mit einer Frequenzänderung von -4771,1 Hz die höchste Querempfindlichkeit auf, beim A₂-Sensor die Blutgruppe A₂B mit -5748,4 Hz, beim A₁B-Sensor die Blutgruppe B mit -5780,8 Hz und beim A₂B-Sensor die Blutgruppe B mit -6546,1 Hz.

Tabelle 19: Zusammenfassung der Werte der einzelnen Quarzmikrowaagenmessungen mit unterschiedlichen Sensoren und den sechs verschiedenen Blutgruppenlösungen mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Die Messung erfolgten mit einem 10 MHz-Quarz mit einer Zweielektrodenstruktur ($\varnothing = 5$ mm) und einer Polyvinylpyrrolidonschicht.

Probe	Templatblutgruppen					
	A ₁	A ₂	B	0	A ₁ B	A ₂ B
	Frequenzänderung Δf					
	[Hz]	[Hz]	[Hz]	[Hz]	[Hz]	[Hz]
A ₁	-7550,4	-1940,6	-1751,3	-5166,6	-5552,8	-3280,4
A ₂	-1831,8	-8149,6	-2260,8	-5177,8	-2574,2	-5898,6
B	-3366,9	-2450,4	-7876,1	-4534,1	-5780,8	-6546,1
0	-2508,3	-2583,1	-4033,0	-5410,7	-1569,3	-2375,2
A ₁ B	-4771,1	-1359,6	-2810,1	-4977,2	-7899,3	-1147,6
A ₂ B	-3456,2	-5748,4	-3330,8	-4714,5	-2278,4	-8758,9

Wird nun das Sensorsignal der jeweiligen Templatblutgruppe zu seinem entsprechenden Sensor betrachtet, so ist zu erkennen, dass die Blutgruppe A₂B die höchste Frequenzänderung mit einem Wert von -8758,9 Hz aufweist, gefolgt von der Blutgruppe A₂ mit -8149,6 Hz, der Blutgruppe A₁B mit -7899,3 Hz und der Blutgruppe B mit -7876,1 Hz. Die Blutgruppe A₁ zeigt bei einem Blutgruppe A₁-geprägten Sensor eine Änderung von -7550,4 Hz und die Blutgruppe 0 bei einem Blutgruppe 0-geprägten Sensor eine Frequenzerniedrigung von 5410,7 Hz. Daraus kann rückgeschlossen werden, dass die Polymerschicht des A₂B-Sensors mehr Erythrozyten seiner Templatblutgruppe aus der Lösung extrahieren kann als die anderen Sensorschichten, da die

Sensorantwort proportional der Massenanlagerung ist und somit der Anzahl an Zellen, welche in die Polymerschicht angereicht werden.

Tabelle 20: Zusammenfassung der relativen Messwerte der Quarzmikrowaagemessungen mit unterschiedlichen sensitiven Polymerschichten. Die Messung erfolgten mit einem 10 MHz-Quarz mit einer Zweielektrodenstruktur ($\varnothing = 5 \text{ mm}$) und einer Polyvinylpyrrolidonschicht. Die Konzentration der Probelösungen betrug $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml.

Probe	Templatblutgruppen					
	A ₁	A ₂	B	0	A ₁ B	A ₂ B
	relatives Signal [†]					
	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]
A ₁	100,0	23,8	22,2	95,5	70,3	37,5
A ₂	24,3	100,0	28,3	95,7	32,6	67,3
B	44,6	30,1	100,0	83,8	73,2	74,7
0	33,2	31,7	51,2	100,0	19,9	27,1
A ₁ B	63,2	16,7	35,7	92,0	100,0	13,1
A ₂ B	45,8	70,5	42,3	87,1	28,8	100,0

[†] bezogen auf die Signalintensität der Templatblutgruppe

Zum Vergleich der unterschiedlichen Sensoren zueinander wurden auch bei den Ergebnissen der QCM-Messserien die Frequenzerniedrigungen der jeweiligen Blutgruppen im Verhältnis zu der jeweiligen Templatblutgruppe gesetzt. Die daraus resultierenden relativen Werte sind in Tabelle 20 zusammengefasst. Werden diese Werte graphisch aufgetragen, wird das Diagramm in Abb. 104 erstellt. Darin ist gut zu erkennen, dass die Templatblutgruppen die größten Frequenzerniedrigungen liefern, während die anderen Blutgruppen wesentlich geringere aufweisen. Als Ausnahme zählt hierbei die Blutgruppe 0, da hier alle Blutgruppen etwa gleich große Signale (83,8 bis 95,7% des Signals der Templatblutgruppe) liefern und somit der Sensor für eine gute Unterscheidung der verschiedenen Blutgruppen nicht geeignet ist.

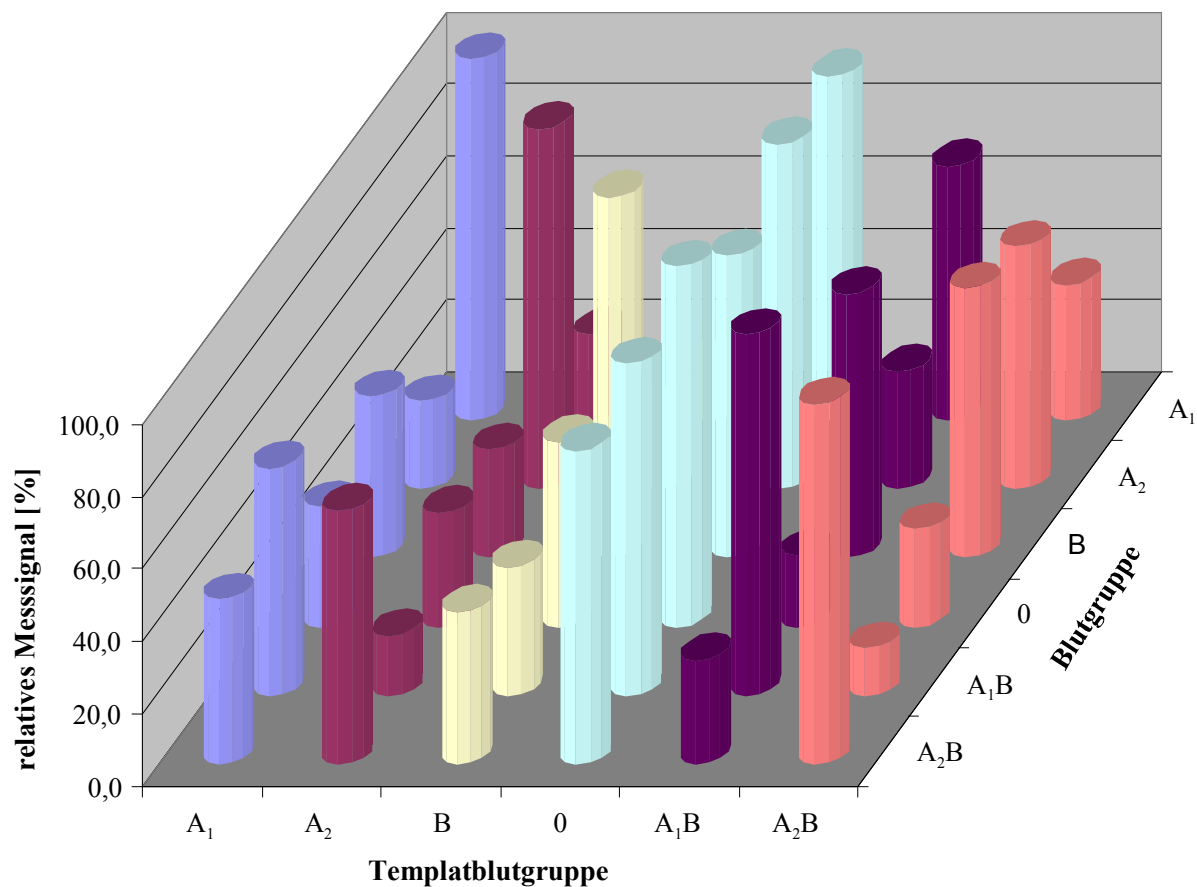


Abb. 104: Graphische Darstellung der Zusammenfassung der relativen Messwerte (Frequenzänderungen) der QCM-Messungen mit unterschiedlichen sensitiven Polymerschichten. Die Messungen erfolgten mit einem 10 MHz-Quarz mit einer Zweielektrodenstruktur ($\varnothing = 5$ mm) und einer Polyvinylpyrrolidonschicht. Die Konzentration der Probelösungen betrug $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Deionat diente dabei als Lösungsmittel.

4.5. Einflüsse auf die Widerstandsmessung

Auf die Widerstandsmessungen mit einem beschichteten IDK-Sensor haben mehrere Faktoren einen Einfluss, unter anderen die Messfrequenz und die Konzentration an Ionen in der Lösung. Daher ist es notwendig diese Parameter zu überprüfen, um den Sensor zu optimieren und dessen Verhalten zu bestimmen.

Der erste große Einflussfaktor auf die Messungen ist die angelegte Frequenz. Da der IDK-Sensor aufgrund seiner Polymerschicht, den eingelagerten Analytzellen und dem Aufbau der Messapparatur nicht einem idealen Kondensator entspricht, das heißt der Phasenwinkel φ beträgt nicht mehr exakt -90° , und wird durch den Verlustwinkel δ vermindert und charakterisiert. Wie in Abb. 105 dargestellt ist, kann der IDK-Sensor als eine serielle Schaltung aus einem Kondensator, einem Widerstand und einem induktiven Element beschrieben werden. Dabei entspricht der Widerstand dem äquivalenten Serienwiderstand, welcher aufgrund der ohmschen Leitungs- und der dielektrischen Umpolungsverluste zustande kommt und wird als ESR (*equivalent series resistance*) bezeichnet. Der Einfluss der Serieninduktivität wird als ESL (*equivalent series inductivity*) bezeichnet. Wird der Verlustwinkel δ erhöht, nimmt auch der Anteil durch den ESR zu.

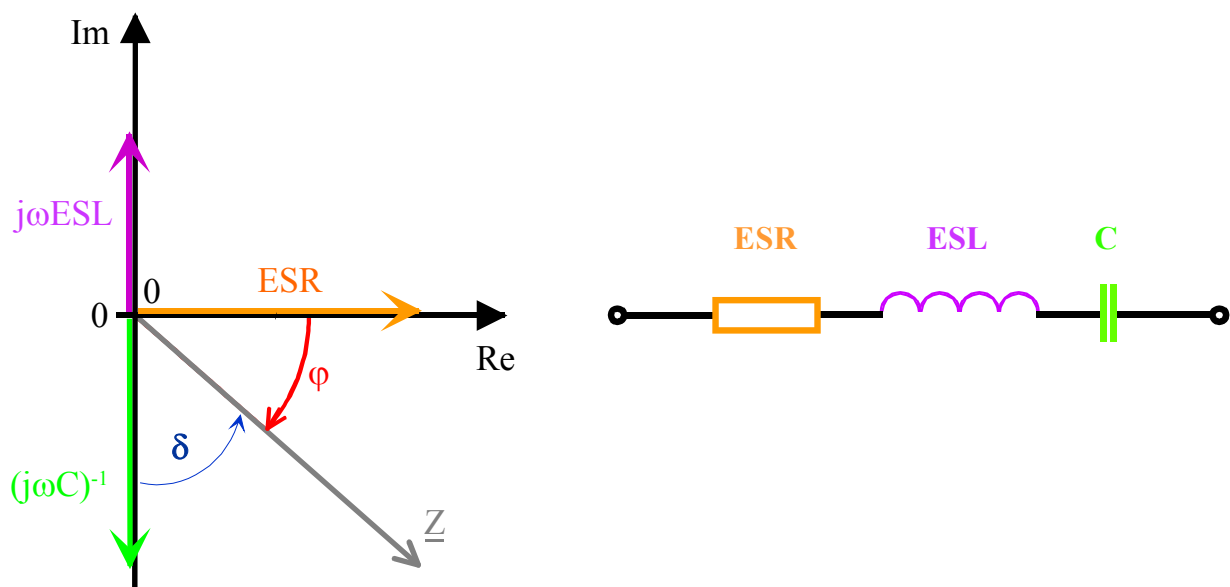


Abb. 105: Darstellung der Einflüsse von Kapazität C, Widerstand ESR und Induktivität ESL auf den Vektor $\underline{Z}$ im komplexen Raum. Der Winkel φ wird um einen Verlustwinkel δ minimiert und besitzt nicht mehr -90° , wie für einen idealen Kondensator.

Wird nun die Serieninduktivität vernachlässigt und für den Verlustwinkel δ , den Verlustfaktor $\tan \delta$ eingeführt, so wird folgender Ausdruck formuliert:

$$\tan \delta = ESR \cdot \omega \cdot C$$

Gleichung 37

wobei für ω gilt:

$$\omega = 2 \cdot \pi \cdot f$$

Gleichung 38

mit f ... Kreisfrequenz [Hz]

Damit ist es nötig für den IDK-Sensor seine Abhängigkeit von der angelegten Messfrequenz zu bestimmen, was im folgenden Kapitel 4.5.1 durchgeführt wurde. Dabei wurde mit einem 10µm-IDK bei einer Messspannung von 1 V der Frequenzbereich von 1 kHz bis 1 MHz getestet.

Der zweite Einflussfaktor auf die Messung ist die Ionenkonzentration, welche in der Probelösung und somit auch in der Messzelle vorliegt. Aufgrund einer hohen Konzentration an Ionen wird die Leitfähigkeit erhöht und somit der Widerstand verringert. Dieses ist besonders relevant, wenn die Interdigitalstruktur frei in der Lösung liegt und eine direkte Interaktion mit den Ionen ermöglicht. Jedoch ist beim verwendeten Sensor eine Polymerschicht auf der Interdigitalstruktur, welche wie ein Isolator wirkt und einen direkten Kontakt der Lösung mit den Elektroden unterbindet. Wie bereits in Kapitel 4.1.2 erörtert wurde, besitzt das Polymer aber Poren, durch die die Ionen eindringen und sich in den Kanälen des Polymers zwischen den Elektroden bewegen können. Die ermöglichte Wanderung der ionischen Spezies kann so ebenfalls eine Widerstandserniedrigung bewirken. Werden diese Zugänge jedoch durch das Einlagern von Erythrozyten (oder anderen Partikeln) in die Polymerschicht verschlossen, können die Ionen nicht mehr eindringen. Daraus ergibt sich die Möglichkeit eine Widerstandserhöhung durch Blockierung der Poren zu messen. Im Kapitel 4.5.2 soll unter anderem der Einfluss von hohen Ionenkonzentrationen auf die Messung beobachtet und das Vermessen der Erythrozyten in einem isotonischen Medium durchgeführt werden.

4.5.1. Frequenzabhängige Widerstandsmessung

Um die Frequenzabhängigkeit der Widerstandsmessungen zu bestimmen, wurden Messserien mit einem geprägten IDK-Sensor bei verschiedenen Messfrequenzen (1 kHz, 5 kHz, 10 kHz, 50 kHz, 100 kHz und 1 MHz) durchgeführt. Dazu wurde der 10 µm-IDK mit einem Polyvinylpyrrolidon beschichtet und mit der Blutgruppe A₁ geprägt. Für den Prägeprozess wurde ein Erythrozytenkonzentrat mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^7$ Zellen/µl verwendet. Bei den Messserien wurden jeweils alle sechs Blutgruppen (A₁, A₂, B, 0, A₁B und A₂B) gemessen. Dazu wurden Lösungen mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml in Deionat hergestellt. Die Messlösungen wurden immer kurz vor der Befüllung gemischt, damit sich die Blutzellen maximal 5 Minuten in wässrigen – nicht isotonischen – Umgebungsbedingungen befinden. Die angelegte Messspannung betrug für alle Messungen 1 V und die Messung erfolgte im parallelen Modus des LCR-Meters. Für das Befüllen und Entleeren der Messzelle wurde eine Peristaltikpumpe mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min verwendet. Die Blutlösungen wurden in umgekehrter Pumprichtung in die Messzelle gefüllt, damit die Blutzellen nicht durch die Pumpe zerdrückt und verformt werden.

In den folgenden Abbildungen (Abb. 106 bis Abb. 111) sind die erhaltenen Messkurven bei den unterschiedlichen Frequenzen dargestellt. Um den relevanten Wert bei der vollständig gefüllten Messzelle darzustellen, sind bei den jeweiligen Minima der Kurve die geringsten Werte als Balkendiagramm dargestellt. Die Blutgruppen wurden bei allen Messungen in der Reihenfolge A₁, A₂, B, 0, A₁B und A₂B gemessen.

In Abb. 106 ist die Messung bei einer Frequenz von 1 kHz dargestellt. Die Templatblutgruppe A₁ weist dabei den geringsten Widerstand von 17520 Ω auf, gefolgt von der Blutgruppe A₁B mit 22311 Ω. Die Blutgruppen 0 und A₂B zeigen einen Widerstand von 28277 Ω beziehungsweise 31415 Ω auf und somit um einen Faktor 1,6 beziehungsweise 1,8 höher als der Wert der Templatblutgruppe. Die höchsten Widerstandswerte liefern die Blutgruppe A₂ mit 59554 Ω und die Blutgruppe B mit 63544 Ω.

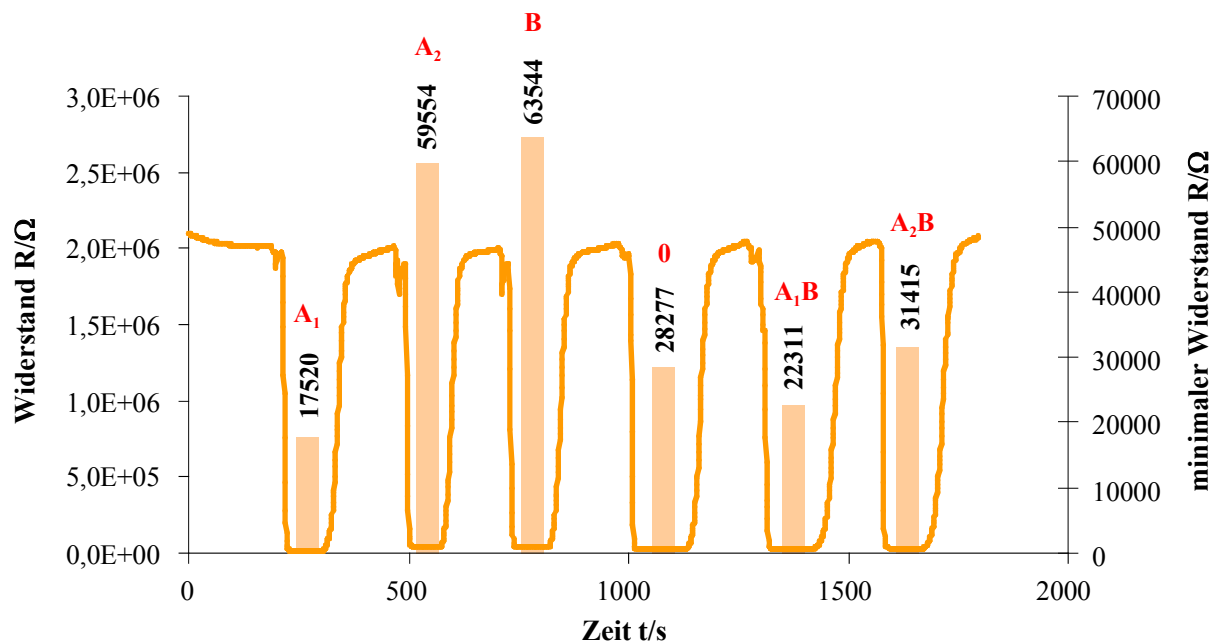


Abb. 106: Darstellung der Messkurve der Widerstandsmessung und minimale Widerstandswerte bei gefüllter Messzelle mit einem Blutgruppe A_1 -geprägten $10\text{ }\mu\text{m}$ -IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 1 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

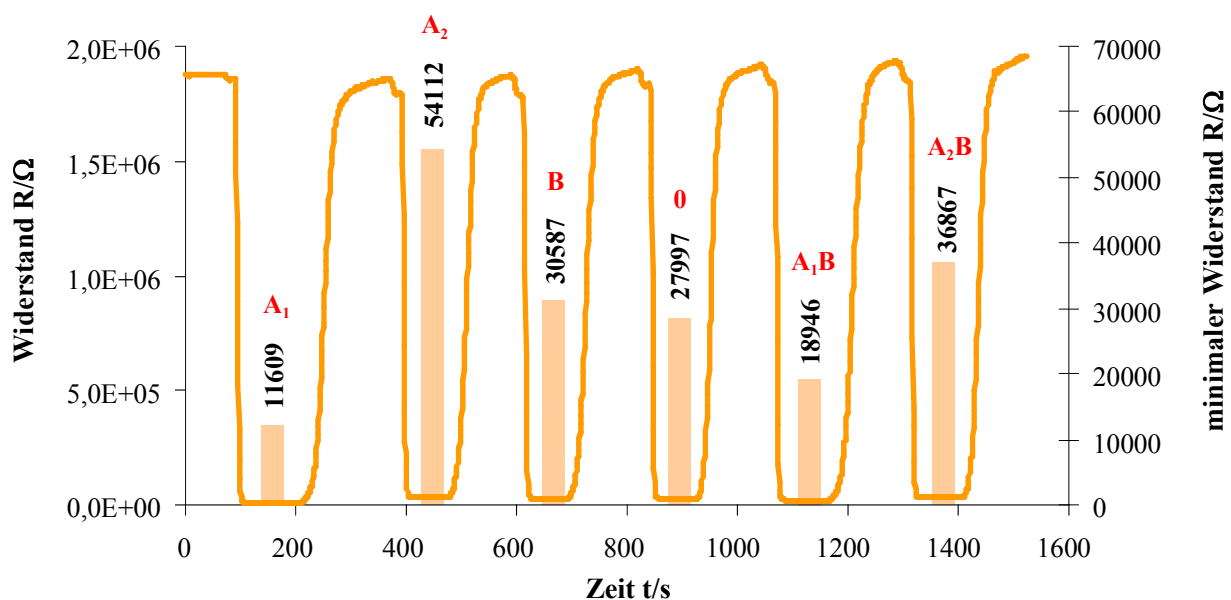


Abb. 107: Darstellung der Messkurve der Widerstandsmessung und minimale Widerstandswerte bei gefüllter Messzelle mit einem Blutgruppe A_1 -geprägten $10\text{ }\mu\text{m}$ -IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 5 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Wird die Frequenz auf 5 kHz erhöht so zeigt sich, dass die Templatblutgruppe A₁ weiterhin den niedrigsten Widerstandswert aufweist (11609 Ω). Die Blutgruppe A₁B zeigt dabei, analog wie bei der vorangegangenen Messung bei 1 kHz, den zweitniedrigsten Wert von 18946 Ω. Die Blutgruppe 0 weist einen Wert von 27997 Ω, die Blutgruppe B einen Wert von 30587 Ω, die Blutgruppe A₂B einen Wert von 36867 Ω und die Blutgruppe A₂ einen Wert von 54112 Ω auf. Die Messkurve ist in Abb. 107 abgebildet.

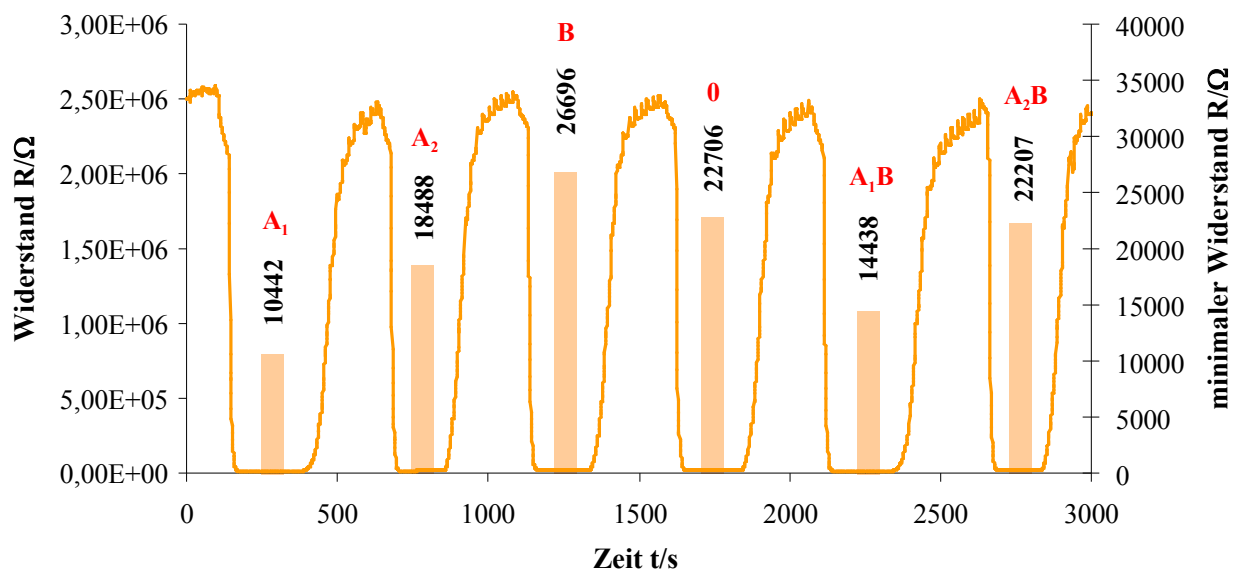


Abb. 108: Darstellung der Messkurve der Widerstandsmessung und minimale Widerstandswerte bei gefüllter Messzelle mit einem Blutgruppe A₁-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Bei einer Frequenz von 10 kHz erreicht die Templatblutgruppe den geringsten gemessenen Widerstandswert dieser Messserie. Dabei weist die Blutgruppe A₁ nur mehr einen Widerstand von 10442 Ω auf, gefolgt von der Blutgruppe A₁B mit einem Widerstand von 14438 Ω. Die Blutgruppe A₂ zeigt bei dieser Messung den dritt-geringsten Messwert (18488 Ω) auf. Die Blutgruppe A₂B erreicht einen Wert von 22207 Ω, die Blutgruppe 0 einen Wert von 22706 Ω und die Blutgruppe B den höchsten Wert dieser Messung von 26696 Ω. Die zur Messung dazugehörige Messkurve ist in Abb. 108 dargestellt.

Bei einer Frequenz von 50 kHz steigt der Widerstandswert der Probelösung der Templatblutgruppe A₁ auf 28211 Ω an, welcher in dieser Messung den niedrigsten Wert darstellt. Die Blutgruppe A₂ liefert einen Widerstand von 41666 Ω, die Blutgruppe A₁B von 51373 Ω, die Blutgruppe A₂B von 66181 Ω, die Blutgruppe 0 von 85922 Ω und die Blutgruppe B von 108863 Ω. Die dazugehörige Kurve und die Werte bei gefüllter Messzelle sind in der Abb. 109 dargestellt.

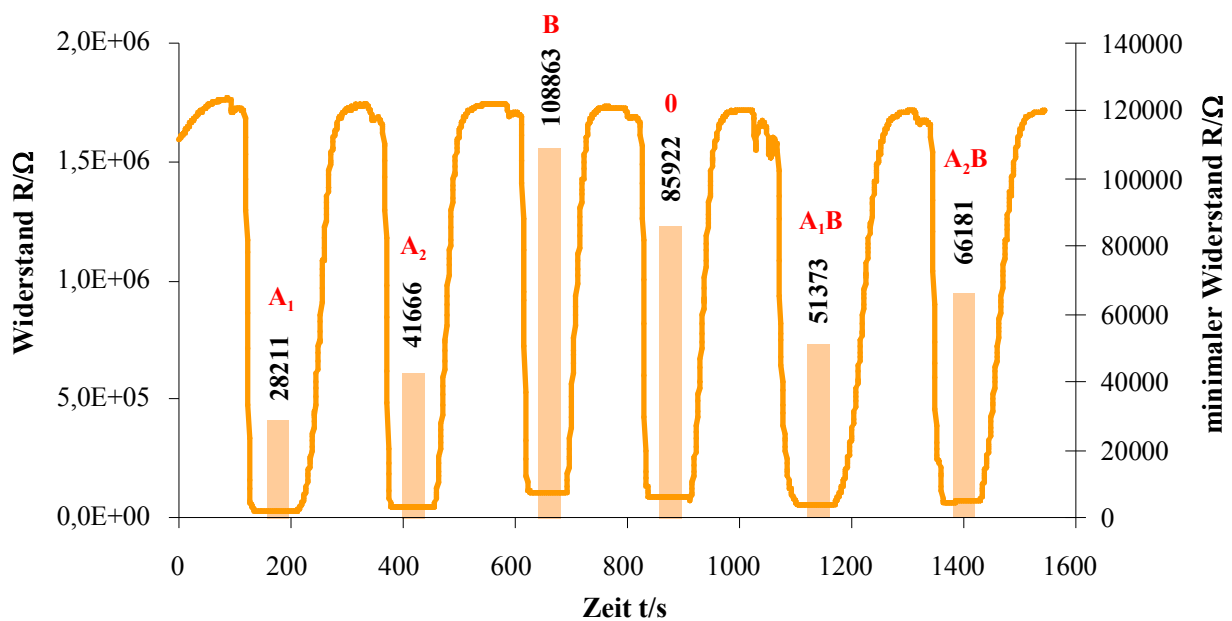


Abb. 109: Darstellung der Messkurve der Widerstandsmessung und minimale Widerstandswerte bei gefüllter Messzelle mit einem Blutgruppe A₁-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 50 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Wird für die Messung eine Frequenz von 100 kHz angelegt, so zeigt die Blutgruppe A₁ einen Widerstandswert von 49983 Ω, die Blutgruppe A₁B von 63219 Ω, die Blutgruppe 0 von 81098 Ω, die Blutgruppe B von 92769 Ω, die Blutgruppe A₂ von 93101 Ω und die Blutgruppe A₂B von 101348 Ω. Damit ist der Unterschied zwischen den Blutgruppen, welche nicht der Templatblutgruppe entsprechen, nur mehr im Bereich von rund 15 kΩ. Jedoch ist die Blutgruppe A₁ immer noch von den anderen Blutgruppen zu unterscheiden und weist weiterhin den niedrigsten Widerstandswert auf, wie in Abb. 110 zu sehen ist.

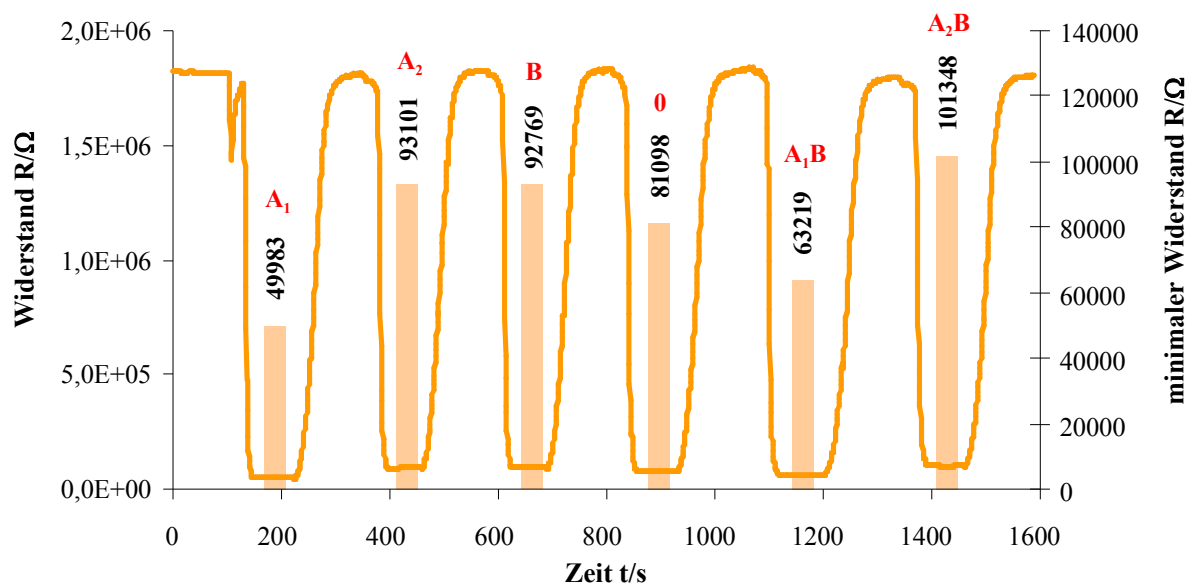


Abb. 110: Messkurve der Widerstandsmessung und minimale Widerstandswerte bei gefüllter Messzelle mit einem Blutgruppe A₁-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 100 kHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

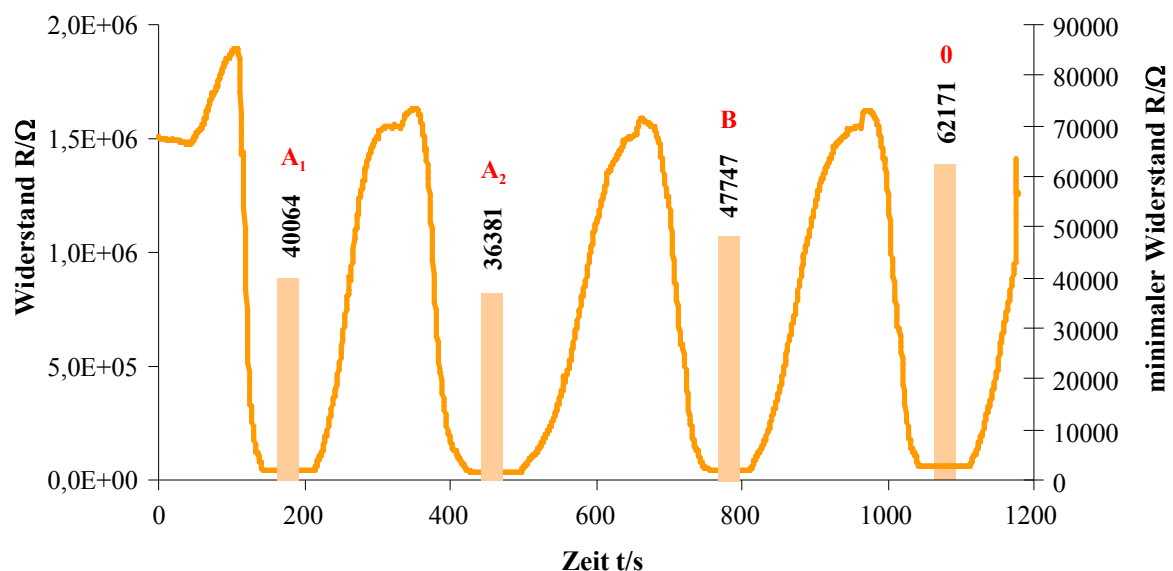


Abb. 111: Messkurve der Widerstandsmessung und minimale Widerstandswerte bei gefüllter Messzelle mit einem Blutgruppe A₁-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 1 MHz, einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Als höchste Messfrequenz wurde 1 MHz angelegt. Bei dieser Messung wurden nur mehr die Blutgruppen A₁, A₂, B und 0 bestimmt. Die ermittelten Widerstandswerte liegen in einem Bereich von 36 kΩ bis 62 kΩ, wobei die Templatblutgruppe nicht mehr den geringsten Wert aufweist, da die Blutgruppe A₂ mit einem Widerstand von 36381 Ω unterhalb des Widerstandes der Blutgruppe A₁ (40064 Ω) liegt. Die Blutgruppe B zeigt einen Wert von 47747 Ω und die Blutgruppe 0 einen Wert von 62171 Ω auf. Die dazugehörige Messkurve und die minimal erreichten Widerstandswerte sind in der Abb. 111 abgebildet.

Tabelle 21: Zusammenfassung der Messergebnisse der frequenzabhängigen Widerstandsmessungen der unterschiedlichen Blutgruppen (A₁, A₂, B, 0, A₁B, A₂B) mit einem A₁-Erythrozyten geprägten IDK-Sensor (Polypyrrolidon-Polymerschicht) mit Blutlösungen mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml in Deionat als Lösungsmittel bei einer Messspannung von 1V.

Frequenz f [Hz]	Blutgruppe					
	A ₁	A ₂	B	0	A ₁ B	A ₂ B
	Widerstand					
	R					
	[Ω]	[Ω]	[Ω]	[Ω]	[Ω]	[Ω]
1000	17520	59554	63544	28277	22311	31415
5000	11609	54112	30587	27997	18946	36867
10000	10442	18488	26696	22706	14438	22207
50000	28211	41666	108863	85922	51373	66181
100000	49983	93101	92769	81098	63219	101348
1000000	40064	36381	47747	62171		

In Tabelle 21 sind die Widerstände der 6 Messungen zusammengefasst und in Abb. 112 graphisch dargestellt. Es ist zu erkennen, dass die Messserie bei einer Frequenz von 10 kHz bei allen Blutgruppen den geringsten Widerstandswert aufweist. Des Weiteren sind die Messwerte der Templatblutgruppe A₁ bei den Frequenzen von 1 kHz bis 100 kHz immer die niedrigsten Werte der Serie, wodurch die Differenzierung der Blutgruppe A₁ bei diesen Messungen ermöglicht wurde. Bei einer höheren Messfrequenz nehmen jedoch die Widerstandswerte aller Blutgruppen zu und führt dazu, dass die relativen Unterschiede zur Templatblutgruppe geringer werden. Wird eine Messfrequenz von 1 MHz angelegt, ist die Templatblutgruppe A₁ nicht mehr

von den anderen zu unterscheiden und die der Blutgruppe A₁ sehr ähnliche Blutgruppe A₂ weist den geringsten Widerstandswert auf.

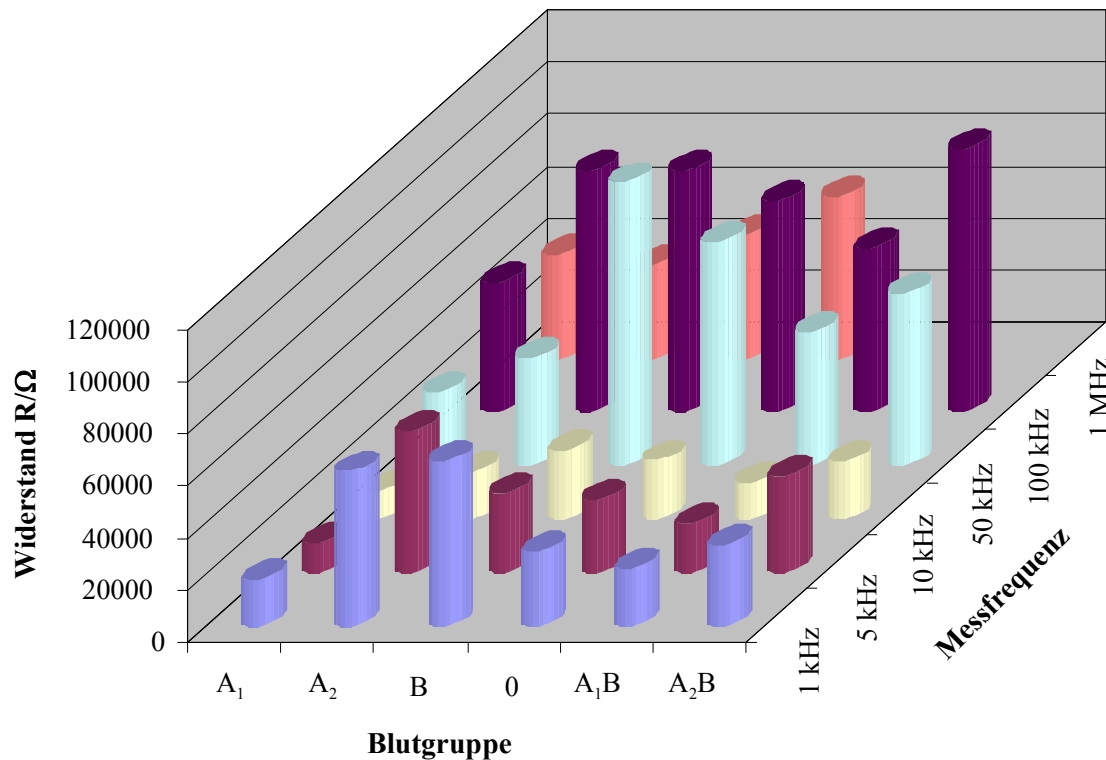


Abb. 112: Zusammenfassung der frequenzabhängigen Widerstandswerte: Die Messungen wurden in einem Frequenzbereich von 1 kHz bis 1 MHz durchgeführt und es wurde eine Messspannung von 1 V angelegt. Als Sensor diente ein A₁-geprägter 10 µm-IDK (Polyvinylpyrrolidonschicht). Die Konzentration der verwendeten Probelösungen betrug $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml.

Zur Bestimmung der Frequenzabhängigkeit der Widerstandsmessung der Templatblutgruppe, wurden die ermittelten Widerstandswerte gegen die Frequenz aufgetragen, wobei die Frequenz logarithmisch aufgetragen wird, da diese einen Bereich von 3 Zehnerpotenzen abdeckt. Wie in Abb. 113 zu erkennen ist, zeigt der Widerstand bei einer niedrigen Messfrequenz (1 kHz bis 10 kHz) gleichbleibende Widerstandswerte im Bereich von 10 kΩ bis 20 kΩ auf. Wird die Frequenz erhöht, so steigt auch der Widerstand an und erreicht Werte bis zu 50 kΩ. Der niedrigste Widerstand wurde bei einer Frequenz von 10 kHz gemessen und betrug 10442 Ω.

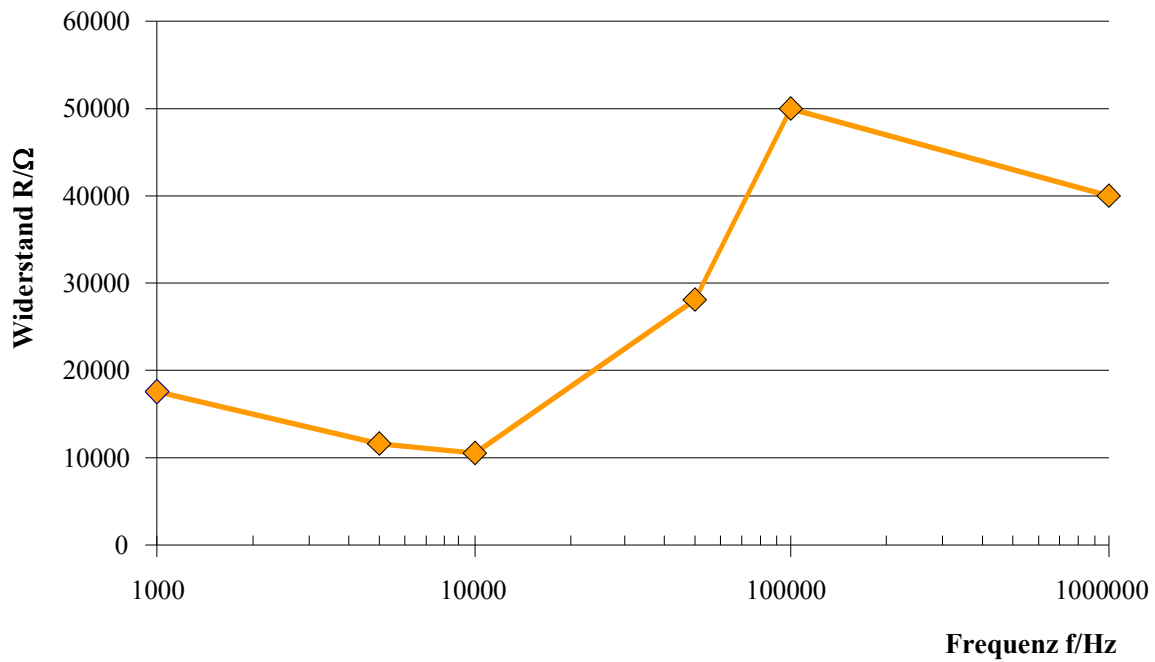


Abb. 113: Darstellung der minimalen Widerstandswerte bei Messfrequenzen zwischen 1 kHz und 1 MHz der Blutgruppe A₁ mit einem A₁-geprägten 10 µm-IDK-Sensor bei einer Messspannung von 1 V und einer parallelen Messschaltung. Die Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat hergestellt.

4.5.2. Einfluss des Lösungsmittels (Ionenkonzentration)

Zur Bestimmung des Einflusses der Ionen im Lösungsmittel, wurde ein 10 μm -IDK-Sensor mit einer A₁-geprägten Polyvinylpyrrolidonschicht und NaCl-Lösungen im Konzentrationsbereich von 0,1 w% bis 20 w% verwendet. Um die Frequenzabhängigkeit mit zu bestimmen, wurden die verschiedenen Lösungen im Frequenzfenster von 100 Hz bis 1 MHz gemessen. Für die Messung wurde die Messzelle mit der jeweiligen Probelösung gefüllt und danach die Pumpe abgestellt und das Einstellen eines konstanten Widerstandes abgewartet. Die dabei ermittelten Werte sind in der folgenden Tabelle 22 zusammengefasst.

Tabelle 22: Ergebnisse der Messungen zur Bestimmung der Ionenkonzentrationsabhängigkeit mit unterschiedlicher NaCl-Konzentration und bei unterschiedlicher Messfrequenz. Als Messsensor wurde ein A₁-geprägter 10 μm -IDK verwendet. Die Messung erfolgte bei gestoppter Peristaltikpumpe.

Konzentration [w%]	0,1	0,5	0,9	1,5	2,0	5,0	10,0	20,0
Frequenz f [Hz]	Widerstand R [Ω]							
100	5480,7	2359,7	1333,1	932,4	742,0	616,5	551,5	651,6
500	3923,7	1256,7	541,3	287,5	203,3	183,2	135,1	119,5
1000	3251,0	950,3	347,6	196,6	142,9	123,5	79,1	66,7
5000	2109,6	550,8	221,6	127,1	94,1	64,8	37,2	28,6
10000	1922,5	461,4	200,6	116,3	85,7	53,6	31,6	24,0
50000	1782,6	354,9	177,6	106,1	78,6	43,1	27,0	20,4
100000	1695,8	332,2	172,0	103,9	77,0	41,4	25,3	19,9
500000	1503,7	302,9	164,5	99,8	74,5	39,3	26,3	19,1
1000000	1418,8	295,0	162,1	98,7	73,6	38,8	24,9	19,0

Werden die erhaltenen Messwerte graphisch aufgetragen (Abb. 114), zeigt sich, dass der Widerstand mit steigender Ionenkonzentration abnimmt. Dieses ist darauf zurückzuführen, dass die Ionen in die Poren der Polyvinylpyrrolidonschicht eindringen und aufgrund der vorhandenen Kanäle zwischen den Elektroden des IDK wandern können und so eine Erhöhung der Leitfähigkeit bewirken und sich daraus ein geringerer Widerstandswert ergibt. Weiters ist zu beobachten, dass mit abnehmender Messfrequenz der Widerstand ansteigt. Dabei ist bei

niedrigen NaCl-Konzentration (0,1w%) ein Bereich von 1419 Ω (1 MHz) und 5481 Ω (100 Hz) abgedeckt. Bei einer isotonischen Lösung werden Widerstandswerte von 162 Ω (1 MHz) bis 1333 Ω (100 Hz) abgedeckt. Bei der Probelösung mit der höchsten NaCl-Konzentration wurden Widerstandswerte von 19 Ω (1 MHz) bis 652 Ω (100 Hz) gemessen.

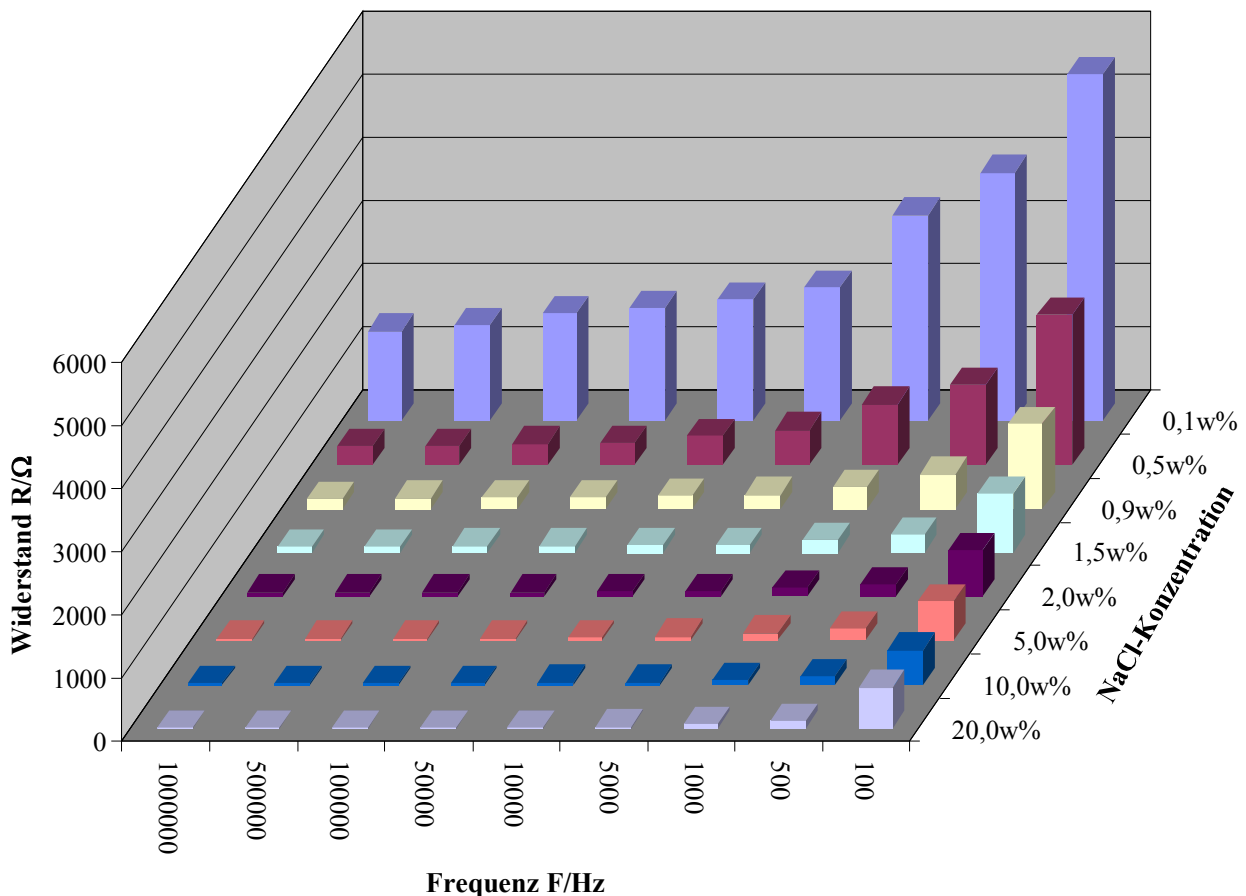


Abb. 114: Zusammenfassung der Messung Lösungen mit unterschiedlicher NaCl-Konzentrationen in einem Frequenzbereich von 100 Hz bis 1 MHz. Für die Messung wurde ein A_1 -geprägter 10 μm -IDK-Sensor herangezogen. Die Messspannung betrug 1 V.

Im Folgenden wurden Messungen mit Blutzellen in isotonischen NaCl-Lösungen durchgeführt. Dabei werden nach den oben aufgenommenen Messkurven Widerstandswerte im Bereich von 200 bis 1000 Ω erwartet. Für die erste Messserie wurde ein 10 μm -IDK-Sensor mit einer A_1 -geprägten Polyvinylpyrrolidonschicht verwendet. Die Prägung erfolgte mit einem A_1 -Erythrozytenkonzentrat mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^7$ Erythrozyten/ μl . Um einen Vergleich mit den vorangegangenen Messungen zu ermöglichen, wurden eine Messfrequenz von 10 kHz und eine Spannung von 1 V ausgewählt.

Für die Widerstandsmessung wurde eine A₁-Blutprobelösung mit einer Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml herangezogen. Dabei wurde die Probelösung mit einer isotonischen NaCl-Lösung (0,9w% NaCl in Deionat gelöst) hergestellt, in der die Blutzellen ihre Form beibehalten und nicht mehr aufplatzen. Dadurch lagern sie sich besser in die vorhandenen Kavitäten ein. Wie in Kapitel 4.1.2 in Abb. 44 beschrieben, wird aufgrund der hohen Ionenkonzentration eine Zunahme des Widerstandes beobachtet. Die eingelagerten Blutzellen versperren den Ionen in der Lösung die vorhanden Poren und verhindern so ein Wandern zwischen den Elektroden und verringern die Leitfähigkeit.

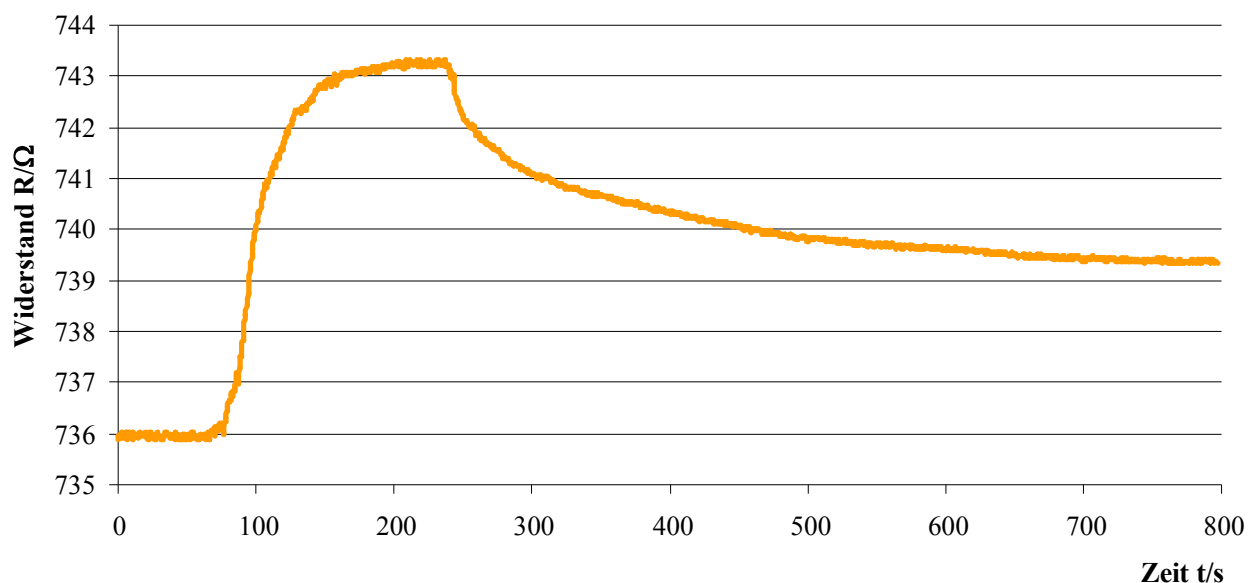


Abb. 115: Widerstandsmessung einer A₁-Probelösung ($c = 1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml) mit einem A₁-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidon beschichtet). Als Lösungsmittel wurde eine 0,9w% NaCl-Lösung verwendet. Die Messfrequenz betrug 10 kHz.

Die in Abb. 115 dargestellte Messkurve zeigt nur einen geringen Anstieg des Widerstandes von 735,919 Ω auf 739,347 Ω ($\Delta R = 7,499 \Omega$). Beim Spülen der Messzelle mit isotonischer NaCl-Lösung sinkt der Widerstand auf 739,347 Ω ab, was einer Differenz von 3,428 Ω zum Anfangswert entspricht. Dieses ist darauf zurückzuführen, dass die Blutzellen so gut in den Kavitäten gebunden sind, dass sie sich nicht mehr herauslösen und somit die Poren auch beim Spülprozess blockieren.

Wird die Konzentration der Probelösung um den Faktor 10 auf $1,5 \cdot 10^9$ Erythrozyten/ml erhöht, so liefert die Messung eine Widerstandserhöhung von 90,091 Ω. Dabei steigt dieser von 497,615 Ω auf 587,706 Ω an und der maximale Widerstandswert erreicht den 12-fachen Wert der vorangegangenen Messung mit einer Erythrozytenkonzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml.

Beim Spülen der Messzelle sinkt der Widerstand langsam ab, erreicht aber den Anfangswert, wie bereits bei geringen Konzentrationen, nicht mehr. Der nach 15 Minuten Spülen erreichte Wert beträgt 556,643 Ω . Die Messkurve ist in Abb. 116 dargestellt.

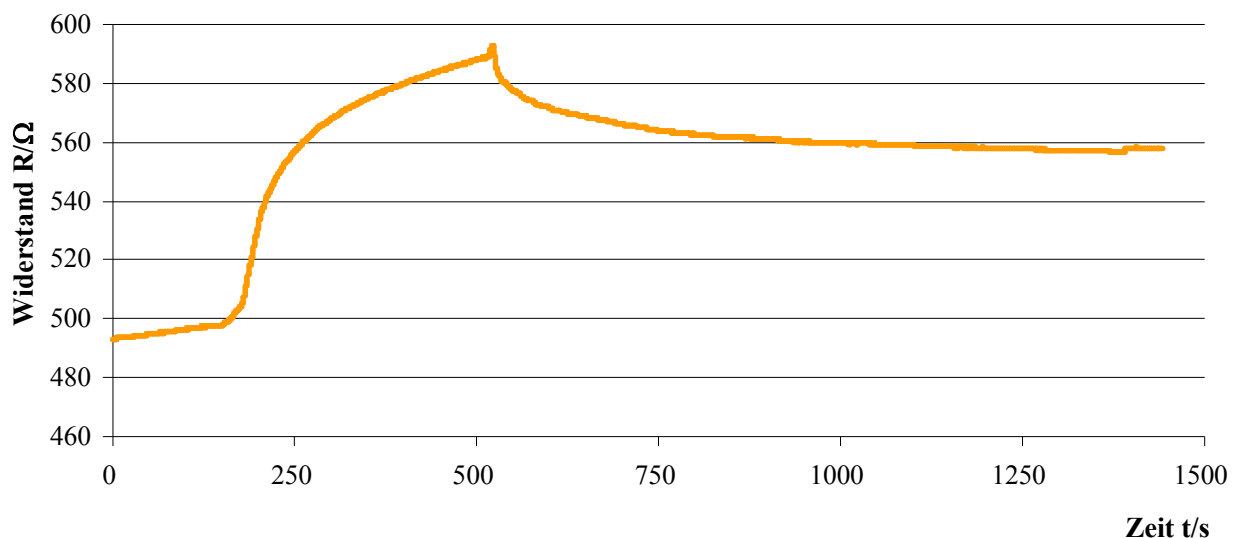


Abb. 116: Widerstandsmessung einer A₁-Probelösung ($c = 1,5 \cdot 10^9$ Erythrozyten/ml) mit einem A₁-geprägten 10 μm -IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidon beschichtet). Als Lösungsmittel wurde eine 0,9w% NaCl-Lösung verwendet. Die Messfrequenz betrug 10 kHz.

In der folgenden Messung (Abb. 117) wurde das Verhalten des Sensors beim Befüllen mit neuen Erythrozyten bestimmt. Dazu wurde zuerst eine A₁-Blutprobelösung ($c = 1,5 \cdot 10^9$ Erythrozyten/ml) gemessen. Der Widerstand stieg dabei von 526,776 Ω auf 580,328 Ω an ($\Delta R = 53,552 \Omega$). Im Anschluss wurde der Sensor mit einer 0,9w%iger NaCl-Lösung gewaschen, bis ein konstanter Widerstandswert von 550,445 Ω erreicht wurde. Dann wurde nochmals eine Probelösung mit einer Konzentration von $1,5 \cdot 10^9$ Erythrozyten/ml in die Messzelle gepumpt und die Widerstandsänderung gemessen. Dabei stieg der Widerstand von 550,445 Ω auf 587,215 Ω an ($\Delta R = 36,770 \Omega$). Da ein höherer Widerstand bei gefüllter Messzelle erreicht wurde, kann rückgeschlossen werden, dass mehr Kavitäten besetzt wurden als beim ersten Messschritt. Beim Spülen mit der isotonischen NaCl-Lösung wurde ein Wert von 561,658 Ω erreicht und liegt somit um 11,213 Ω über den Wert nach der ersten Messung. Werden nun wieder neue Erythrozyten eingepumpt, steigt der Widerstand von 561,658 Ω auf 593,286 Ω an ($\Delta R = 31,628 \Omega$) und erreicht nach dem Ausspülen der Zellen einen Wert von 566,878.

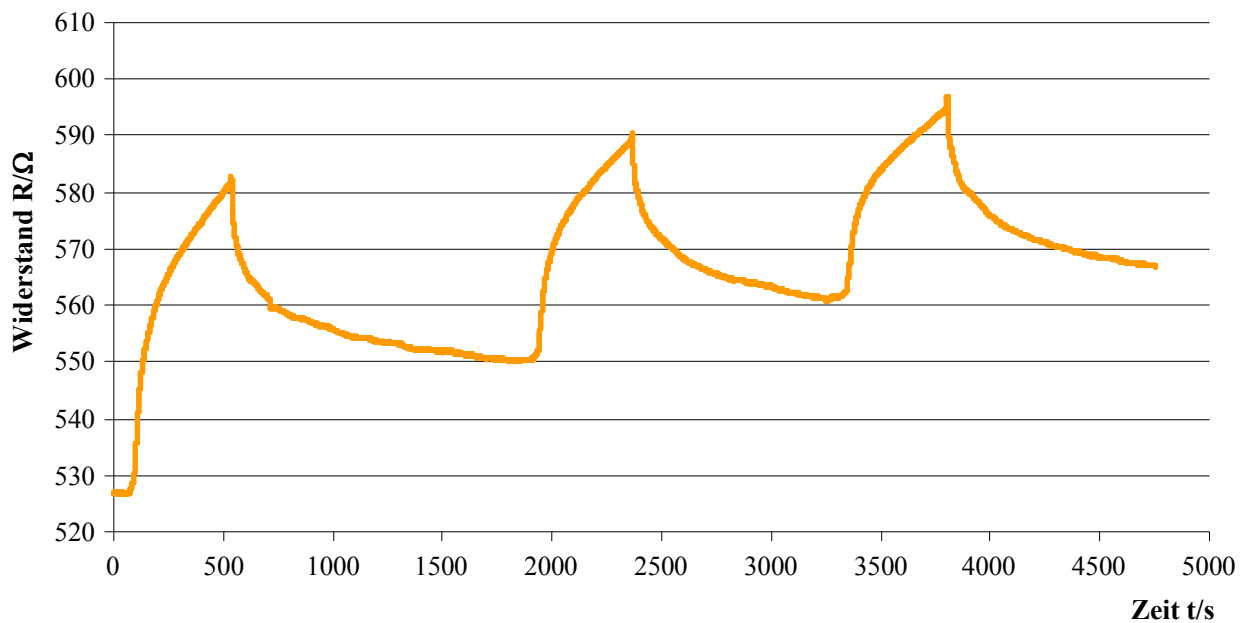


Abb. 117: Widerstandsmessung mit einem A_1 -geprägten $10\text{ }\mu\text{m}$ -IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidon beschichtet). Für die Messung wurden 3mal A_1 -Blutlösungen mit einer Konzentration von $1,5 \cdot 10^9$ Erythrozyten/ml über den Sensor gepumpt und dazwischen gespült. Als Lösungsmittel diente eine 0,9w% NaCl-Lösung. Die Messfrequenz betrug 10 kHz und die Messspannung 1 V.

Wie in den vorangegangenen Messung zu sehen ist, steigt die Widerstandsänderung mit der Anzahl der Erythrozyten an, so zeigt die Messung mit einer Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml eine Widerstandsänderung von $7,499\text{ }\Omega$ und die Messung mit einer Konzentration von $1,5 \cdot 10^9$ Erythrozyten/ml eine Erhöhung von $90,091\text{ }\Omega$. Um nun auch für kleinere Konzentrationen einen großen Messeffekt zu erzielen, kann die Messung mit einem $5\text{ }\mu\text{m}$ -IDK durchgeführt werden. Aufgrund des geringeren Abstandes zwischen den Elektroden zeigt diese einen geringeren Anfangswiderstand und eine größere Änderung beim Einbringen von Blutzellen in die Messzelle.

Für die folgende Messung wurde daher ein $5\text{ }\mu\text{m}$ -IDK mit einer A_1 -geprägten Polyvinylpyrrolidonschicht und einer Frequenz von 10 Hz verwendet. Wie in der folgenden Graphik (Abb. 118) zu sehen ist, stellt sich beim Durchpumpen einer 0,9w%iger NaCl-Lösung ein Widerstand von $65,340\text{ }\Omega$ ein. Dieser steigt beim Einpumpen einer A_1 -Blutprobenlösung mit einer Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml auf $148,361\text{ }\Omega$ an, was einer Änderung von $83,021\text{ }\Omega$ beziehungsweise einer Erhöhung des Widerstandes um 127% des Grundwertes, entspricht. Damit liegt der Messwert um einen Faktor 11 höher als bei der Messung mit den $10\text{ }\mu\text{m}$ -IDK-Sensor. Beim Waschen sinkt der Widerstand wieder auf $97,653\text{ }\Omega$ ab, wobei auch hier der Anfangswert nicht mehr erreicht wird. Die Differenz von $32,313\text{ }\Omega$ ist auf die nach dem

Spülen noch eingelagerten Blutzellen zurückzuführen. Diese verhindern während des Spülschrittes das Eindringen von Na^+ - und Cl^- -Ionen in die Kanäle des Polymers. Für den Reinigungsschritt wurde mittels Peristaltikpumpe eine isotonische NaCl-Lösung durchgepumpt, wobei die Pumpgeschwindigkeit 0,413 ml/min betrug.

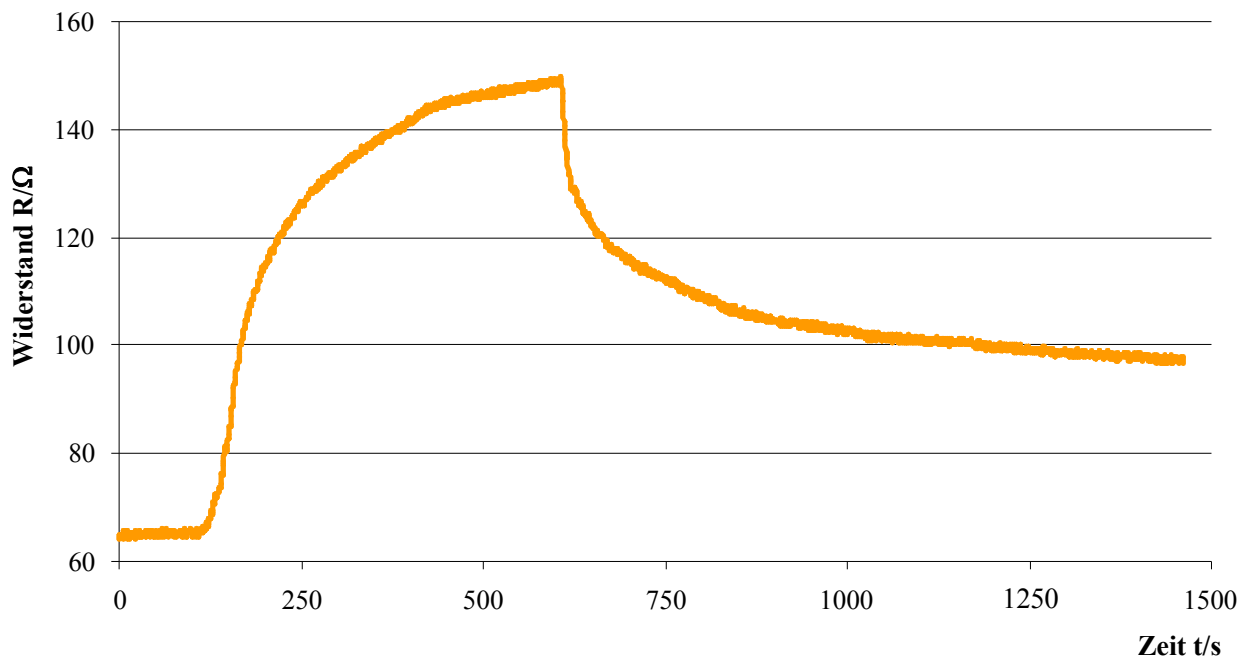


Abb. 118: Widerstandsmessung einer A_1 -Probelösung ($c = 1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml) mit einem A_1 -geprägten 5 μm -IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidon beschichtet). Als Lösungsmittel wurde eine 0,9w% NaCl-Lösung verwendet. Die Messfrequenz betrug 10 kHz.

4.6. Einfluss der Konzentration an Erythrozyten auf die Messung

Die Abhängigkeit des Sensorsignals von der Konzentration des Analyten stellt eine wichtige Information für den Sensor dar, um Abschätzungen über den Anwendungsbereich und der Verwendbarkeit des Sensors zu fällen. Die Verwendung des Sensors und die Messung von Probelösungen sollen in einem linearen Arbeitsbereich des Sensors erfolgen, damit reproduzierbare Ergebnisse erzielt und eine gute Differenzierbarkeit der unterschiedlichen Blutgruppen erreicht werden können. Sensorkennlinien bei denen die Kapazitäts- und die Widerstandswerte beziehungsweise die Frequenzerniedrigung gegen die Konzentration aufgetragen werden, sollen dabei helfen einen guten beziehungsweise einen brauchbaren Konzentrationsbereich für die Messung zu finden.

4.6.1. Konzentrationsabhängigkeit der IDK-Messungen

Um den Einfluss der Erythrozytenzahl in den Lösungen auf die Kapazitäts- und Widerstandsmessung zu bestimmen, wurden konzentrationsabhängige Messungen mit dem 10 µm-Interdigitalkondensator-Sensor durchgeführt. Dazu wurde ein A₁-geprägter Sensor herangezogen und aus dem Erythrozytenkonzentrat der Blutproben A₁ und A₂ wurden Verdünnungen mit Konzentrationen von $1,5 \cdot 10^8$, $1,0 \cdot 10^8$, $8,0 \cdot 10^7$, $4,0 \cdot 10^7$ und $2,0 \cdot 10^7$ Zellen/ml hergestellt, um so auch die Abhängigkeit der verschiedenen Blutgruppen zu einer Prägung zu berücksichtigen. Die Probelösungen wurden frisch hergestellt und innerhalb von 5 Minuten gemessen, um so ein Platzen der Blutzellen zu vermeiden. Für die Messungen wurde die Messzelle für 3 Stunden mit Deionat gespült, um diese zu konditionieren. Die Befüllung der Zelle mit den Probelösungen erfolgte in umgekehrter Pumprichtung mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min. Nachdem die Messzelle vollständig gefüllt war, wurde die Pumpe abgestellt und das Erreichen eines konstanten Messwertes abgewartet. Danach wurde die Zelle entleert und mit Deionat gespült und die nächste Probenkonzentration gemessen. Für die Messung wurden eine Messfrequenz von 10 kHz und eine Messspannung von 1 V verwendet. Die Messung der Kapazität und des Widerstandes erfolgten mittels paralleler Anordnung (Einstellung am Gerät).

Für die erste Messreihe wurde ein mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht versehener A₁-geprägter IDK-Sensor herangezogen und als Probelösung wurden Verdünnungen aus dem A₁-Erythrozytenkonzentrat verwendet. Bei der Variation der Blutzellenkonzentration in der Lösung

konnte ein abnehmendes Signal bei der Kapazitätsmessung beobachtet werden, wie in Abb. 119 dargestellt ist.

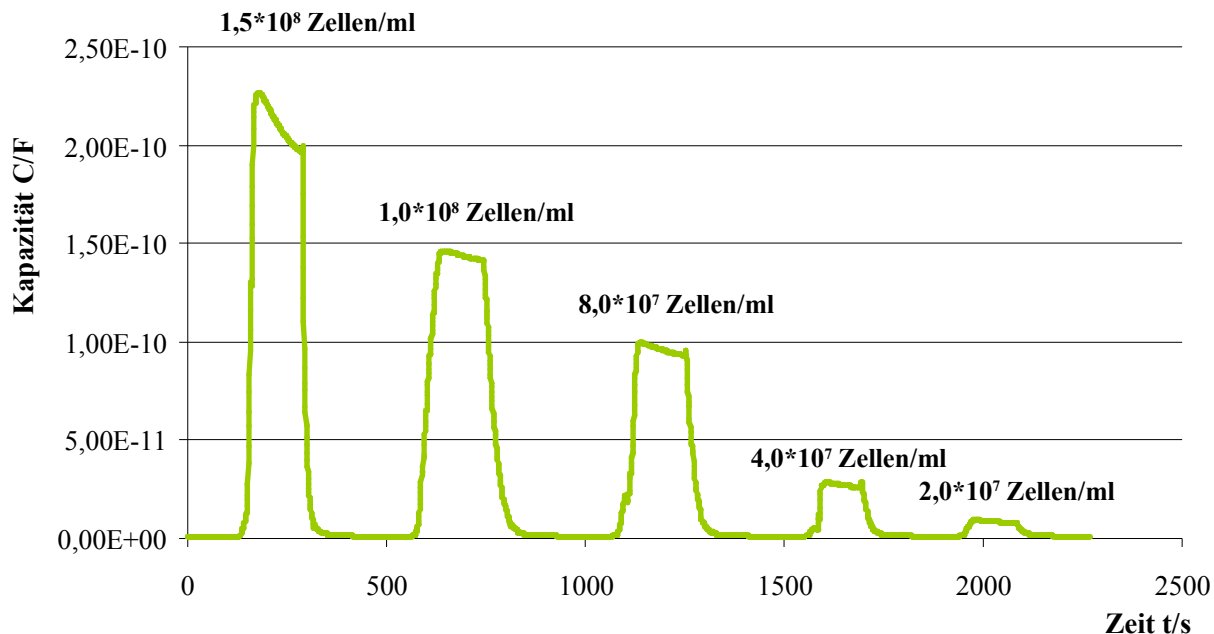


Abb. 119: Messkurve der Kapazitätsmessung mit einem Blutgruppe A₁-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Die A₁-Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ bis $2,0 \cdot 10^7$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Bei einer A₁-Erythrozytenkonzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Zellen/ml stieg die Kapazität von einem Grundwert von 2,7 pF auf 197 pF an. Wird die Konzentration an roten Blutzellen in der Lösung auf $1,0 \cdot 10^8$ Zellen/ml reduziert, steigt die Kapazität nur mehr auf 141 pF an. Bei einer weiteren Reduktion der Blutzellen in der Probelösung wird die Kapazität weiter verkleinert, so zeigt die Probelösung mit $8,0 \cdot 10^7$ Erythrozyten/ml eine Kapazität von 93 pF, die Probelösung mit einer Konzentration von $4,0 \cdot 10^7$ Erythrozyten/ml 28,7 pF und die Lösung mit der geringsten Konzentration von $2,0 \cdot 10^7$ Erythrozyten/ml nur mehr einen Anstieg auf 8,0 pF. Es ist zu erkennen, dass je höher die Konzentration an Zellen in der Lösung desto höher auch das Signal bei der Kapazitätsmessung ist. Da mehr Zellen in der Lösung vorhanden sind, können die leeren Kavitäten maximal besetzt werden und so einen größeren Einfluss auf die Änderung des Dielektrikums ausüben. Wird die Konzentration gesenkt, so werden nicht mehr alle Kavitäten besetzt, wodurch einige frei bleiben und mit Lösungsmittel, in diesem Fall Deionat, ausgefüllt werden. Da jedoch der Blindwert bereits mit Deionat gefüllten Kavitäten bestimmt worden ist,

wirken sich diese bei der Messung nicht auf eine Änderung des Signals aus. Daher steigt die Kapazität bei einer Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Zellen/ml auf den einen über 70mal größeren Wert an als der Wert den die nur mit Deionat befüllte Messzelle erreicht. Bei der niedrigsten Konzentration, welche in etwa um eine Zehnerpotenz niedriger liegt als die höchste Konzentration, steigt die Kapazität nur mehr auf einen dreimal so hohen Wert an, wie in der folgenden Abb. 120 graphisch dargestellt ist.

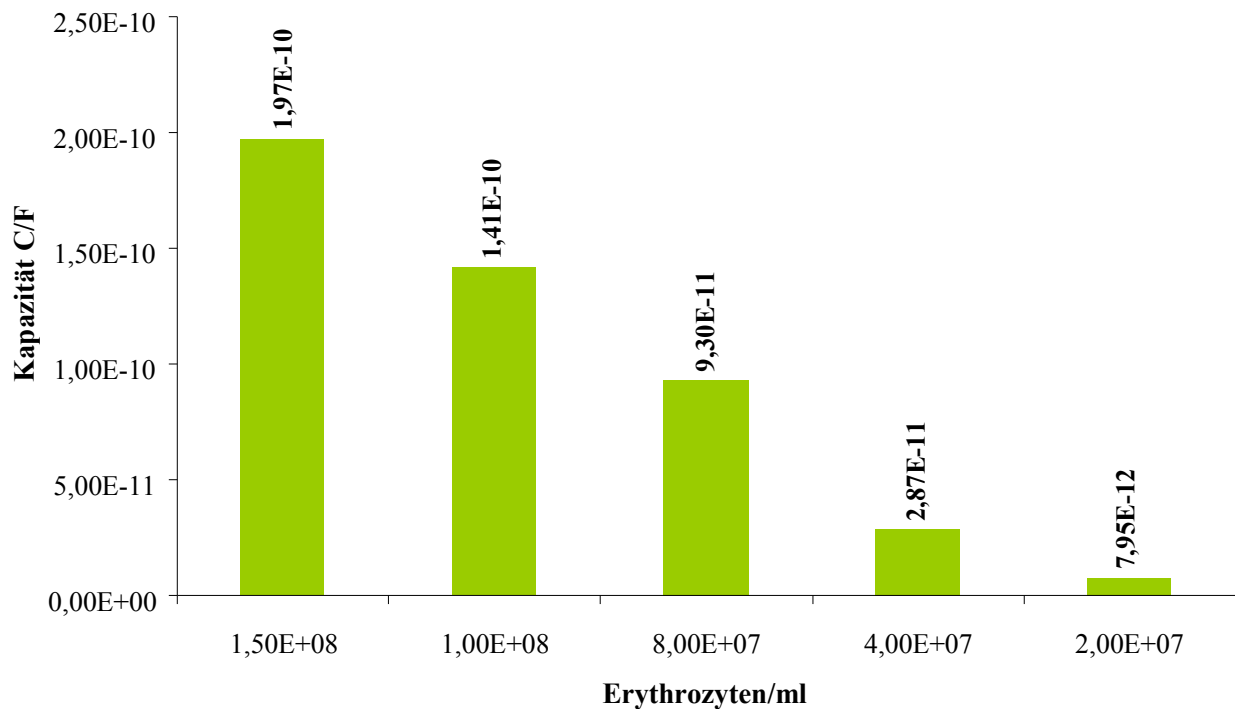


Abb. 120: Messwerte der Kapazitätsmessung mit einem A₁-Sensor und Probelösungen der Blutgruppe A₁ mit unterschiedlichen Erythrozytenkonzentrationen unter der Verwendung eines 10 µm-IDK, einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Die Messlösungen wurden frisch hergestellt und sofort gemessen.

Werden nun die ermittelten Kapazitätswerte gegen die Konzentration der Probelösung aufgetragen, so wird folgende Kennlinie für den A₁-Sensor im Bezug auf seine Templatblutgruppe als Probelösung erhalten. Dieses zeigt einen linearen Zusammenhang, wie in der Abb. 121 zu sehen ist. Werden durch diese 5 Messpunkte eine Regressionsgerade gelegt, kann folgende Geradengleichung (mit einem R-Quadrat von $R^2=0,9874$) beschrieben werden:

$$y = 2,0 \cdot 10^{18} \cdot x - 2,0 \cdot 10^{-11}$$

Gleichung 39

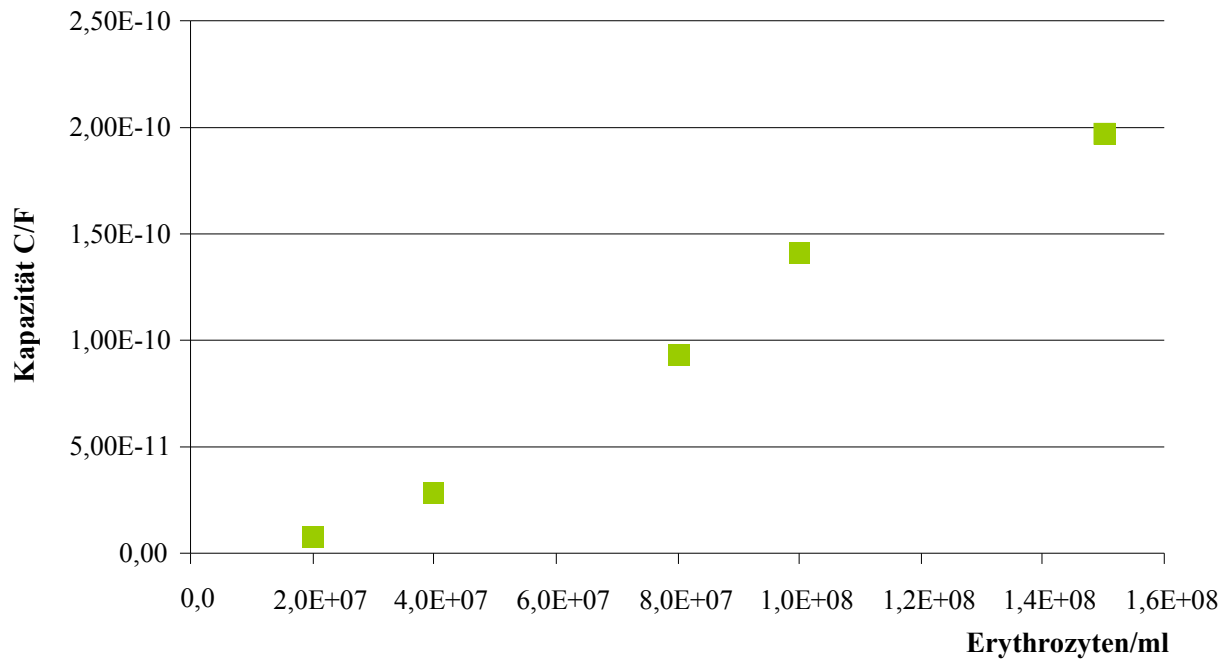


Abb. 121: Sensorkennlinie der Kapazität des A₁-Sensor (10 µm-IDK mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht) mit A₁-Probelösungen bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V.

Wird die Widerstandsmessungen des A₁-Sensors mit den verschiedenen konzentrierten A₁-Probelösungen betrachtet, so ist schon beim Kurvenverlauf in Abb. 122 ein Ansteigen des Widerstandes mit abnehmender Zellenanzahl pro Milliliter zu erkennen. Die Kurvenform selbst, bleibt jedoch von der unterschiedlichen Anzahl an Erythrozyten in Lösung unverändert und fällt mit dem Befüllen der Messzelle ab und steigt, beim Spülprozess mit Deionat wieder an.

Bei der niedrigsten Konzentration von $2,0 \cdot 10^7$ Erythrozyten/ml konnte ein Widerstand von 81913Ω gemessen werden, dieser fällt mit steigender Konzentration ab und beträgt bei $4,0 \cdot 10^7$ Zellen/ml nur mehr 28545Ω . Bei einer Konzentration von $8,0 \cdot 10^7$ Zellen/ml weist der Widerstand bei gefüllter Messzelle 13097Ω auf und bei $1,0 \cdot 10^8$ Zellen/ml sinkt der Widerstand weiter ab und erreicht einen Wert von 10108Ω . Bei der höchsten Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml beträgt der Widerstand nur mehr 8263Ω . Wie in Abb. 123 ersichtlich sinkt der Widerstand mit steigender Konzentration an Blutzellen in der Probelösung nicht linear, sondern exponentiell, ab.

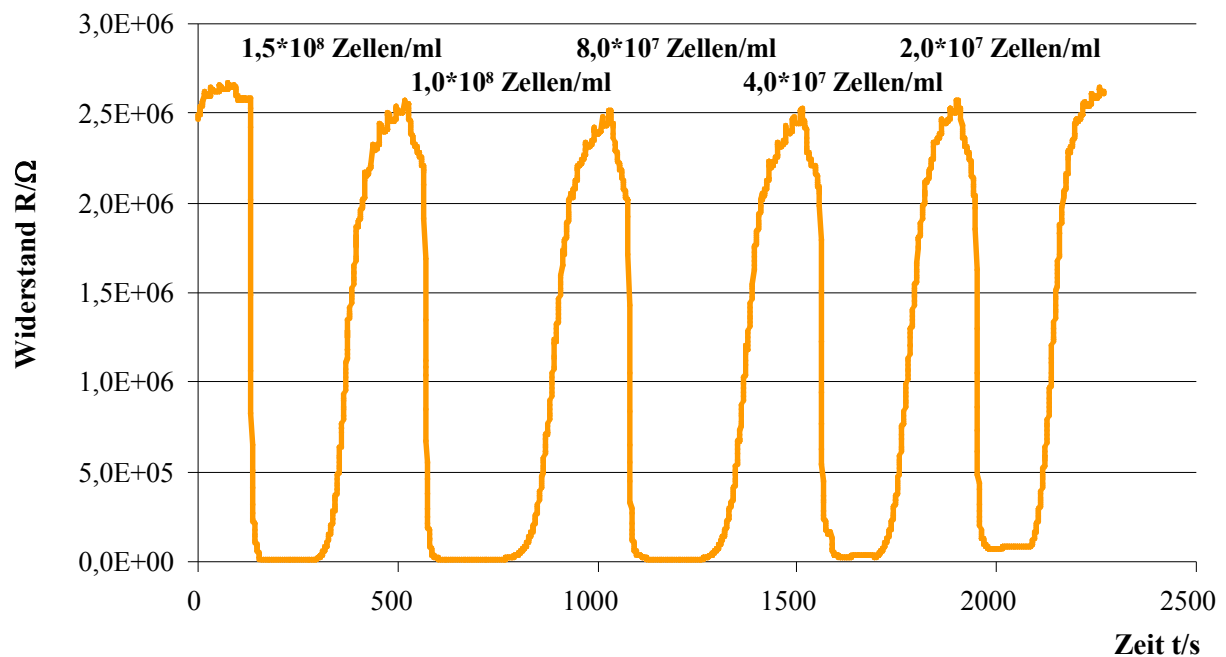


Abb. 122: Messkurve der Widerstandsmessung mit einem Blutgruppe A₁-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Die A₁-Blutprobelösungen hatten eine Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ bis $2,0 \cdot 10^7$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

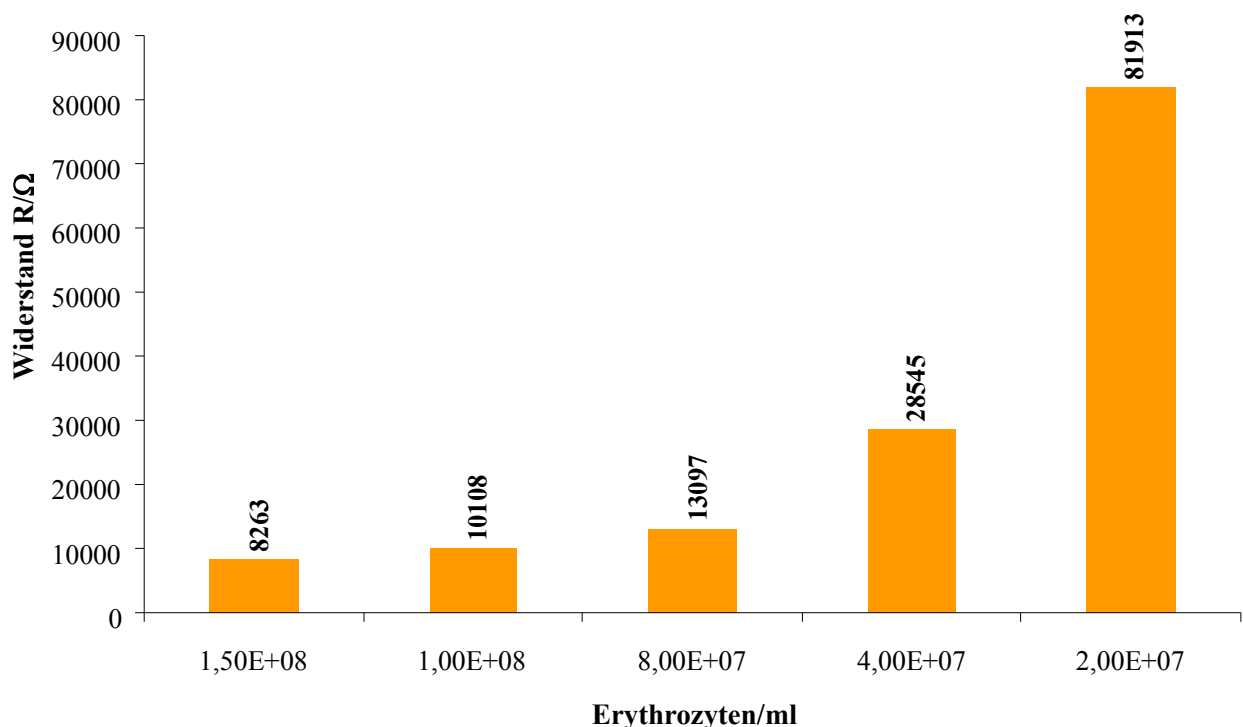


Abb. 123: Messwerte der Widerstandsmessung mit einem A₁-Sensor und Probelösungen der Blutgruppe A₁ mit unterschiedlichen Erythrozytenkonzentrationen unter der Verwendung eines 10 µm-IDK, einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Die Messlösungen wurden frisch hergestellt und sofort gemessen.

Werden hier nun die gemessenen Widerstandswerte gegen die Konzentration an Erythrozyten in der Lösung aufgetragen, so ergibt sich eine zuerst steil abfallende Kurve, welche bei hohen Konzentrationen abflacht. Dieses ist in der folgenden Abb. 124 zu sehen.

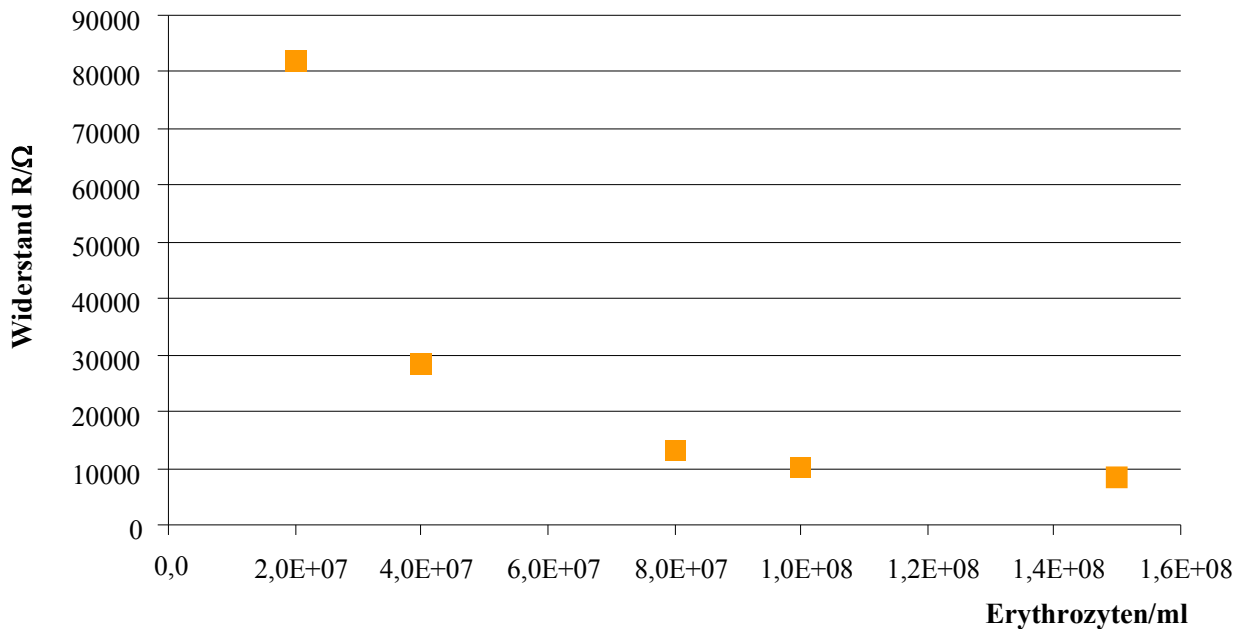


Abb. 124: Sensorkennlinie des Widerstands des A₁-Sensors (10 µm-IDK mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht) mit A₁-Probelösungen bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V.

Für die zweite Messserie wurde wieder ein A₁-Sensor herangezogen, welcher aus einem 10 µm-IDK mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht bestand. Dieses Mal wurde für die Herstellung der Probelösungen aber ein A₂-Erythrozytenkonzentrat mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^7$ Zellen/µl verwendet. Die erstellten Messlösungen hatten Konzentrationen von $2,0 \cdot 10^7$ bis $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Auch hier zeigt sich dasselbe Bild wie bei der Messung mit den A₁-Blutprobelösungen: Die Kapazitätswerte werden mit zunehmender Konzentration höher und die Widerstandswerte sinken im Gegensatz dazu ab. In Abb. 125 ist der Kurvenverlauf der Kapazitätsmessung bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V mit den unterschiedlich konzentrierten A₂-Probelösungen zu sehen. Bei der mit Deionat gefüllten Messzelle konnte ein Ausgangswert von 1,27 pF, analog wie bei der vorangegangenen Messserie, ermittelt werden.

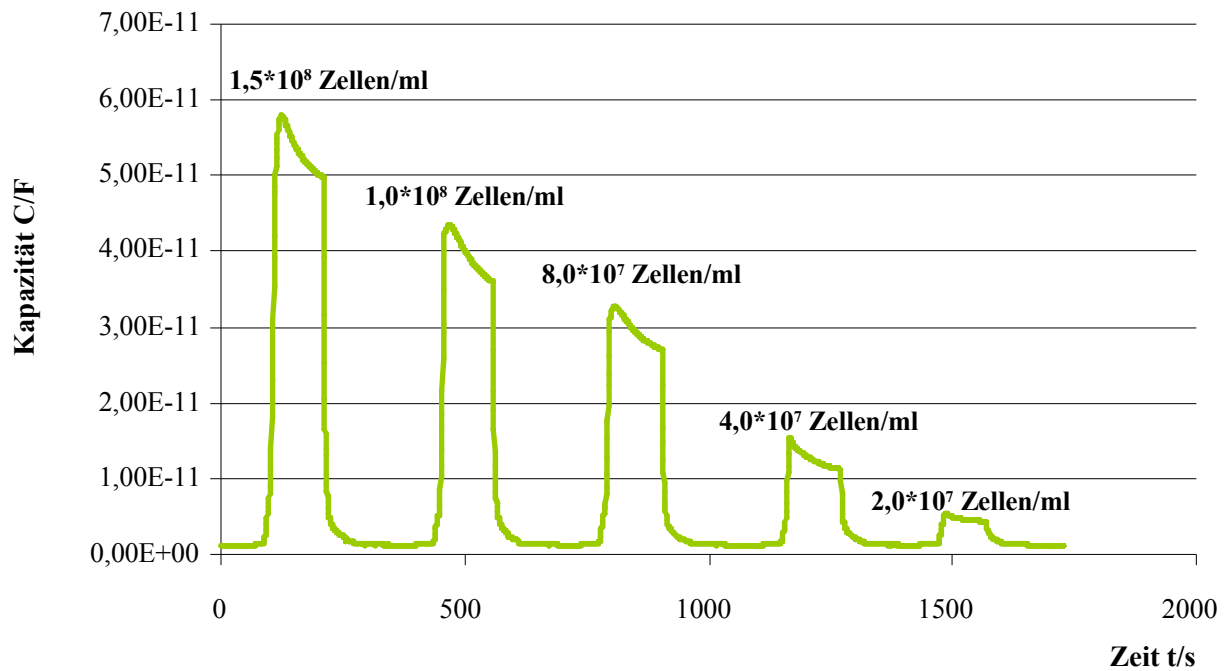


Abb. 125: Messkurve der Kapazitätsmessung mit einem Blutgruppe A₁-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Die A₂-Blutprobelösungen hatten Konzentrationen von $1,5 \cdot 10^8$ bis $2,0 \cdot 10^7$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

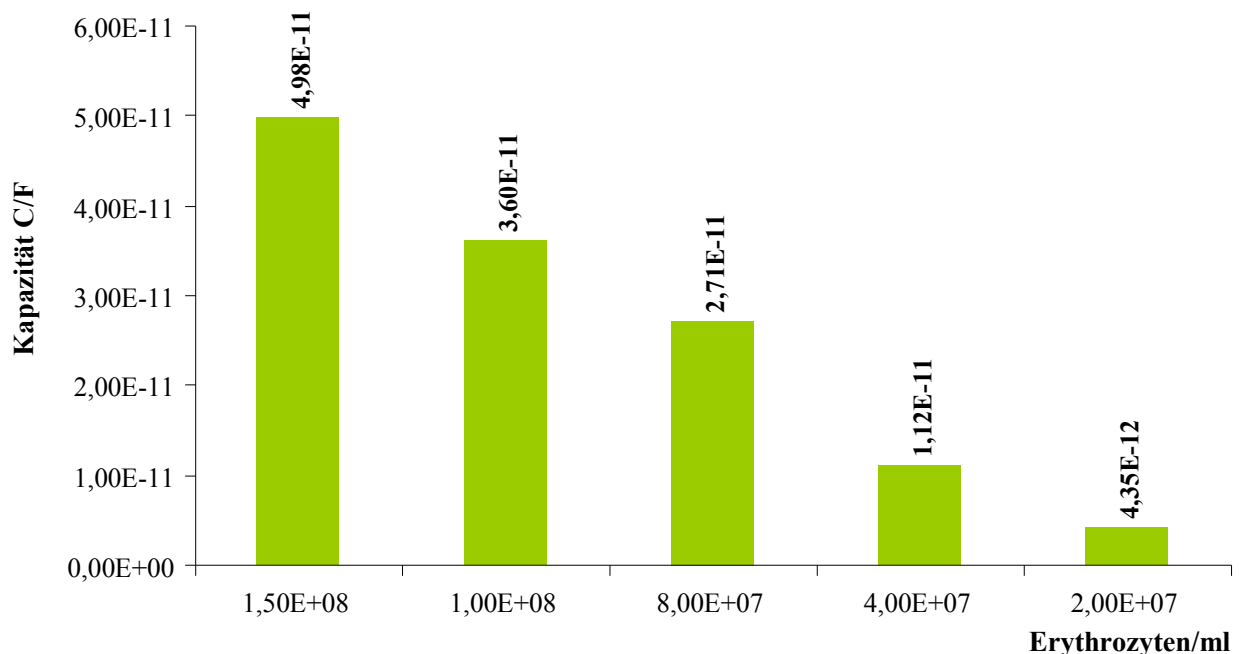


Abb. 126: Messwerte der Kapazitätsmessung mit einem A₁-Sensor und Probelösungen der Blutgruppe A₂ mit unterschiedlichen Erythrozytenkonzentrationen unter der Verwendung eines 10 µm-IDK, einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Die Messlösungen wurden frisch hergestellt und sofort gemessen.

Dabei beträgt die Kapazität bei einer Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml 49,8 pF und fällt mit abnehmender Anzahl von Erythrozyten in Lösung auf einen Wert von 4,4 pF ab. Bei einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml beträgt die Kapazität 36 pF, bei $8,0 \cdot 10^7$ Erythrozyten/ml 27,1 pF, bei $4,0 \cdot 10^7$ Erythrozyten/ml 11,2 pF und bei der niedrigsten Konzentration von $2,0 \cdot 10^7$ Erythrozyten/ml beträgt diese nur mehr 4,4 pF. In Abb. 126 sind die Kapazitätswerte bei den jeweiligen Konzentrationen dargestellt.

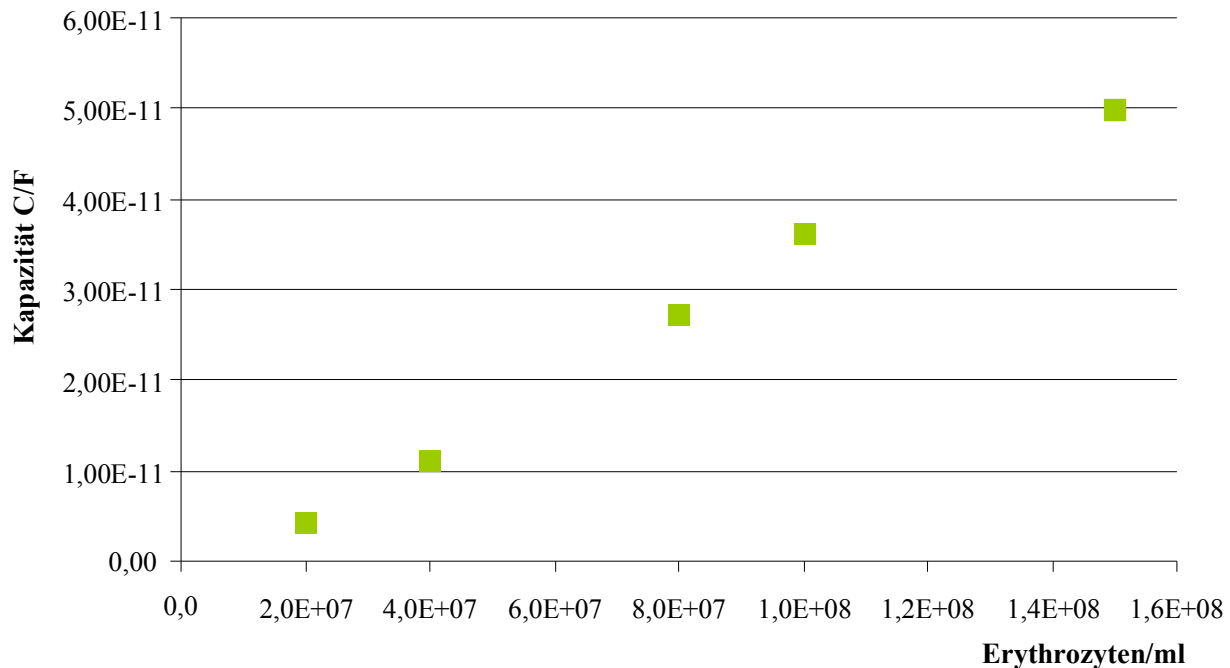


Abb. 127: Sensorkennlinie der Kapazität des A₁-Sensor (10 µm-IDK mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht) mit A₂-Probelösungen bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V.

Auch bei dieser Messserie konnte ein linearer Zusammenhang zwischen der Kapazität und der Konzentration an Zellen in der Probelösung ermittelt werden. Werden durch die Punkte, welche in Abb. 127 abgebildet sind, eine lineare Regressionsgerade durch, so wird folgende Geradengleichung (mit einem R-Quadrat von $R^2=0,9922$) beschrieben:

$$y = 4,0 \cdot 10^{19} \cdot x - 2,0 \cdot 10^{-12} \quad \text{Gleichung 40}$$

Werden nun die Widerstandswerte der Messserie betrachtet, zeigt sich auch hier, dass die Widerstandswerte mit zunehmender Konzentration an Zellen abnehmen. Dabei fällt der Widerstand von einem Ausgangswert von 2,7 MΩ auf bis zu einige Tausend Ohm ab. Der Abfall

erfolgt dabei rasch, während der Anstieg des Widerstandes auf den Ausgangswert bis zu einigen Minuten dauern kann, wie in Abb. 128 zu erkennen ist.

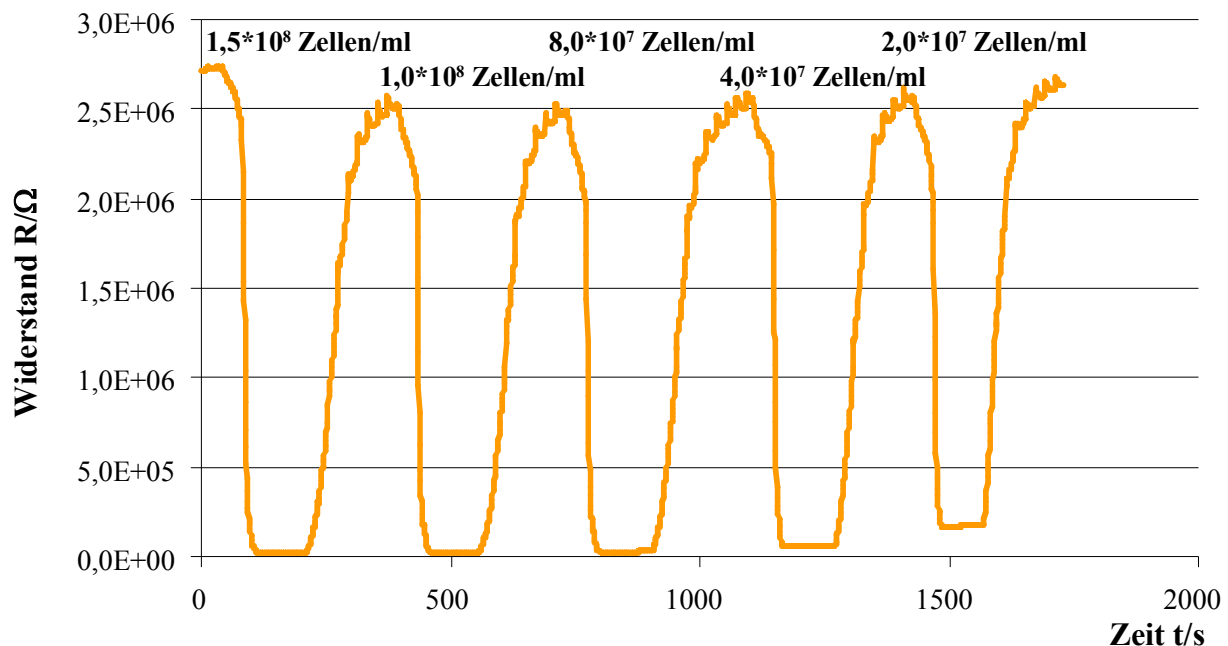


Abb. 128: Messkurve der Widerstandsmessung mit einem Blutgruppe A₁-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidonschicht) bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Die A₂-Blutprobelösungen hatten Konzentrationen von $1,5 \cdot 10^8$ bis $2,0 \cdot 10^7$ Erythrozyten/ml und wurden mit Deionat als Lösungsmittel hergestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Bei einer hohen Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml beträgt der Widerstand 19953 Ω und steigt bei $1,0 \cdot 10^7$ Erythrozyten/ml auf 24528 Ω an. Bei $8,0 \cdot 10^7$ Zellen/ml wird ein Widerstand von 29988 Ω gemessen, bei $4,0 \cdot 10^7$ Zellen/ml steigt der Widerstand auf 60798 Ω an und bei der niedrigsten Konzentration von $2,0 \cdot 10^7$ Zellen/ml beträgt der Widerstand 181833 Ω. Dieses ist in der folgenden Graphik (Abb. 129) dargestellt.

Werden die Widerstandswerte gegen die Konzentration aufgetragen, so wird die Graphik in Abb. 130 erhalten. Darauf ist gut zu erkennen, dass der Widerstand keinen linearen Zusammenhang zur der Konzentration besitzt. Der Anstieg bei sehr verdünnten Probelösungen ist wesentlich stärker als bei höheren Konzentrationen.

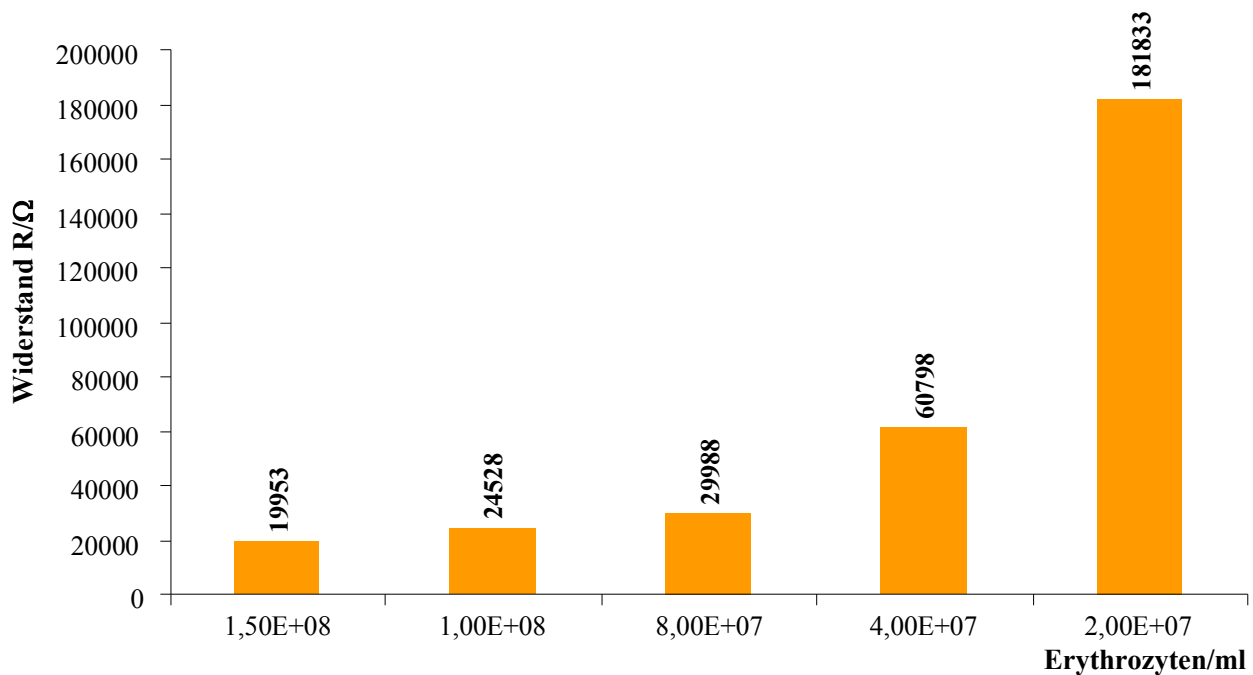


Abb. 129: Messwerte der Widerstandsmessung mit einem A₁-Sensor und Probelösungen der Blutgruppe A₂ mit unterschiedlichen Erythrozytenkonzentrationen unter der Verwendung eines 10 µm-IDK, einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Die Messlösungen wurden frisch hergestellt und sofort gemessen.

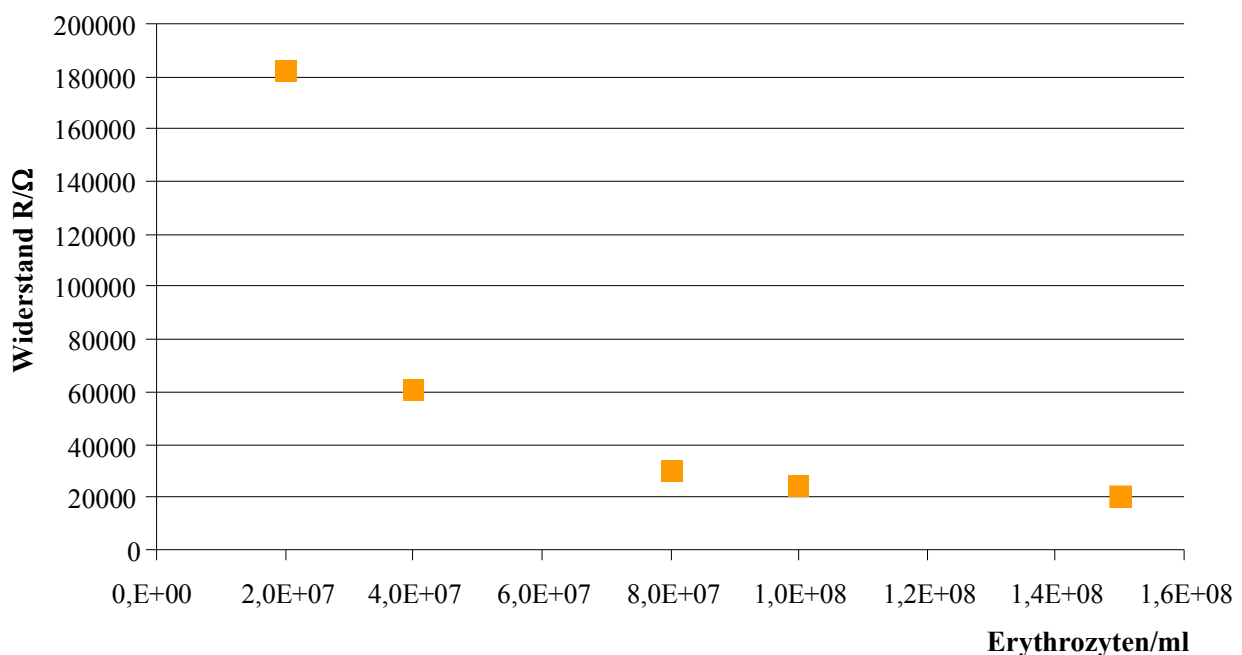


Abb. 130: Sensorkennlinie des Widerstands des A₁-Sensors (10 µm-IDK mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht) mit A₂-Probelösungen bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V.

4.6.2. Konzentrationsabhängigkeit der QCM-Messungen

Zur Bestimmung der Konzentrationsabhängigkeit des QCM-Sensors wurden Probelösungen der Blutgruppe A₁ im Konzentrationsbereich von $2,0 \cdot 10^7$ bis $3,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml gemessen. Dazu wurde ein mit einem A₁-geprägten Polyvinylpyrrolidon beschichteter Quarz verwendet. Die Lösungen wurden kurz (< 5 Minuten) vor dem Vermessen durch Verdünnung des Erythrozytenkonzentrates mit Deionat hergestellt. Die Pumpgeschwindigkeit beim Befüllen und Entleeren betrug 0,413 ml/min. Der Sensor wurde vor der Verwendung für 3 Stunden mit Deionat konditioniert.

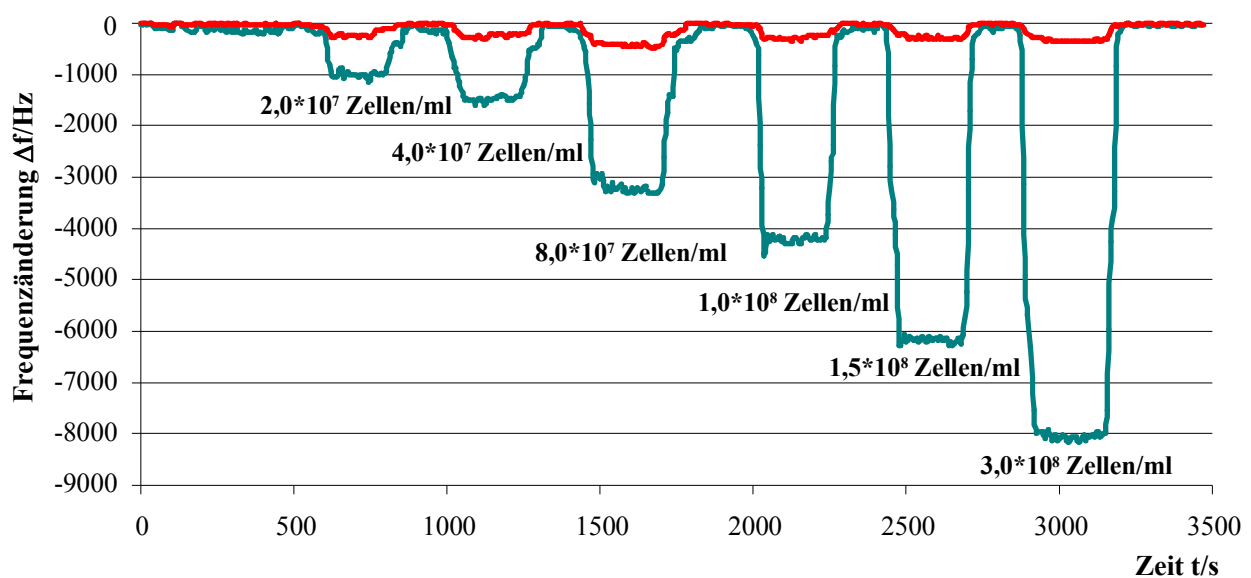


Abb. 131: Messkurve eines A₁-geprägten QCM-Sensors mit Probelösungen der Templatblutgruppe A₁ bei unterschiedlichen Erythrozytenkonzentrationen ($2,0 \cdot 10^7$ bis $3,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml). Die Messlösungen wurden frisch hergestellt und sofort gemessen.

Wie in der Messkurve (Abb. 131) zu erkennen ist, nimmt die Frequenzerniedrigung mit zunehmender Anzahl an Erythrozyten zu. Die geringste Konzentration von $2,0 \cdot 10^7$ Erythrozyten/ml erreicht dabei eine Änderung der Messelektrode von 848,4 Hz (Referenzelektrode: 251 Hz). Wird eine Messlösung mit $4,0 \cdot 10^7$ Erythrozyten/ml in die Messzelle gepumpt, nimmt die Frequenz um 1485,1 Hz (Referenzelektrode: 235 Hz) ab, bei $8,0 \cdot 10^7$ Erythrozyten/ml um 3298,3 Hz (Referenzelektrode: 391 Hz), bei $1,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml um 4170,1 Hz (Referenzelektrode: 331 Hz) und bei $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml um 6176,5 Hz (Referenzelektrode: 328 Hz). Zum Abschluss wurde noch eine Lösung mit einer Konzentration von $3,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml gemessen, welche eine Frequenzerniedrigung von 8048,9 Hz (Referenzelektrode: 336 Hz) gezeigt hat. Werden die

erhaltenen Frequenzwerte der Messelektrode gegen die Konzentration aufgetragen, ist ersichtlich, dass ein linearer Zusammenhang existiert. Die Probelösung mit der höchsten Konzentration liegt dabei nicht mehr auf einer entsprechenden Regressionsgerade (Abb. 132) und wurde daher herausgenommen. Es konnte folgende Geradengleichung (mit einem R-Quadrat von $R^2=0,9986$) errechnet werden:

$$y = 4,0 \cdot 10^{-5} \cdot x - 59,821$$

Gleichung 41

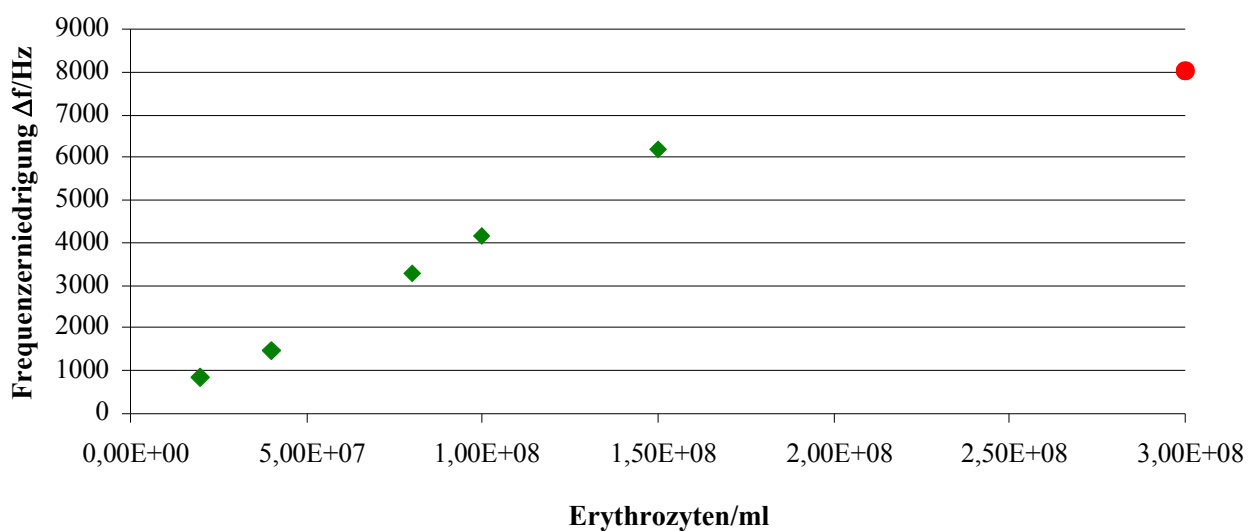


Abb. 132: Auftragung der gemessenen Frequenzerniedrigung zur Anzahl an Erythrozyten in der Probelösung. Die grün eingezeichneten Punkte wurden für die Berechnung der Regressionsgerade herangezogen.

4.6.3. Zusammenfassung der Konzentrationsabhängigkeit

Wird für die Messung ein 10 µm-Polyvinylpyrrolidin-IDK-Sensor herangezogen, welcher mit der Blutgruppe A₁ geprägt wurde, zeigt die Kapazität in einem Konzentrationsbereich von $2,0 \cdot 10^7$ bis $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml einen linearen Zusammenhang zur Konzentration auf. Im Gegensatz dazu zeigt die Widerstandsmessung einen exponentiellen Zusammenhang auf, wobei mit der Konzentrationsabnahme die gemessenen Widerstandswerte ansteigen. Die Form der Kapazitäts- und der Widerstandskurven ist sowohl bei der Templatblutgruppe A₁, als auch bei der Blutgruppe A₂ gleich. Werden die Messwerte der Templatblutgruppe A₁ mit jenen der Testblutgruppe A₂ verglichen zeigt die Blutgruppe A₁ bei allen Konzentrationen die höhere Kapazität und den geringeren Widerstand, somit sind die Blutgruppen in dem gemessenen Konzentrationsbereich auch voneinander differenzierbar.

Bei der QCM-Messung wurde im gleichen Konzentrationsbereich von $2,0 \cdot 10^7$ bis $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml ebenfalls ein linearer Zusammenhang zwischen der Frequenzerniedrigung der Messelektrode und der Konzentration ermittelt. Bei der Referenzelektrode konnte eine vernachlässigbar kleine konzentrationsunabhängige Frequenzerniedrigung beobachtet werden. Bei der Messung einer höheren Konzentration von $3,0 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml wurde kein linearer Zusammenhang mehr gemessen.

Der Arbeitsbereich des IDK- und des QCM-Sensors liegt somit im Konzentrationsbereich von $2,0 \cdot 10^7$ bis $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. In diesem Bereich wurden auch die Messungen für die Blutgruppendifferenzierung durchgeführt. Dabei wurde der obere Konzentrationsbereich gewählt, damit die Messsignale möglichst groß sind und eine geringe Anfälligkeit auf Störungen besteht.

4.7. Stabilitätstest des Sensors

4.7.1. Stabilitätsabhängigkeit von der Sensorschicht

Wie bereits bei der Einleitung erwähnt, sollen Sensoren eine hohe Stabilität und eine hohe Reversibilität der Sensorschicht besitzen, damit eine mehrmalige Verwendung ermöglicht wird. Wichtig ist hierbei, dass die Polymerschicht, welche die Extraktion des Analyten aus dem Lösungsmittel ausführt, intakt bleibt. Das bedeutet, dass die bei der Prägung entstandenen Wechselwirkungsstellen erhalten bleiben müssen und auch bei Waschprozessen beim Herauslösen des Analyten oder durch das Lösungsmittel nicht beschädigt werden dürfen. Daher wurde die Stabilität der Polyvinylpyrrolidonschicht der IDK-Sensoren getestet.

Für den Stabilitätstest der Sensorschicht und die Feststellung der Haltbarkeit dieser wurde ein 10 µm-IDK, welcher mit einer Polyvinylpyrrolidon-Schicht (mit 5 w% N,N'-Methyl-bisacrylamid als Quervernetzer) beschichtet war, getestet. Als Testsensor diente ein A₂-geprägter Sensor. Für den Test wurden durch die Messzelle für einen Zeitraum von 14 Tagen ständig Deionat, physiologische Kochsalzlösung (0,9 w% NaCl) und Blutprobenlösungen gepumpt und so ein ständiger Betrieb des Sensors simuliert. Die Pumpe wurde dabei mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min betrieben. Nach 10, 72, 168 und 302 Stunden wurden Messserien von allen 6 Blutgruppen aufgenommen und so auf eine noch vorhandene Differenzierungsmöglichkeit überprüft. Für die jeweiligen Messungen wurden Probelösungen der 6 Blutgruppen mit einer Konzentration von $1,0 \cdot 10^8$ Zellen/ml in Deionat herangezogen. Die Lösungen wurden frisch hergestellt und innerhalb von 5 Minuten gemessen, um so das Platzen oder Verklumpen der Blutzellen zu vermeiden. Dadurch konnte das Alter der Blutzellen konstant gehalten werden und das Sensorsignal ist nur mehr vom Alter der Sensorschicht abhängig.

In den Abb. 133 bis Abb. 136 sind die Kapazitätsmesskurven der einzelnen Messserien zu sehen. Die Messungen wurden in einer parallelen Schaltung durchgeführt. Die Frequenz betrug 10 kHz und es wurde eine Spannung von 1 V an den IDK-Sensor angelegt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min. Beim Einpumpen wurden die Probelösungen in umgekehrter Pumprichtung angesaugt, damit die Blutzellen durch die Peristaltikpumpe nicht zerstört oder verformt werden.

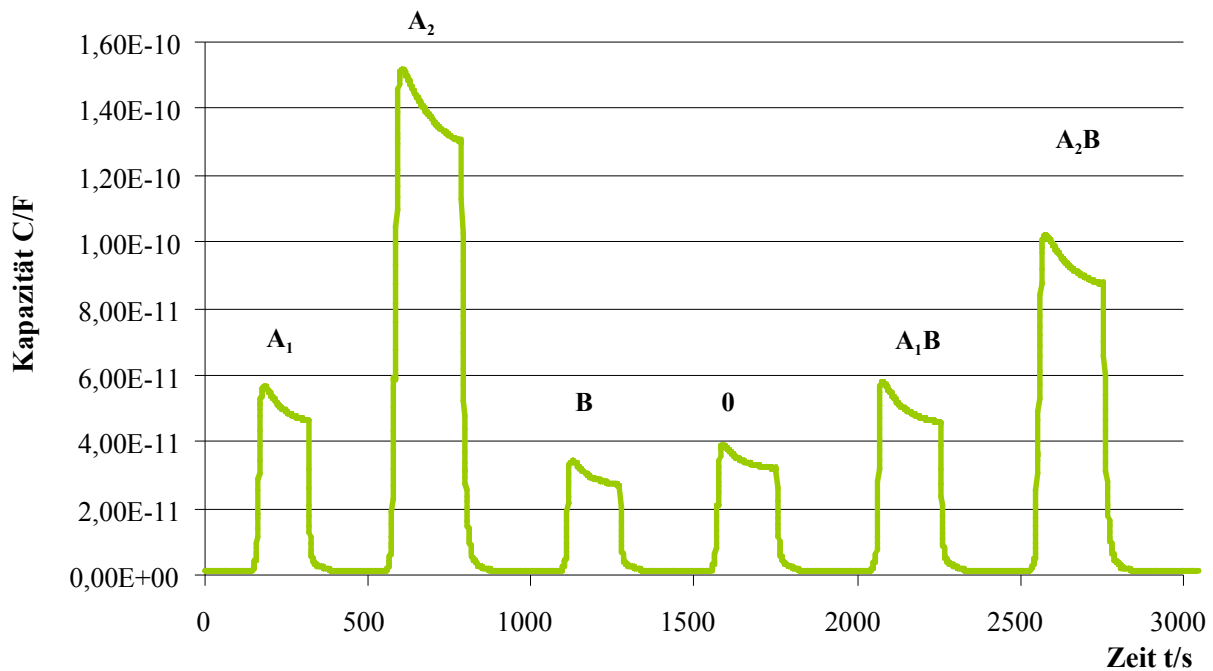


Abb. 133: Messkurve für den Sensorstabilitätstest mit einem A₂-geprägten 10 µm-IDK-Sensor mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht. Das Alter der Schicht betrug bei dieser Messung 10 Stunden und es wurde mit einer Frequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V gemessen. Die Blutproben hatten eine Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden frisch vor der Messung (< 5 min) hergestellt.

Bei der Messung nach 10 Stunden konnte eine gute Differenzierung der Templatblutgruppe A₂ zu den anderen Blutgruppen beobachtet werden, wie in Abb. 133 zu sehen ist. Die Kapazität für die Blutgruppe A₂ beträgt hierbei 130 pF und für die Blutgruppe A₂B 87 pF. Für die Blutgruppen A₁, B, 0 und A₁B liegen die Kapazitätswerte zwischen 27 pF und 47 pF, wobei die Blutgruppe A₁ eine Kapazität von 46 pF, die Blutgruppe B von 27 pF, die Blutgruppe 0 von 32 pF und die Blutgruppe A₁B von 46 pF aufweist.

Nach 72 Stunden wurde die nächste Messserie durchgeführt, auch hierbei ist die Blutgruppe A₂ eindeutig von den anderen Blutgruppen zu unterscheiden, wie in Abb. 134 zu sehen ist. Die Kapazität für die Templatblutgruppe A₂ beträgt, wie bei der Messung nach 10 Stunden, 130 pF und die der Blutgruppe A₂B liegt bei 90 pF. Die Blutgruppe A₁ weist einen Kapazitätswert von 44 pF und die Blutgruppe A₁B einen Wert von 47 pF auf. Die Kapazitätswerte der Blutgruppen B und 0 betragen 24 beziehungsweise 33 pF. Damit liegen die Kapazitäten bei der Messserie nach 72 Stunden annähernd bei den gleichen Werten wie bei der Messung nach 10 Stunden. Der Sensor ist in dieser Zeitspanne stabil und ermöglicht eine reproduzierbare und gleichbleibende Messung.

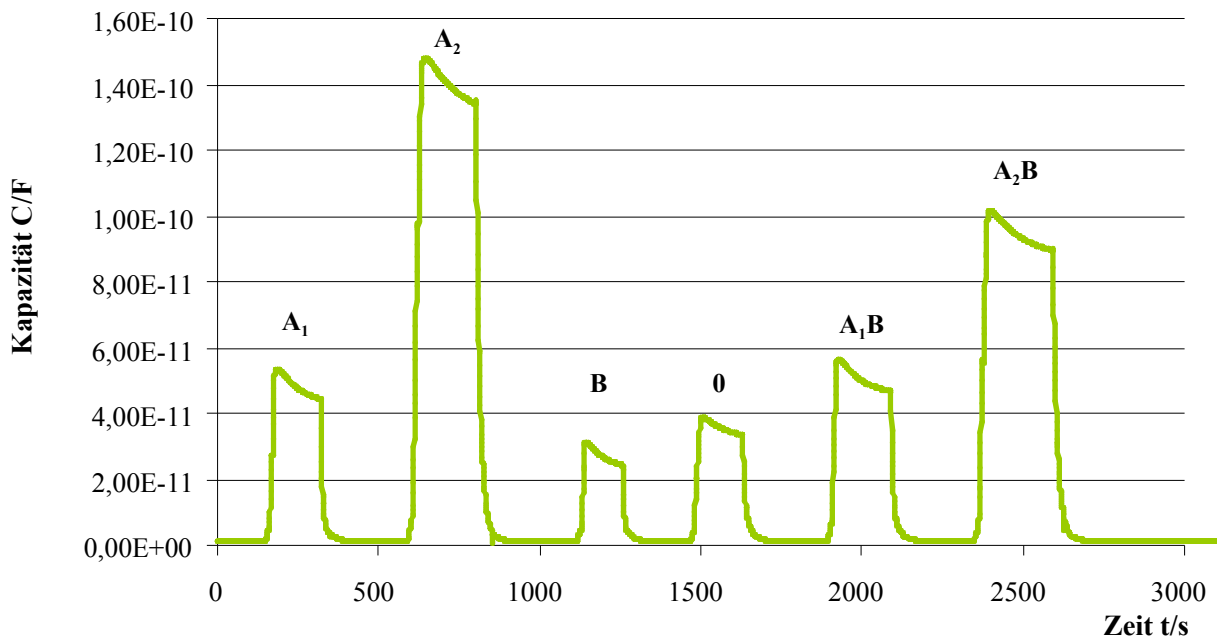


Abb. 134: Messkurve für den Sensorstabilitätstest mit einem A₂-geprägten 10 µm-IDK-Sensor mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht. Das Alter der Schicht betrug bei dieser Messung 72 Stunden und es wurde mit einer Frequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V gemessen. Die Blutproben hatten eine Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden frisch vor der Messung (< 5 min) hergestellt.

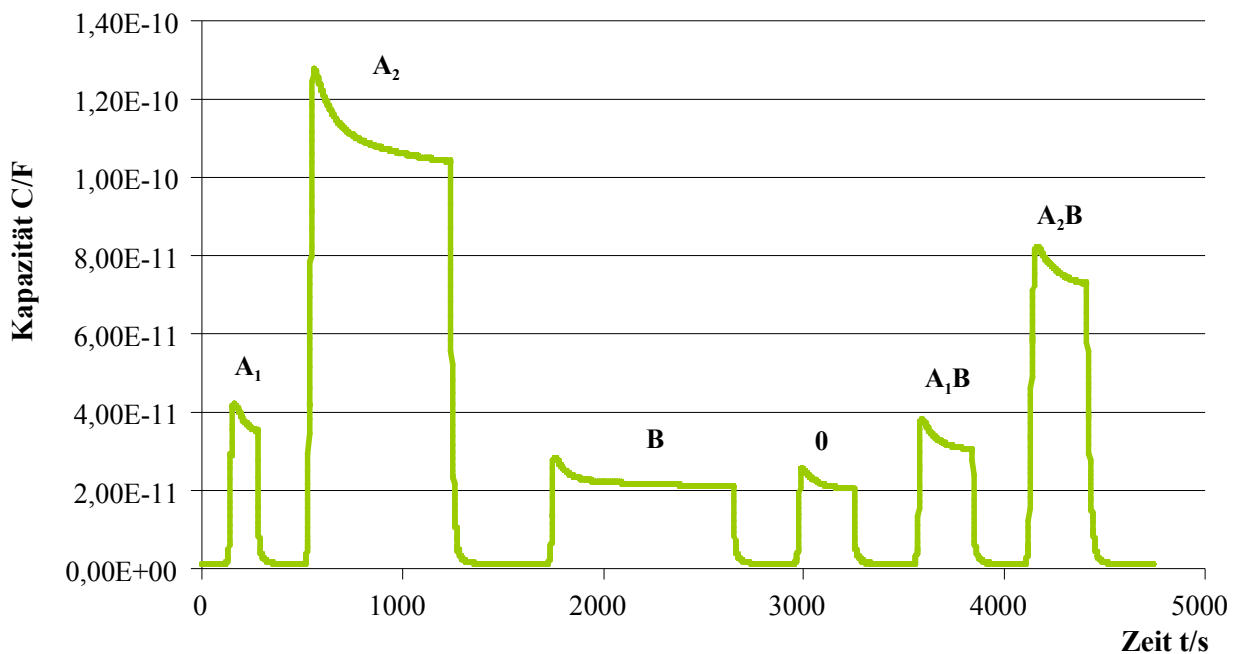


Abb. 135: Messkurve für den Sensorstabilitätstest mit einem A₂-geprägten 10 µm-IDK-Sensor mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht. Das Alter der Schicht betrug bei dieser Messung 168 Stunden und es wurde mit einer Frequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V gemessen. Die Blutproben hatten eine Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden frisch vor der Messung (< 5 min) hergestellt.

Bei der Messung nach 168 Stunden zeigt sich, dass der Kapazitätswert für die Templatblutgruppe auf 100 pF abfällt, was einem um 30 pF geringeren Signal als bei der Messung mit dem 72 Stunden alten Sensor entspricht. Auch die anderen Blutgruppen zeigen geringere Kapazitäten auf: Blutgruppe A₂B 73 pF, Blutgruppe A₁ 35 pF, Blutgruppe A₁B 30 pF, Blutgruppe B 21 pF und die Blutgruppe 0 20 pF. Die Templatblutgruppe A₂ ist somit noch immer von den anderen Blutgruppen, aufgrund des höchsten Kapazitätswertes zu unterscheiden. Die Messkurve ist in Abb. 135 zu sehen.

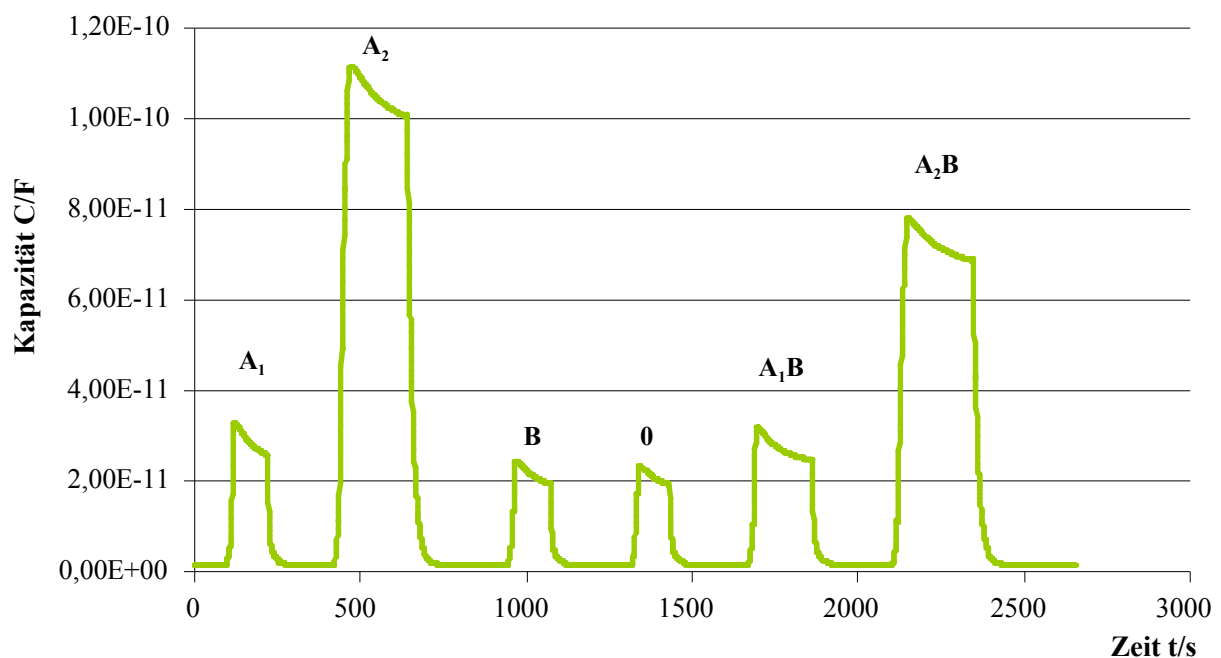


Abb. 136: Messkurve für den Sensorstabilitätstest mit einem A₂-geprägten 10 µm-IDK-Sensor mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht. Das Alter der Schicht betrug bei dieser Messung 302 Stunden und es wurde mit einer Frequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V gemessen. Die Blutproben hatten eine Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden frisch vor der Messung (< 5 min) hergestellt.

Wird nun der Sensor 302 Stunden nach der Inbetriebnahme mit den 6 verschiedenen Blutgruppen getestet, zeigt sich, dass die meisten Kapazitätswerte noch weiter abfallen. Die Probelösung der Templatblutgruppe A₂ zeigt dieselbe Kapazität auf, wie bei der Messung nach 168 Stunden. Die Blutgruppe A₂ besitzt eine Kapazität von 100 pF. Die Blutgruppe A₂B zeigt einen Kapazitätswert von 69 pF und liegt somit um 4 pF unter dem Wert der Messung nach 168 Stunden beziehungsweise um 21 pF unter dem Messwert nach 72 Stunden. Die Blutgruppe A₁ liefert einen Wert von 28 pF und die Blutgruppe A₁B einen Messwert von 25 pF. Die Blutgruppen B und 0 zeigen beide eine Kapazität von 20 pF, wobei die Blutgruppe 0 somit den

gleichen Wert wie bei der Messung nach 168 Stunden liefert, somit zeigt auch nach 302 Stunden die Templatblutgruppe das höchste Signal.

In der folgenden Tabelle 23 sind die Messwerte der einzelnen Messungen zusammen gefasst. Wie daraus zu erkennen ist, sind die Messwerte der ersten beiden Messungen (10 Stunden und 72 Stunden) sehr ähnlich und zeigen kaum größere Veränderungen auf. Erst nach einem Alter von rund 168 Stunden zeigt der Sensor eine Abnahme der Kapazitätsmesswerte. Jedoch ist auch nach einer Betriebsdauer von 302 Stunden der Sensor in der Lage die Blutgruppen voneinander zu unterscheiden und die Templatblutgruppe besitzt bei allen Messungen einen signifikant größeren Kapazitätswert, also ist eine Differenzierung der Blutgruppen auch mit einem Sensor mit einem Alter von 302 Stunden möglich.

Tabelle 23: Zusammenfassung der Kapazitätswerte bei der Messung mit einem A₂-geprägten IDK-Sensor nach 10, 72, 168 und 302 Stunden Betriebsdauer. Die Messfrequenz betrug 10 kHz und die Messspannung 1 V. Die Probelösungen besaßen eine Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml.

Blutgruppe	Sensoralter			
	10h	72h	168h	302h
	Kapazität C			
	[pF]	[pF]	[pF]	[pF]
A ₁	47	44	35	28
A ₂	130	130	100	100
B	27	24	21	20
0	32	33	20	20
A ₁ B	46	47	30	25
A ₂ B	87	90	73	69

In den Abb. 137 bis Abb. 140 sind die Widerstandsmessungen nach 10, 72, 168 und 302 Stunden abgebildet. In den Graphiken sind neben den Messkurven auch die jeweiligen minimalen Widerstandswerte bei der gefüllten Messzelle als Balkendiagramm dargestellt. Bei der ersten Messung nach 10 Stunden wurde für die Templatblutgruppe A₂ ein Widerstand von 11132 Ω gemessen, welcher den niedrigsten Wert in der Messung darstellt. Gefolgt wird dieser von der Probelösung der Blutgruppe A₂B mit einem Widerstand von 14438 Ω. Wie in der Abb. 137 zu sehen ist, folgen die anderen Blutgruppen mit einem wesentlich höheren Messsignal: Die Blutgruppe A₁ weist einen Wert von 22156 Ω auf, die Blutgruppe A₁B von 22572 Ω, die

Blutgruppe 0 von 28911 Ω und die Blutgruppe B von 31767 Ω . Beim Verlauf der Messkurve ist zu erkennen, dass der Widerstand rasch abfällt und für den Anstieg auf den Anfangswert länger benötigt, wie schon in den vorangegangenen Messungen beobachtet wurde. Der Ausgangswert konnte durch den entsprechenden Waschschrift wieder erreicht werden.

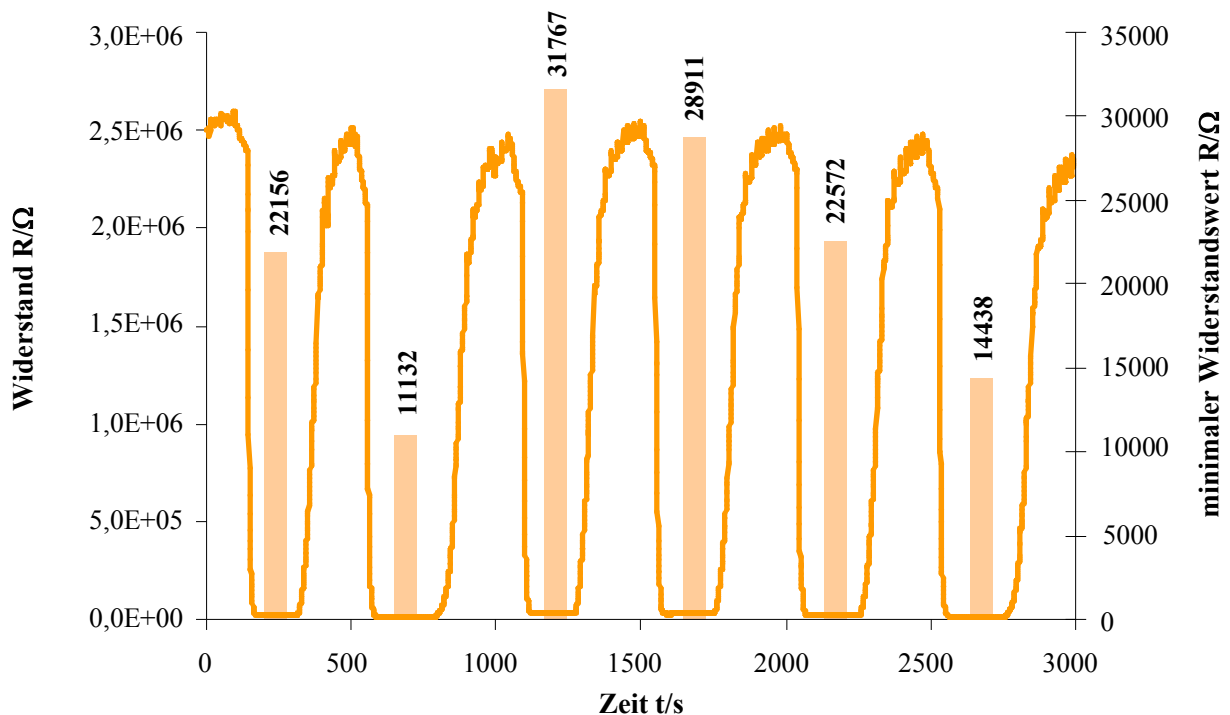


Abb. 137: Messkurve und Werte für den minimalen Widerstand bei gefüllter Messzelle für den Sensorstabilitätstest mit einem A₂-geprägten 10 μ m-IDK-Sensor mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht. Das Alter der Schicht betrug bei dieser Messung 10 Stunden und es wurde mit einer Frequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V gemessen. Die Blutproben hatten eine Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden frisch vor der Messung (< 5 min) hergestellt.

Wird der Sensor für nach 72 Stunden Betrieb mit den sechs Probelösungen getestet, ist zu erkennen, dass die Kurvenverläufe und die Widerstandswerte bei gefüllter Messzelle ähnlich der oben gezeigten Kurve nach 10 Stunden sind (siehe Abb. 138). Beim Befüllen der Messzelle sinkt der Widerstand rasch ab und stellt sich bei der Blutgruppe A₂ auf einem Wert von 10746 Ω ein. Die Blutgruppe A₂B zeigt einen Widerstand von 13965 Ω und stellt somit neben der Templatblutgruppe auch weiterhin den zweitniedrigsten Messwert. Die Blutgruppe A₁B und A₁ erreichen einen Wert von 21895 Ω beziehungsweise 22288 Ω , gefolgt von der Blutgruppe 0 mit 27380 Ω und der Blutgruppe B mit einem Widerstandswert von 33632 Ω . Damit sind die erreichten Widerstände bei einer mit der jeweiligen Probelösung der unterschiedlichen Blutgruppen gefüllten Messzelle annähernd gleich jenen Messwerten mit einem 10 Stunden alten

Sensor. Daraus folgt, dass die jeweilige Blutzelle nach 72 Stunden gleich gut von der Polymerschicht extrahiert und fixiert werden, wie nach 10 Stunden. Weiters kann aufgrund der ähnlichen erreichten Widerstände und der damit verbundenen gleichen Leitfähigkeit der Messlösungen, davon ausgegangen werden, dass die im Polymer vorhandenen Kanäle und Poren auch nach einer Arbeitsdauer von durchgehenden 72 Stunden zugänglich sind und eine gleichbleibende Bewegung der Ionen zwischen den Elektroden ermöglichen.

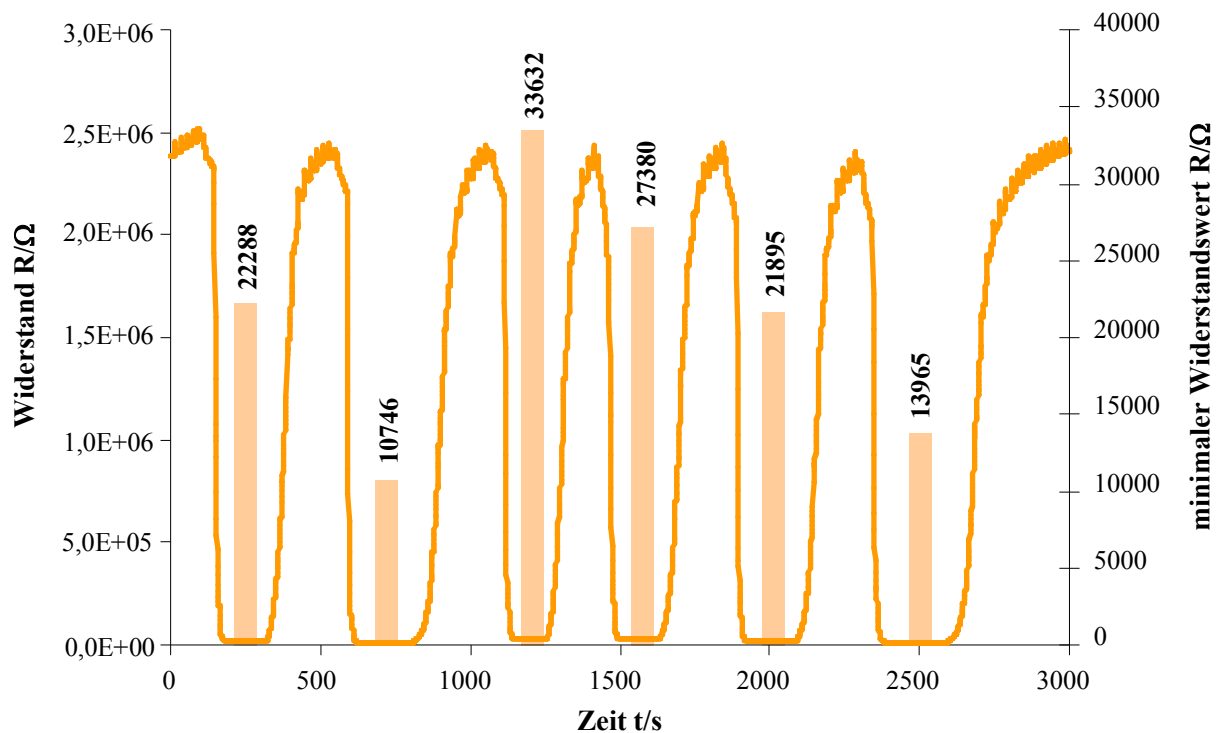


Abb. 138: Messkurve und Werte für den minimalen Widerstand bei gefüllter Messzelle für den Sensorstabilitätstest mit einem A₂-geprägten 10 µm-IDK-Sensor mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht. Das Alter der Schicht betrug bei dieser Messung 72 Stunden und es wurde mit einer Frequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V gemessen. Die Blutproben hatten eine Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden frisch vor der Messung (< 5 min) hergestellt.

Wird der Sensor für weitere 96 Stunden gespült und die Blutgruppen gemessen, zeigt sich, dass die Widerstandswerte für alle Probelösungen ansteigen. Der Widerstandswert für die Templatblutgruppe A₂ liegt bei 12357 Ω und somit um rund 1500 Ω höher als bei den vorangegangenen Messungen. Die Blutgruppe A₂B liefert einen Widerstand von 15458 Ω, die Blutgruppe A₁ von 25803 Ω, die Blutgruppe A₁B von 28549 Ω, die Blutgruppe B von 36455 Ω und die Blutgruppe 0 von 38523 Ω. Der Verlauf der Messkurven bleibt jedoch gleich, was einem raschen Abfall und ein längeres Ansteigen des Widerstandes entspricht, wie in Abb. 139 zu erkennen ist.

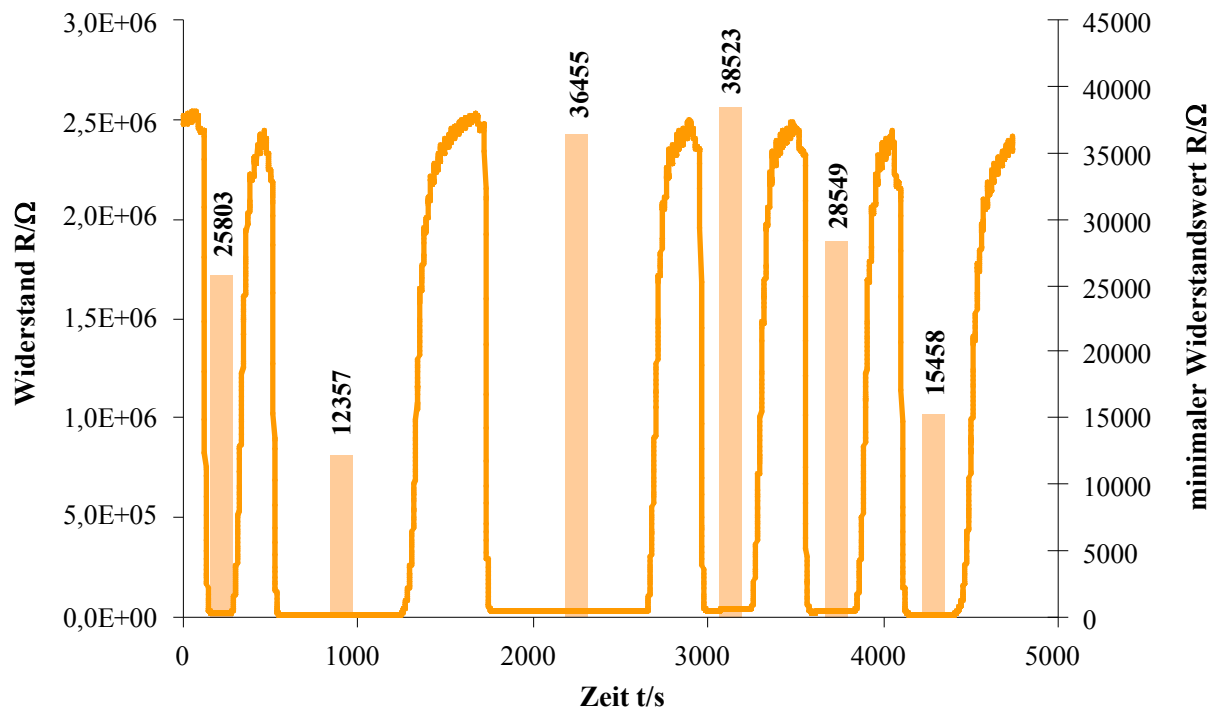


Abb. 139: Messkurve und Werte für den minimalen Widerstand bei gefüllter Messzelle für den Sensorstabilitätstest mit einem A₂-geprägten 10 µm-IDK-Sensor mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht. Das Alter der Schicht betrug bei dieser Messung 168 Stunden und es wurde mit einer Frequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V gemessen. Die Blutproben hatten eine Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden frisch vor der Messung (< 5 min) hergestellt.

Die letzte Messung erfolgte nach einer durchgehenden Betriebsdauer von 302 Stunden. Die Messkurve ist in Abb. 140 dargestellt. Die Templatblutgruppe A₂ zeigt einen Widerstand von 12436 Ω, gefolgt von der Blutgruppe A₂B mit einem Wert von 15964 Ω, welche in etwa den Werten der Messung nach 168 Stunden entsprechen. Die Blutgruppen A₁ und A₁B weisen einen Widerstand von 30675 Ω beziehungsweise 33228 Ω auf. Die Lösungen der Blutgruppe B liefern einen Messwert von 37607 Ω und die Blutgruppe 0 von 40010 Ω, welcher den höchsten erreichten Widerstand bei dieser Messserie darstellt.

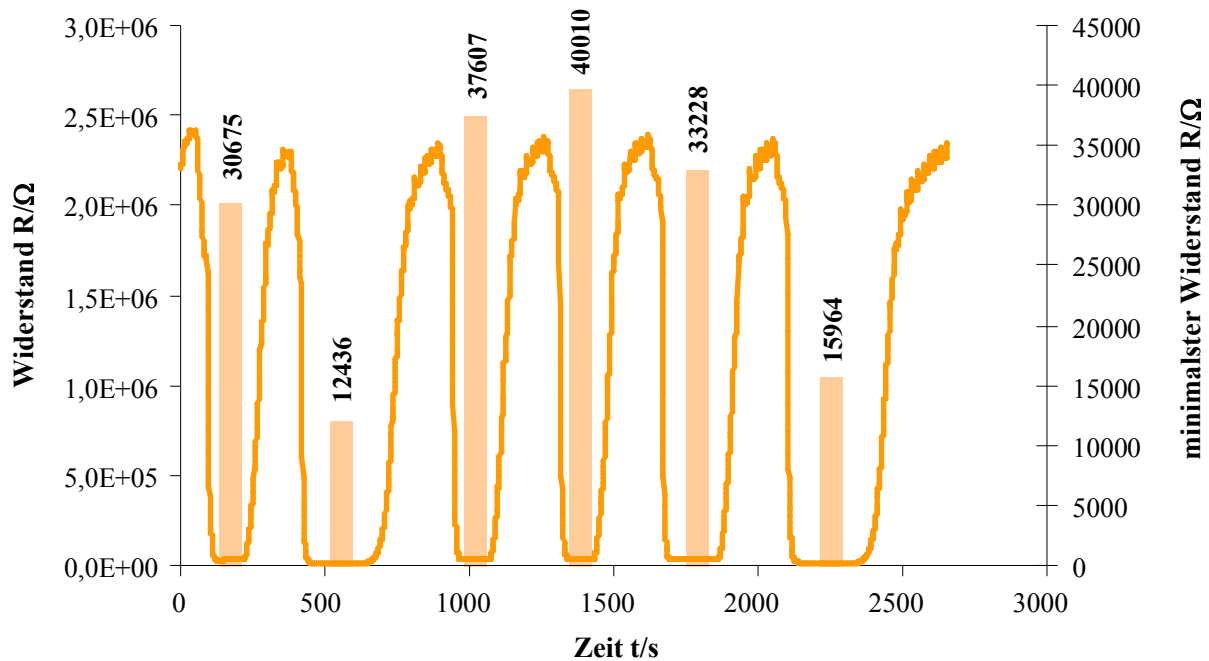


Abb. 140: Messkurve und Werte für den minimalen Widerstand bei gefüllter Messzelle für den Sensorstabilitätstest mit einem A₂-geprägten 10 µm-IDK-Sensor mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht. Das Alter der Schicht betrug bei dieser Messung 302 Stunden und es wurde mit einer Frequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V gemessen. Die Blutproben hatten eine Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden frisch vor der Messung (< 5 min) hergestellt.

Werden die einzelnen Messungen miteinander verglichen, so ist zu erkennen, dass die Templatblutgruppe A₂ bei allen vier Messungen die niedrigsten Widerstände aufweist. Damit ist der Sensor auch nach einer Betriebsdauer von über 300 Stunden für die jeweilige zum Prägen herangezogene Blutgruppe selektiv. Dabei bewegen sich die Messwerte zwischen 10746 Ω (nach 72 Stunden) und 12436 Ω (nach 302 Stunden). Die Blutgruppe A₂B, welche die zweitniedrigsten Werte in allen Messserien aufweist, zeigt einen Widerstand zwischen 13965 Ω (bei 72 Stunden) und 15965 Ω (nach 302 Stunden). Die Erythrozytenlösungen der Blutgruppe A₁ zeigen ihren niedrigsten Messwert nach 10 Stunden Betriebsdauer des Sensors und den höchsten Wert von 30675 Ω nach 302 Stunden. Bei der Blutgruppe A₁B steigt der Widerstand von 22572 Ω (bei 10 Stunden) auf 33229 Ω bei der letzten Messung, wobei nach 72 Stunden ein Abfall des Widerstandwertes auf 21895 Ω zu beobachten war. Die Messwerte der Blutgruppe B bewegen sich zwischen 31767 Ω, bei der ersten Messung, und 37607 Ω bei der letzten Messung, und zeigen ein kontinuierliches Ansteigen des Widerstandes. Beim Vermessen der Erythrozytenlösungen der Blutgruppe 0 ist nach 72 Stunden der niedrigste Widerstandswert von 27380 Ω zu beobachten, welcher nach 302 Stunden auf 40010 Ω ansteigt. Die einzelnen Widerstände sind in Tabelle 24 zusammengefasst.

Tabelle 24: Zusammenfassung der Widerstandswerte bei gefüllter Messzelle bei der Messung mit einem A₂-geprägten IDK-Sensor nach 10, 72, 168 und 302 Stunden Betriebsdauer. Die Messfrequenz betrug 10 kHz und die Messspannung 1 V. Die Probelösungen besaßen eine Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml.

Blutgruppe	Sensoralter			
	10h	72h	168h	302h
	Widerstand R			
	[Ω]	[Ω]	[Ω]	[Ω]
A ₁	22156	22288	25803	30675
A ₂	11132	10746	12357	12436
B	31767	33632	36455	37607
0	28911	27380	38533	40010
A ₁ B	22572	21895	28549	33229
A ₂ B	14438	13965	15458	15965

Es ist zu erkennen, dass der Sensor bei einer Verwendung von 72 Stunden für die meisten Blutgruppen die geringsten Messwerte liefert. Dieses kann darauf zurückgeführt werden, dass das Polymer noch aufquillt und somit die Kanäle in der Polymerschicht vergrößert werden beziehungsweise mehr Poren geöffnet werden. Somit können mehr Ionen zwischen den einzelnen Elektroden wandern, wodurch sich die Beweglichkeit der Ionen in den Kanälen des Polymers steigert. Im Gegensatz dazu, bleiben beim mehrmaligen Verwenden des Sensors Teile der geplatzten Erythrozytenmembranen zurück und verstopfen so die Poren. Ein weiterer Effekt ist, dass die Form der Kavität und damit verbunden die Fixierung der Blutzellen durch das Aufquellen verbessert wird. Durch zu langes Spülen beziehungsweise zu viele Ein- und Auslagerungsschritte der Erythrozyten, können jedoch auch Wechselwirkungsstellen beschädigt oder zerstört werden. Damit erfolgen die Extraktion und die damit verbundene Anreicherung der unterschiedlichen Blutzellen in die Polymerschicht unterschiedlich gut. Die Blutzellen welche in der Nähe oder sogar in den Kavitäten aufplatzen und somit die Na⁺- und Cl⁻-Ionen direkt an der Oberfläche der Polymerschicht freisetzen tragen zu einer größeren Erniedrigung des Widerstandes bei als jene Erythrozyten die in der Lösung platzen. Daher zeigt die Polymerschicht bei der Widerstandsmessung nach einer Verwendung von 72 Stunden die besten Eigenschaften auf.

4.7.2. Stabilitätsabhängigkeit von den Erythrozyten

Nicht nur die Sensorschicht spielt für die Verwendung der Sensoren eine wichtige Rolle, sondern auch die Verfügbarkeit und Stabilität des Analyten (Erythrozyten). So muss dieser über die Dauer der Messung stabil sein und seine Passformen für die Kavitäten beibehalten. Besonders die Oberflächenstrukturen der zu messenden Zellen dürfen sich nicht verändern, da ansonsten keine gute Einlagerung mehr erfolgt und der Analyt nicht ausreichend genug in die Polymerschicht extrahiert werden kann. Besonders bei Blutzellen können dabei beide Effekte auftreten und so eine Differenzierung der unterschiedlichen Blutgruppen beeinflussen oder gar vollständig verhindern.

Wie in Kapitel 2.6.3 beschrieben und in Abb. 15 dargestellt ist, besitzen die Erythrozyten eine bikonkave Form, welche von den osmotischen Bedingungen des umgebenden Mediums abhängig ist. Die Erythrozyten sind in isotonischen Lösungsmitteln oder Puffersystemen am formstabilsten und passen so am besten in die durch die Prägung entstandenen Kavitäten. Ein weiterer Effekt auf die Kapazitäts- und Widerstandsmessungen tritt durch das beim Platzen der Zellen und dem damit verbundenen Austritt von intrazellulärer Flüssigkeit in die Probelösung auf. Dieses kann die Ionenkonzentration der Lösung variieren und bewirkt so eine Veränderung der Kapazität und des Widerstandes. Daher ist es notwendig die roten Blutzellen entweder in einer dem Blutserum ähnlichen Lösung oder direkt nach dem Einbringen in Lösungen anderer osmotischen Bedingungen zu messen. Da jedoch isotonische Lösungen meist mit hohen Ionenkonzentrationen einhergehen und diese ebenfalls Einflüsse auf die Messung der Kapazität und des Widerstandes aufweisen, wurde die Stabilität der Blutzellen in Deionat getestet.

Bei der folgenden Messserie wurde die Stabilität der Zellen in Deionat bestimmt. Dabei wurden aus einem frisch aufbereiteten Erythrozytenkonzentrat Lösungen hergestellt, welche unterschiedlich lange vor der Messung unter nicht osmotischen Bedingungen inkubiert wurden. Die Probelösungen wurden mit einer Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml hergestellt und mit einem A₂-geprägter Sensor mit einer Polyvinylpyrrolidon-Schicht vermessen. Um auch die Querempfindlichkeit des Sensors in Abhängigkeit der Verweildauer der Zellen in Wasser zu bestimmen, wurden sowohl von der Templatblutgruppe A₂ als auch von der Blutgruppe A₁ Messlösungen hergestellt. Die Messfrequenz betrug 10 kHz und die Messspannung wurde mit 1 V eingestellt. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Für die erste Messung wurde die Probelösung sofort nach dem Mischen des Erythrozytenkonzentrates mit Deionat gemessen. Aufgrund der Dauer von etwa 2 Minuten bis die Messzelle vollständig gefüllt ist und die Zeit bis ein konstanter Messwert erreicht wurde, wurde eine Inkubationszeit in Wasser von unter 5 Minuten ermittelt. Bei der Messung (Abb. 141) konnte für die Kapazität der Templatblutgruppe A₂ ein maximaler Wert von 280 pF ermittelt werden, welcher nach 1,5 Minuten auf 257 pF abfällt, was einer Änderung von 8,2% des maximalen Wertes entspricht. Für die Blutgruppe A₁ wurde ein maximaler Wert von 36,4 pF gemessen und fällt nach 1,5 Minuten auf 27,3 pF beziehungsweise um 25,0% des Anfangsmesswerts ab. Für den Widerstand wurde bei der Templatblutgruppe A₂ ein Wert von 13275 Ω und für die Blutgruppe A₁ von 47785 Ω ermittelt.

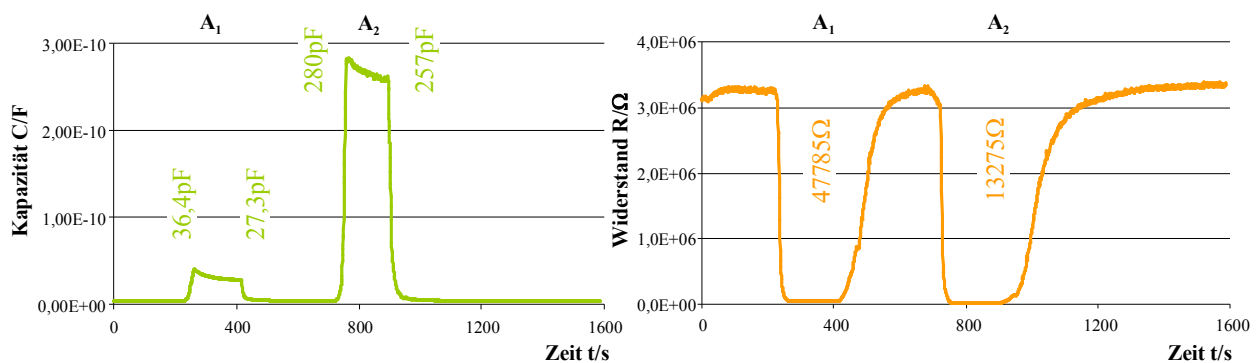


Abb. 141: Messkurve der Kapazitätsmessung (links) und der Widerstandsmessung (rechts) in Deionat mit einem 10 μ m-IDK-Sensor mit einer A₂-geprägten Polyvinylpyrrolidonschicht. Die Blutzellen wurden für 5 Minuten in dem nicht isotonischen Lösungsmittel inkubiert ($c = 1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml). Die Messung erfolgte bei einer Frequenz von 10 kHz und einer Spannung von 1 V.

Beträgt die Inkubationszeit der Blutzellen in Deionat 10 Minuten, so konnte gleich nach dem Befüllen der Messzelle für die Templatblutgruppe A₂ eine Kapazität von 241 pF bestimmt werden, welcher nach 1,5 Minuten auf 223 pF abfällt. Für die Blutgruppe A₁ wurde ein Wert von 35,1 pF (Abfall nach 1,5 Minuten auf 25,0 pF) ermittelt werden. Der Widerstand sinkt ab, wenn die Messzelle befüllt wird und lieferte bei der Blutgruppe A₂ einen Wert von 14219 Ω und bei der Blutgruppe A₁ einen Wert von 85796 Ω . Die Messkurve ist in Abb. 142 abgebildet.

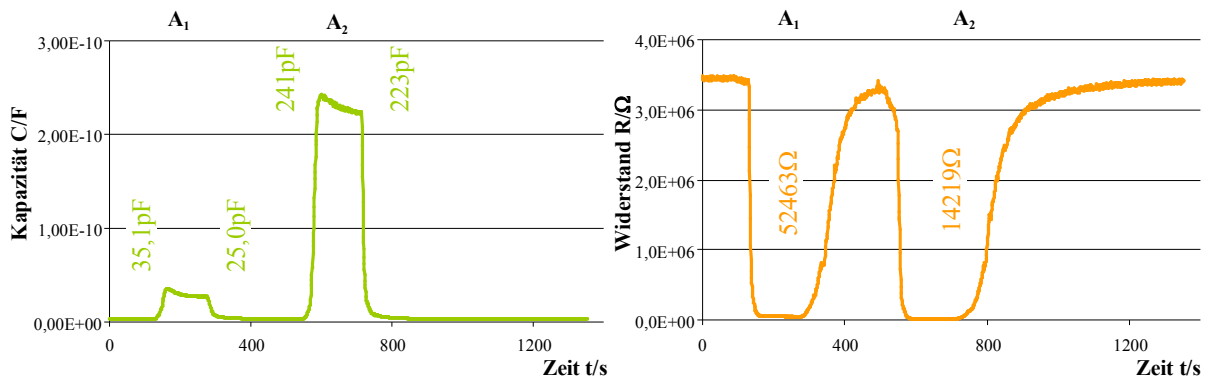


Abb. 142: Messkurve der Kapazitätsmessung (links) und der Widerstandsmessung (rechts) in Deionat mit einem 10 µm-IDK-Sensor mit einer A₂-geprägten Polyvinylpyrrolidonschicht. Die Blutzellen wurden für 10 Minuten in dem nicht isotonischen Lösungsmittel inkubiert ($c = 1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml). Die Messung erfolgte bei einer Frequenz von 10 kHz und einer Spannung von 1 V.

Nach 20 Minuten in Wasser zeigen die Blutzellen eine wesentlich geringere Kapazität als bei den voran gegangenen beiden Messungen, wie in Abb. 143 zu sehen ist. Die maximalen Kapazitäten betragen für die Templatblutgruppe A₂ 104 pF und für die Blutgruppe A₁ 28,4 pF und fallen nach einer Messdauer von 1,5 Minuten auf 82,4 pF (Blutgruppe A₂) und 21,3 pF (Blutgruppe A₁) ab. Der Widerstand sinkt, im Vergleich zu den vorherigen Messungen, weiter ab, was auf die geplatzten Blutzellen und die damit verbundene Erhöhung der Ionenkonzentration in Lösung zurückzuführen ist. Dabei zeigt die Blutgruppe A₂ einen Widerstand von 12976 Ω und die Blutgruppe A₁ einen Widerstand von 38278 Ω.

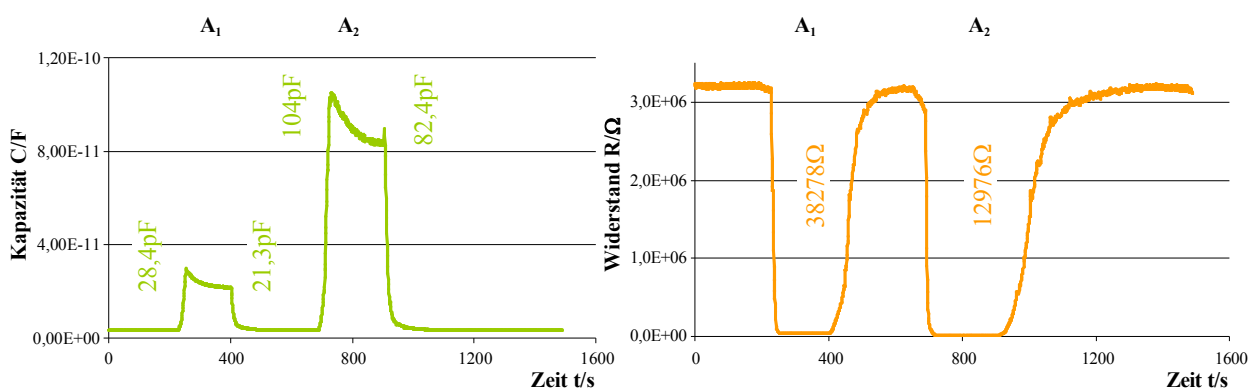


Abb. 143: Messkurve der Kapazitätsmessung (links) und der Widerstandsmessung (rechts) in Deionat mit einem 10 µm-IDK-Sensor mit einer A₂-geprägten Polyvinylpyrrolidonschicht. Die Blutzellen wurden für 20 Minuten in dem nicht isotonischen Lösungsmittel inkubiert ($c = 1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml). Die Messung erfolgte bei einer Frequenz von 10 kHz und einer Spannung von 1 V.

Die Kapazität fällt weiter ab, wenn die Blutzellen 30 Minuten in Deionat aufbewahrt werden. Die Templatblutgruppe A₂ zeigt dabei nur mehr einen maximalen Wert von 77,7 pF, während die Blutgruppe A₁ eine maximale Kapazität von 21,2 pF zeigt. Wie in der Messkurve (Abb. 144) zu erkennen ist, fällt die Kapazität der Probelösung der Blutgruppe A₂ von ihrem maximalen Wert nach 2,5 Minuten Verweildauer der Blutlösung in der Messzelle auf 55,0 pF ab. Dabei entspricht die Differenz von 22,7 pF knapp 30% des Maximalwertes. Bei der Blutgruppe A₁ fällt der Messwert auf 21,2 pF ab. Der Widerstand zeigt sowohl bei der Messung mit der Blutgruppe A₁ als auch mit der Blutgruppe A₂ die geringsten Messwerte auf. Dabei wurde mit der Blutgruppe A₁ ein Widerstand von 36858 Ω und mit der Blutgruppe A₂ ein Widerstand von 11036 Ω bestimmt.

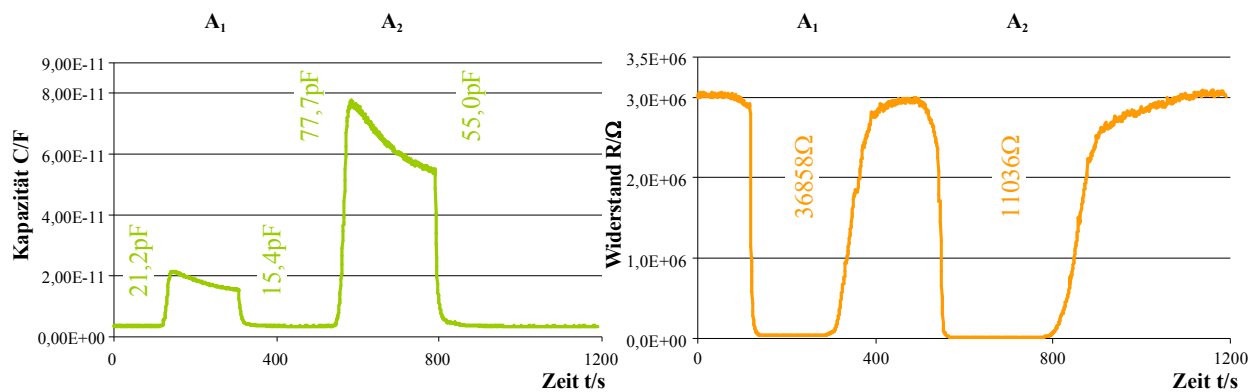


Abb. 144: Messkurve der Kapazitätsmessung (links) und der Widerstandsmessung (rechts) in Deionat mit einem 10 µm-IDK-Sensor mit einer A₂-geprägten Polyvinylpyrrolidonschicht. Die Blutzellen wurden für 30 Minuten in dem nicht isotonischen Lösungsmittel inkubiert ($c = 1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml). Die Messung erfolgte bei einer Frequenz von 10 kHz und einer Spannung von 1 V.

Weiters ist auch das Gesamalter der Blutproben für die Messungen zur Differenzierung der unterschiedlichen Blutgruppen relevant. Bei einer längeren Lagerung können die Blutzellen zusammenklumpen und bilden größere Cluster beziehungsweise Ketten von Erythrozyten. Dabei werden auch die Oberflächenstrukturen durch die veränderten Proteinstrukturen zerstört und führen so zu einer schlechten Einlagerung in die Kavitäten der sensitiven Polymerschicht des Sensors. Um solche Agglutinations-Prozesse der Erythrozyten und eine Denaturierung der Zellmembran zu verhindern, werden in der Transfusionsmedizin Blutkonserven mittels Zugabe von Puffersystemen und Komplexierungsmitteln stabilisiert. Unter anderem können hierbei Zitronensäure-Citrat-Glukose- oder EDTA-Lösungen zugesetzt werden. Dadurch werden unter anderem die vorhandenen Calcium-Ionen im Blutplasma der Vollblutproben komplexiert. Trotzdem wird mit zunehmendem Alter der Blutzellen deren Oberfläche verändert, was unter anderem an deren Aktivität beim Sauerstofftransport zu sehen ist.^{58,59,60,61} Wie in Kapitel 3.1 bereits erwähnt, wurden die verwendeten Vollblutproben mit EDTA versetzt und bei 4°C aufbewahrt, um eine gleichbleibende Oberflächenstruktur der Zellenmembran zu gewähren. In diesem Kapitel soll auf die Problematik der Stabilität der Erythrozyten, der Lagerung der Blutproben und dessen Einfluss auf die Messungen mittels 10 µm-IDK- und 10 MHz-QCM-Sensoren eingegangen werden.

Dazu wurden aus unterschiedlich alten Vollblutproben (< 2 Wochen bis 12 Monate) Erythrozytenkonzentrate gewonnen und für die Herstellung der jeweiligen Probelösung verwendet. Die Probelösungen wurden in Deionat hergestellt und innerhalb von 5 Minuten gemessen. Die Konzentration der Lösungen betrug $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Für die Messung wurde ein 10 µm-IDK mit einer A₁-geprägten Polyvinylpyrrolidonschicht herangezogen. Für die Prägung wurde ein Erythrozytenkonzentrat aus einer frischen (<2 Wochen) Vollblutprobe verwendet. Das Konzentrat hatte eine Erythrozytenkonzentration von $1,0 \cdot 10^7$ Zellen/µl. Die Messungen erfolgten bei einer Frequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Das Befüllen und Entleeren der Messzelle erfolgte mittels Peristaltikpumpe bei einer Geschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Bei der Messung mit Blutproben, welche unter 2 Wochen alt waren, konnte für die Kapazität der Templatblutgruppe ein Wert von 128 pF ermittelt werden. Wie in der folgenden Abb. 145 zu sehen ist, liegen die anderen Blutgruppen wesentlich unter der Blutgruppe A₁. Dabei erreicht die Blutgruppe A₂ einen Wert von 72,1 pF, die Blutgruppe B von 28,7 pF, die Blutgruppe 0 von 34,3 pF, die Blutgruppe A₁B von 86,4 pF und die Blutgruppe A₂B von 27,7 pF. Die Form der

Kurvenverläufe ist bei allen Blutgruppen gleich: Die Kapazität fällt von einem maximalen Wert asymptotisch auf den notierten Messwert ab. Die Messungen sind reversibel und nach dem Spülprozess mit Deionat konnte der Anfangswert von 1,85 pF wieder erreicht werden.

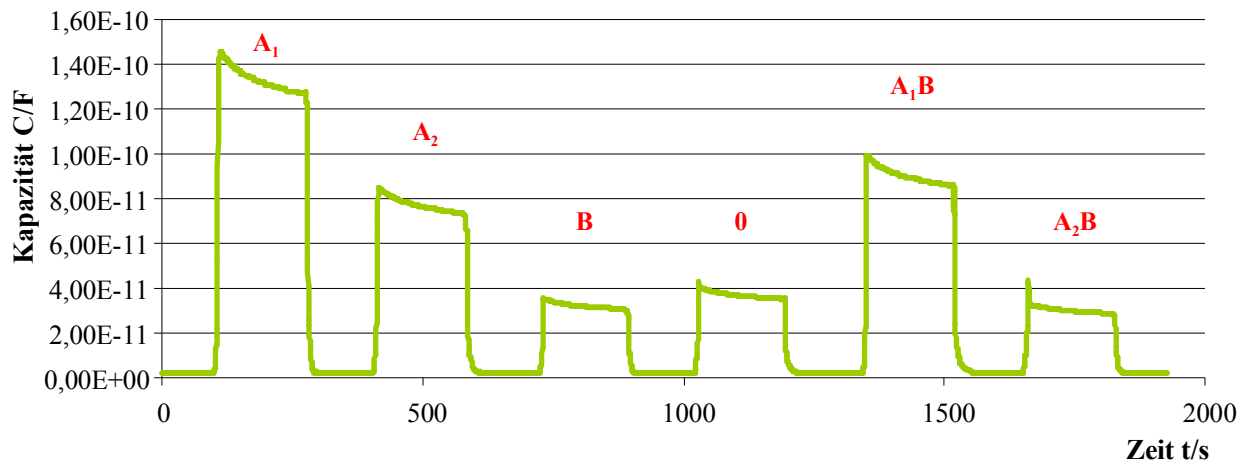


Abb. 145: Messkurve der Kapazitätsmessung mit einem 10 µm-IDK-Sensor (A₁-geprägte Polyvinylpyrrolidonschicht). Das Alter der Vollblutproben für die Gewinnung des Erythrozytenkonzentrats betrug weniger als 2 Wochen. Die Konzentration der Probelösungen war $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml (in Deionat als Lösungsmittel). Die Messung erfolgte bei 10 kHz und 1V mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min.

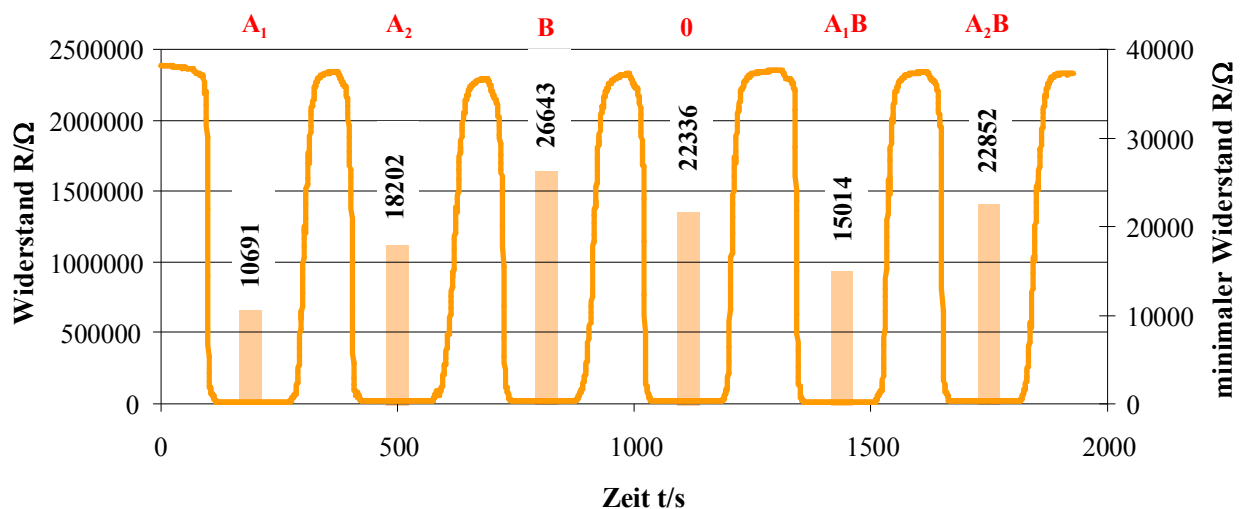


Abb. 146: Darstellung der Messkurve der Widerstandsmessung und der Widerstandswerte bei gefüllter Messzelle unter Verwendung eines 10 µm-IDK-Sensor (A₁-geprägte Polyvinylpyrrolidonschicht). Das Alter der Vollblutproben für die Gewinnung des Erythrozytenkonzentrats betrug weniger als 2 Wochen. Die Konzentration der Probelösungen war $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml (in Deionat als Lösungsmittel). Die Messung erfolgte bei 10 kHz und 1V mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Wird die Widerstandsmesskurve (Abb. 146) betrachtet, ist zu erkennen, dass die Templatblutgruppe A₁ mit 10691 Ω den geringste Wert bei gefüllter Messzelle aufweist. Die Blutgruppe A₁B besitzt mit 15014 Ω den zweitniedrigsten Wert. Die Blutgruppe A₂ liefert einen Widerstand von 18202 Ω , die Blutgruppe B von 26643 Ω , die Blutgruppe 0 von 22336 Ω und die Blutgruppe A₂B von 22852 Ω .

Nach einer Lagerung von 3 Monaten zeigen die Blutproben noch immer eine gute Unterscheidbarkeit mittels Kapazitäts- und Widerstandsmessungen (Abb. 147 und Abb. 148). Die Templatblutgruppe A₁ zeigt bei der Kapazitätsmessung das höchste Signal (122 pF) gefolgt von der Blutgruppe A₁B (94,1 pF). Die anderen Blutgruppen zeigen wesentlich geringere Signale (A₂: 74,2 pF; B: 52,2 pF; 0: 45,1 pF und A₂B: 45,2 pF). Bei der Widerstandsmessung steigt der Widerstand im Vergleich zur vorherigen Messung mit einer frischen Blutprobe an, wobei die Templatblutgruppe weiterhin den niedrigsten Wert aufweist. Dabei erreicht die Blutgruppe A₁ einen minimalen Widerstand von 17278 Ω . Die anderen Blutgruppen liegen bei dieser Messung über 20 k Ω : Blutgruppe A₂ bei 22115 Ω , Blutgruppe B bei 28238 Ω , Blutgruppe 0 bei 26897 Ω , Blutgruppe A₁B bei 21543 Ω und Blutgruppe A₂B bei 26875 Ω .

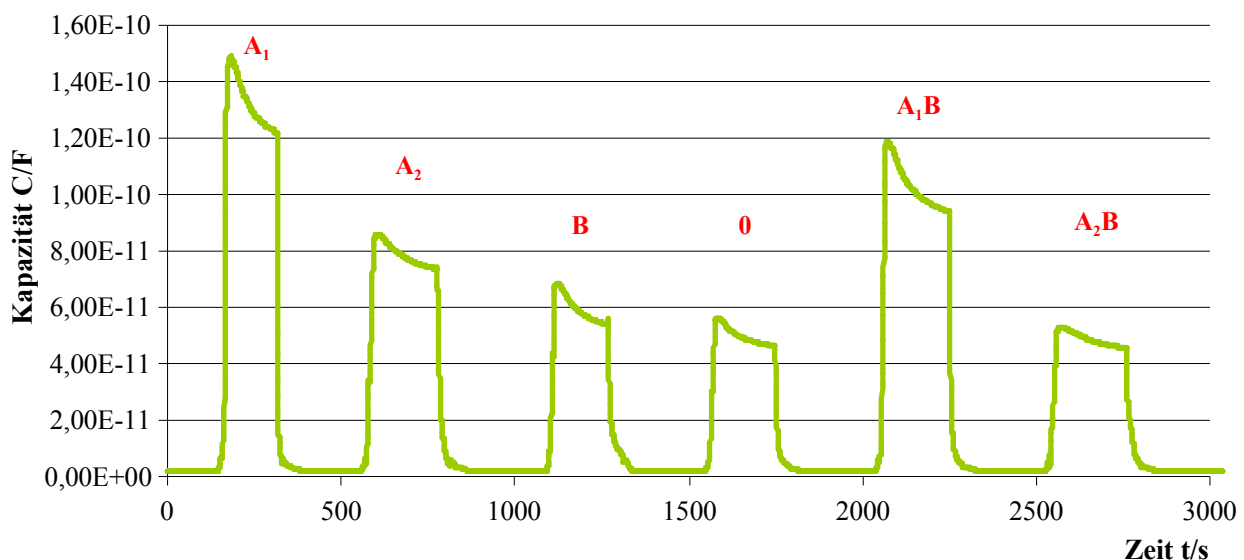


Abb. 147: Messkurve der Kapazitätsmessung mit einem 10 μ m-IDK-Sensor (A₁-geprägte Polyvinylpyrrolidonschicht). Das Alter der Vollblutproben für die Gewinnung des Erythrozytenkonzentrats betrug 3 Monate. Die Konzentration der Probelösungen war $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml (in Deionat als Lösungsmittel). Die Messung erfolgte bei 10 kHz und 1V mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min.

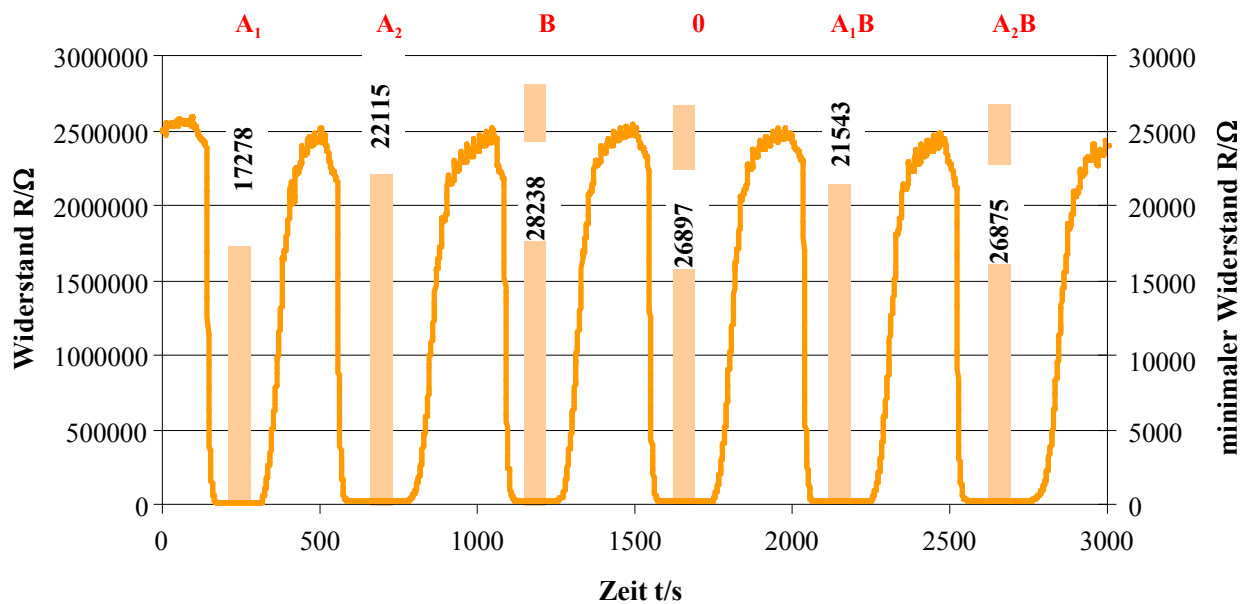


Abb. 148: Darstellung der Messkurve der Widerstandsmessung und der Widerstandswerte bei gefüllter Messzelle unter Verwendung eines 10 μm -IDK-Sensor (A₁-geprägte Polyvinylpyrrolidonschicht). Das Alter der Vollblutproben für die Gewinnung des Erythrozytenkonzentrats betrug 3 Monate. Die Konzentration der Probelösungen war $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml (in Deionat als Lösungsmittel). Die Messung erfolgte bei 10 kHz und 1V mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Werden die Blutproben für 6 Monate unter Kühlung aufbewahrt, so zeigt sich, dass die Kapazitätswerte ansteigen und die Differenzierbarkeit der unterschiedlichen Blutgruppe abnimmt. Die Blutgruppe A₁ erreicht dabei eine Kapazität von 170 pF und somit ein um 48 pF höheres Signal als bei der vorangegangenen Messung. Auch bei den anderen Blutgruppen steigt der Messwert an und liegt zwischen 123 und 143 pF. Wie in der Messkurve (Abb. 149) zu sehen ist, weist die Blutgruppe A₁B (143 pF) eine ähnlich große Kapazität wie die Blutgruppen B (134 pF) und A₂B (134 pF) auf. Die Blutgruppe 0 liefert 125 pF und die Blutgruppe A₂ 123 pF.

Bei der Widerstandsmessung konnte beobachtet werden, dass die Werte bei vollständig gefüllter Messzelle im Vergleich zu den vorherigen Messungen stark ansteigen. Die Templatblutgruppe A₁ erreicht dabei einen Wert von 29665 Ω und zeigt somit eine Änderung zur Messung von Blutproben mit einem Alter von 3 Monat von 12387 Ω . Die anderen Blutgruppen zeigen eine noch stärkere Erhöhung des Widerstandes, wobei die Blutgruppe A₂ einen Wert von 63932 Ω (+41817 Ω), die Blutgruppe B von 50651 Ω (+22413 Ω), die Blutgruppe 0 von 46484 Ω (+19587 Ω), die Blutgruppe A₁B von 39271 Ω (+17728 Ω) und die Blutgruppe A₂B von 48137 Ω (+21262 Ω) erreicht. Damit liegen die hier gemessenen Werte um einen Faktor 1,7 bis zu einem Faktor 1,8 über den gemessenen Werten für die Blutproben mit einem Alter von 3 Monaten. Nur die Blutgruppe B zeigt hier einen Anstieg um den Faktor 2,9 und somit die

stärkste Änderung. Die bei der Messung erhaltene Kurve und die minimalen Werte bei gefüllter Messzelle sind in der Abb. 150 dargestellt.

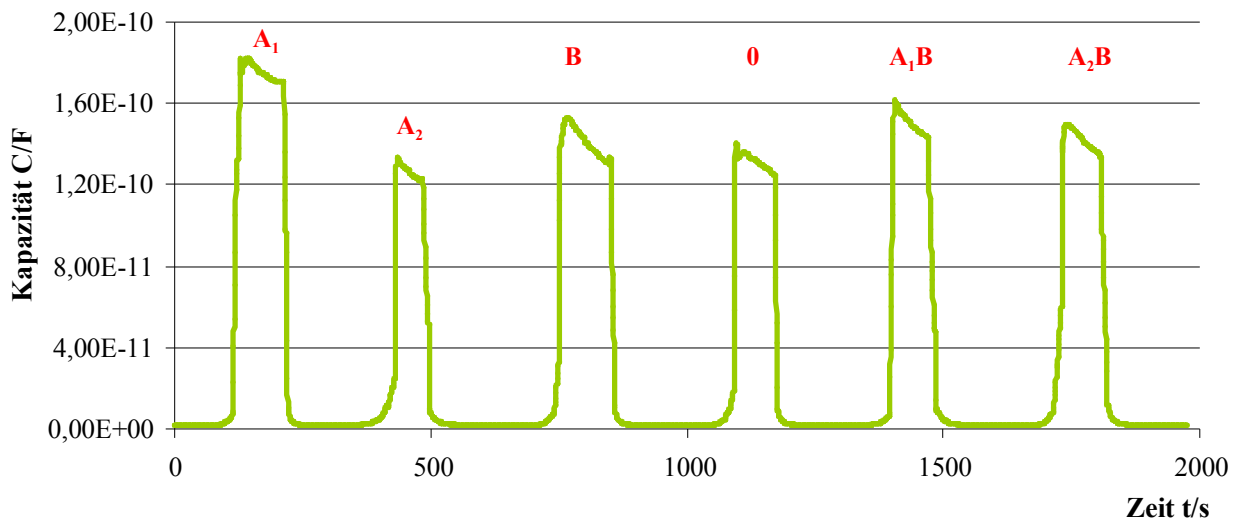


Abb. 149: Messkurve der Kapazitätsmessung mit einem 10 µm-IDK-Sensor (A₁-geprägte Polyvinylpyrrolidonschicht). Das Alter der Vollblutproben für die Gewinnung des Erythrozytenkonzentrats betrug 6 Monate. Die Konzentration der Probelösungen war $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml (in Deionat als Lösungsmittel). Die Messung erfolgte bei 10 kHz und 1V mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min.

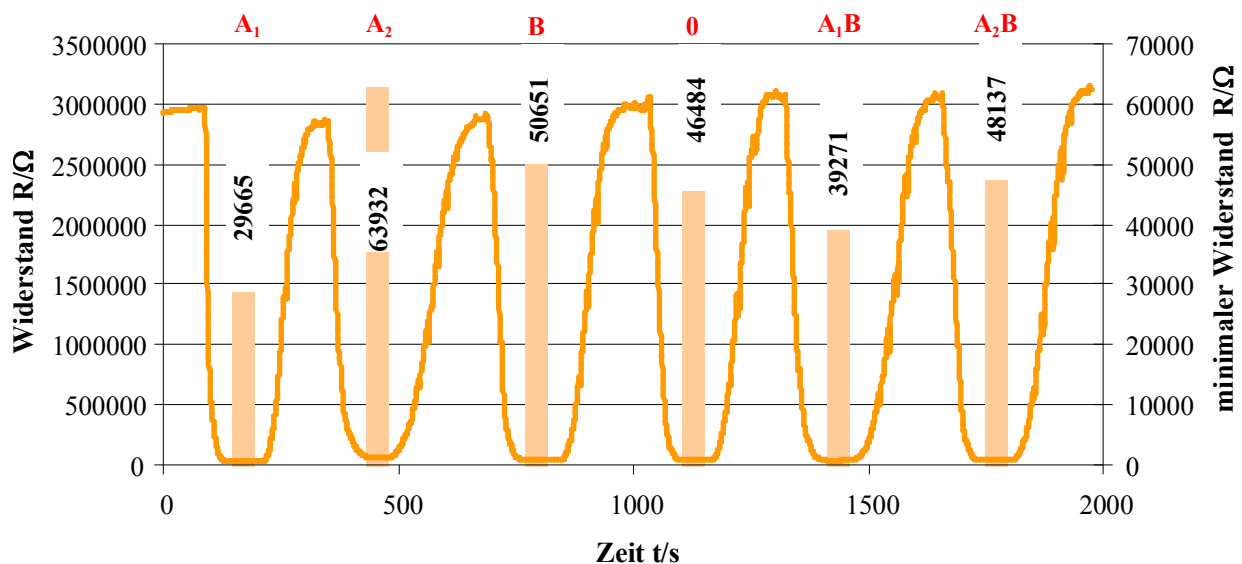


Abb. 150: Darstellung der Messkurve der Widerstandsmessung und der Widerstandswerte bei gefüllter Messzelle unter Verwendung eines 10 µm-IDK-Sensor (A₁-geprägte Polyvinylpyrrolidonschicht). Das Alter der Vollblutproben für die Gewinnung des Erythrozytenkonzentrats betrug 6 Monate. Die Konzentration der Probelösungen war $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml (in Deionat als Lösungsmittel). Die Messung erfolgte bei 10 kHz und 1V mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Wird für die Herstellung der Probelösungen ein Erythrozytenkonzentrat aus einer Vollblutprobe mit einem Alter von 9 Monaten herangezogen, so zeigt sich, dass bei der Kapazitätsmessung die Kurvenform verändert wird. Dabei stellt sich die Kapazität beim Befüllen der Messzelle erst langsam ein und zeigt keinen starken Abfall des Messsignals auf. Des Weiteren steigen die Messwerte weiter an und es wurden Kapazitäten zwischen 170 pF und 197 pF beobachtet, jedoch nimmt die Differenzierbarkeit der unterschiedlichen Blutgruppen ab. So liegt die Templatblutgruppe A₁ (197 pF) nur mehr um 30 pF beziehungsweise 15% von der Blutgruppe A₂ (167 pF) auseinander, wobei die Blutgruppe A₂B das geringste Messsignal dieser Messung aufweist, wie in Abb. 151 zu sehen ist. Die Blutgruppe A₁B liefert eine Kapazität von 193 pF und weist somit nur mehr eine Differenz von 4 pF (2%) auf. Die Blutgruppe B zeigt eine Kapazität von 181 pF, die Blutgruppe 0 von 179 pF und die Blutgruppe A₂B von 170 pF. Somit ist eine Typisierung und Charakterisierung von Blutgruppen mit einem Alter von 9 Monaten mittels Kapazitätsmessung mit einem 10 µm-IDK-Sensor nicht mehr möglich.

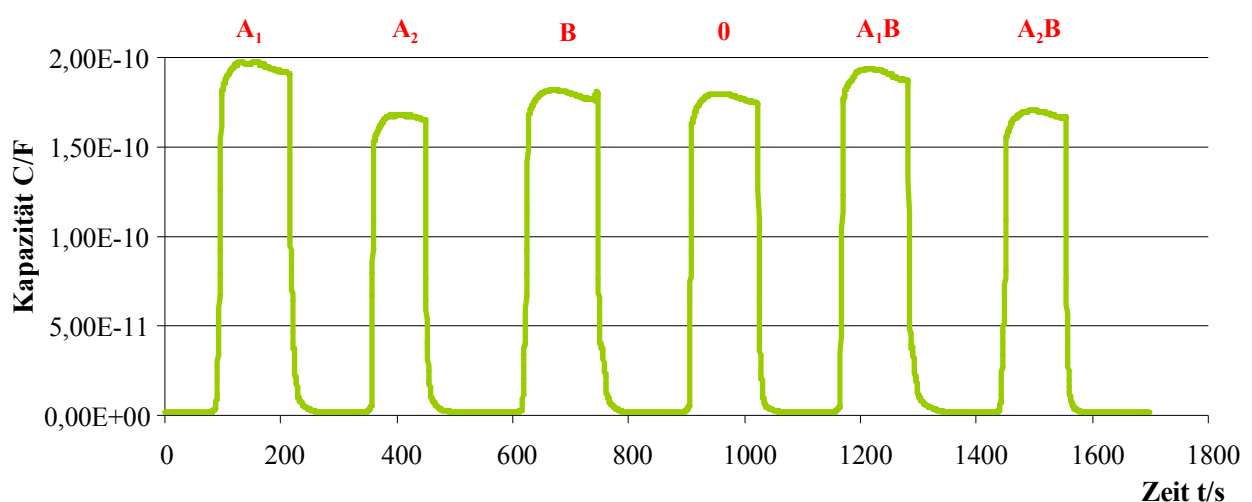


Abb. 151: Messkurve der Kapazitätsmessung mit einem 10 µm-IDK-Sensor (A₁-geprägte Polyvinylpyrrolidonschicht). Das Alter der Vollblutproben für die Gewinnung des Erythrozytenkonzentrats betrug 9 Monate. Die Konzentration der Probelösungen war $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml (in Deionat als Lösungsmittel). Die Messung erfolgte bei 10 kHz und 1V mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Bei der Widerstandsmessung der 9 Monate alten Blutproben zeigt sich auch keine signifikante Unterscheidbarkeit mehr. Die Templatblutgruppe A₁ liefert noch immer das geringste Widerstandssignal von 51310 Ω, jedoch zeigt die Blutgruppe A₁B mit 51752 Ω ein um nur 442 Ω (0,9%) größeres Signal. Die Blutgruppe A₂ liefert einen Widerstand von 83273 Ω, die Blutgruppe B von 63839 Ω, die Blutgruppe 0 von 54814 Ω und die Blutgruppe A₂B von 58758 Ω. Somit ist auch bei der Widerstandsmessung eine Charakterisierung der

unterschiedlichen Blutgruppen einer Blutprobe mit einem Alter von 9 Monaten mittels IDK-Sensor nicht mehr möglich.

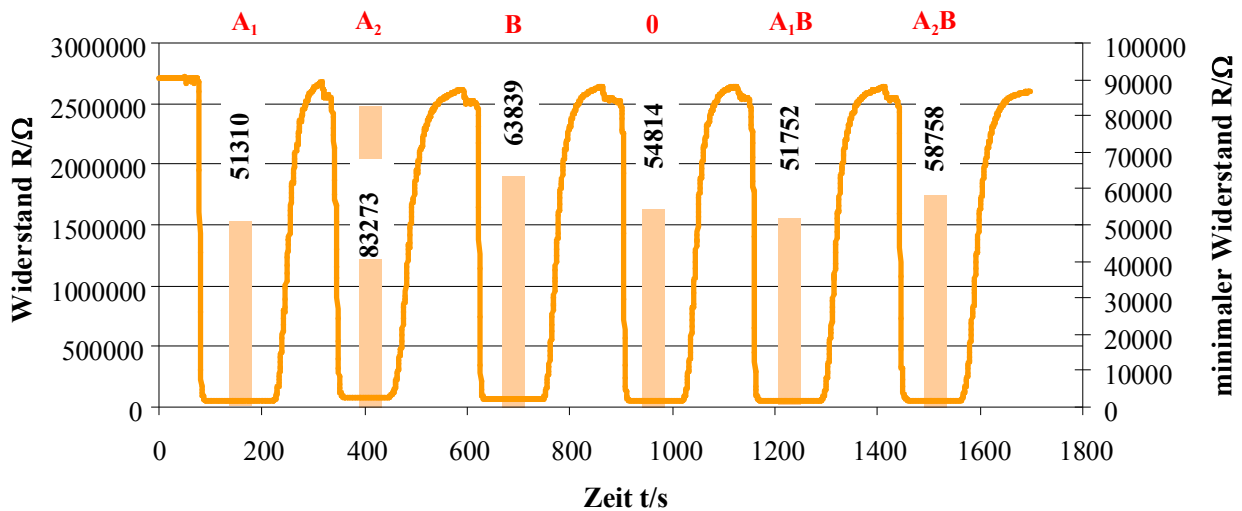


Abb. 152: Darstellung der Messkurve der Widerstandsmessung und der Widerstandswerte bei gefüllter Messzelle unter Verwendung eines 10 µm-IDK-Sensor (A₁-geprägte Polyvinylpyrrolidonschicht). Das Alter der Vollblutproben für die Gewinnung des Erythrozytenkonzentrats betrug 9 Monate. Die Konzentration der Probelösungen war $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml (in Deionat als Lösungsmittel). Die Messung erfolgte bei 10 kHz und 1V mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Werden nun Blutproben mit einem noch höheren Alter (12 Monate) gemessen, steigt die Kapazität weiter an, behält aber die Kurvenform, wie bei der vorherigen Messung bei. Dabei erreicht die Probelösung der Blutgruppe A₁ eine Kapazität von 276 pF, die Blutgruppe A₂ von 262 pF, die Blutgruppe B von 271 pF, die Blutgruppe 0 von 267 pF, die Blutgruppe A₁B von 273 pF und die Blutgruppe A₂B von 265 pF. Bei der Widerstandsmessung (Abb. 154) erreicht die Templatblutgruppe A₁ einen minimalen Wert von 97913 Ω, die Blutgruppe A₂ von 102293 Ω, die Blutgruppe B von 105238 Ω, die Blutgruppe 0 von 103717 Ω, die Blutgruppe A₁B von 99194 Ω und die Blutgruppe A₂B von 98205 Ω. Wobei zu erkennen ist, dass die Werte von Kapazitäts- und Widerstandsmessung nicht mehr miteinander korreliert sind. So liefert die Blutgruppe A₁ zwar den höchsten Kapazitätswert, als auch den niedrigsten Widerstandswert, doch die Blutgruppe A₂B mit dem zweitgeringsten Widerstandswert, nicht den zweithöchsten Kapazitätswert. Ebenso liefert die Blutgruppe B, welche den höchsten Widerstandswert aufweist, eine Kapazität, welche im Mittel der anderen Messungen liegt.

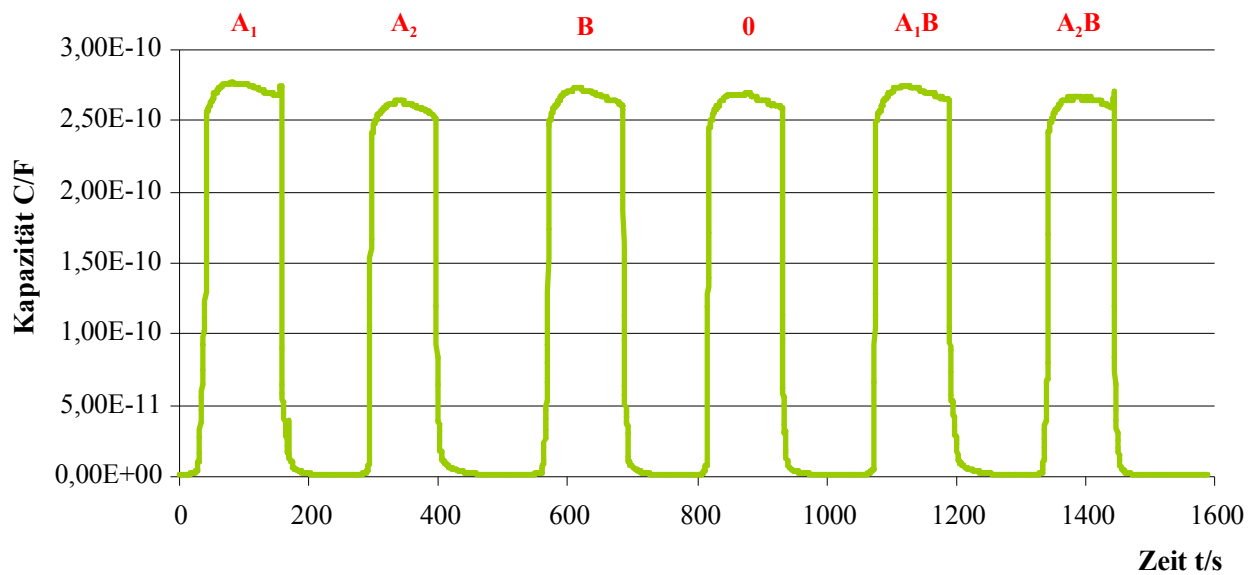


Abb. 153: Messkurve der Kapazitätsmessung mit einem 10 μm -IDK-Sensor (A_1 -geprägte Polyvinylpyrrolidonschicht). Das Alter der Vollblutproben für die Gewinnung des Erythrozytenkonzentrats betrug 12 Monate. Die Konzentration der Probelösungen war $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml (in Deionat als Lösungsmittel). Die Messung erfolgte bei 10 kHz und 1V mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min.

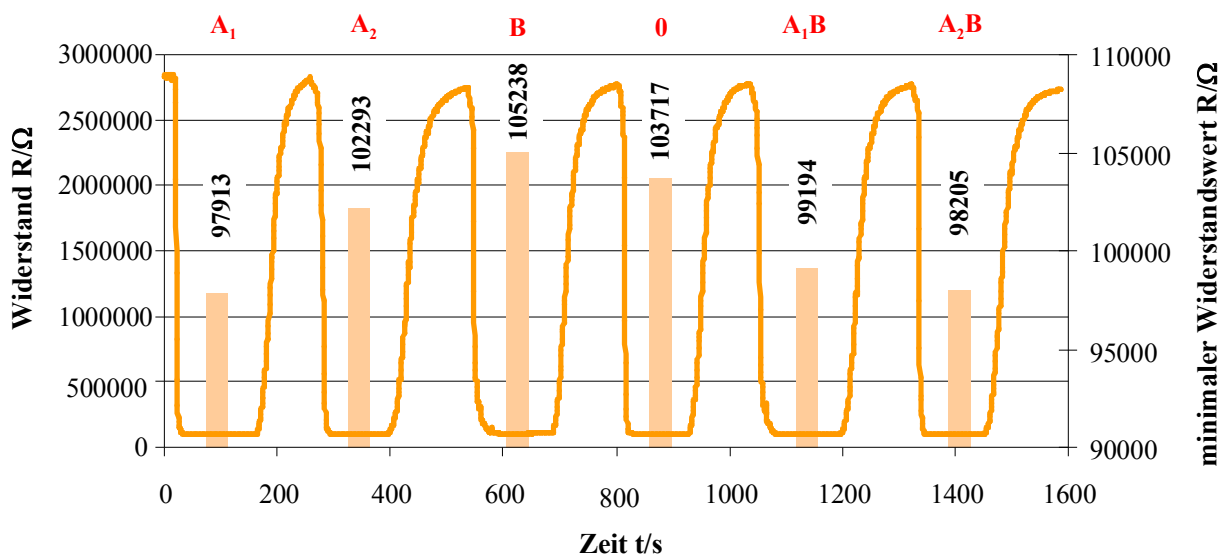


Abb. 154: Darstellung der Messkurve der Widerstandsmessung und der Widerstandswerte bei gefüllter Messzelle unter Verwendung eines 10 μm -IDK-Sensor (A_1 -geprägte Polyvinylpyrrolidonschicht). Das Alter der Vollblutproben für die Gewinnung des Erythrozytenkonzentrats betrug 12 Monate. Die Konzentration der Probelösungen war $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml (in Deionat als Lösungsmittel). Die Messung erfolgte bei 10 kHz und 1V mit einer Pumpgeschwindigkeit von 0,413 ml/min.

Werden die erhaltenen Kapazitätswerte zusammen gefasst, so wird die Graphik in Abb. 155 erhalten. Es ist zu erkennen, dass die Kapazitätswerte mit zunehmendem Alter der Blutproben ansteigen. Werden die Werte der Templatblutgruppe A₁ betrachtet, so liegt die Kapazität bei den ersten beiden Messungen (Blutproben mit einem Alter von 2 Wochen und 3 Monaten) im Bereich von 120 bis 130 pF und steigt bei einem Probenalter von 6 Monaten auf 170 pF an. Wird eine noch ältere Probe verwendet, so liegt der erhaltene Wert bei 197 pF (9 Monate) beziehungsweise 276 pF (12 Monate). Dieses ist auf die Einlagerung beziehungsweise eine Anlagerung von Erythrozyten-Agglomerate in beziehungsweise an die Polymerschicht zurückzuführen, da aufgrund der Größe dieser verklumpten Blutzellen auch eine bessere und stärkere Interaktion mit dem elektrischen Feld einhergeht. Dieses ist schematisch in Abb. 156 dargestellt. Des Weiteren ist zu beobachten, dass die Selektivität mit dem Alter der Blutzellen abnimmt, das heißt, die Blutgruppen nicht mehr voneinander unterscheidbar sind. Da durch das zunehmende Alter der Blutzellen auch deren Membran- und Oberflächenproteine verändert werden, erfolgt eine Aneinanderheftung von mehreren Blutzellen und weiters eine Anlagerung von Proteinen, welche in der Vollblutprobe im Blutplasma vorhanden sind, an die Zellmembran. Durch diese Agglutination der Blutzellen werden deren Oberflächenstrukturen soweit verändert, dass die Erythrozyten keine optimale Passform für die Kavitäten des Polymers besitzen. Diese können dann aufgrund der unterschiedlichen Bindungsstellen und deren Größe nicht mehr vollständig in die Kavitäten eingelagert werden. Im Gegensatz dazu können die Erythrozyten-Agglomerate aufgrund der veränderten Oberflächenstruktur nun auch vermehrt unspezifisch auf der Polymeroberfläche anhaften und adsorbiert werden, wodurch nun alle Blutgruppen eine ähnlich große Bindungswahrscheinlichkeit aufweisen können, was zu einer gleichen Interaktion mit dem elektrischen Feld und gleichen Messsignalen führt und somit werden mit zunehmendem Alter der Blutzellen, die Kapazitätswerte der unterschiedlichen Blutgruppen ähnlicher und die Blutgruppen sind nicht mehr differenzierbar.

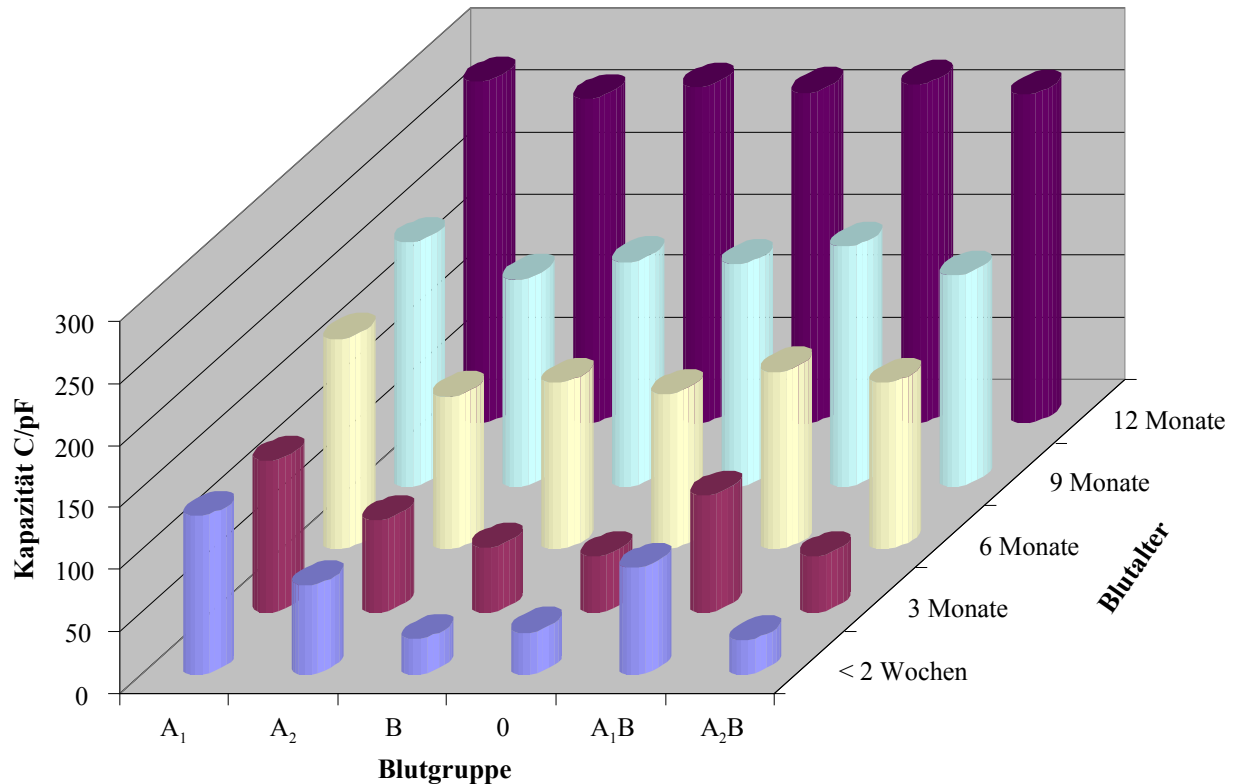


Abb. 155: Zusammenfassung der Kapazitätsmessungen von unterschiedlich alten Blutproben. Die Messung erfolgte mittels 10 µm-IDK-Sensor mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht und einer A₁-Prägung bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Die Konzentration der Probelösungen betrug $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Als Lösungsmittel diente Deionat.

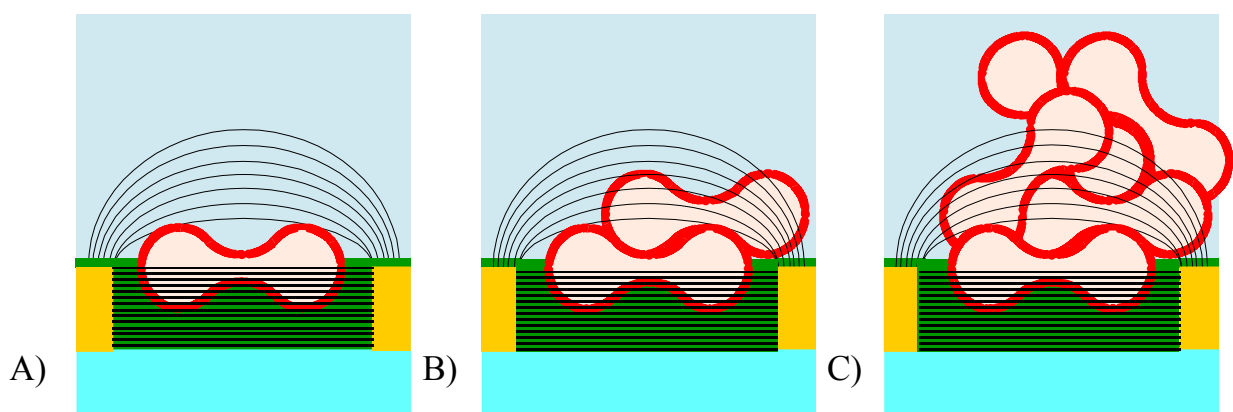


Abb. 156: Schematische Darstellung der Einlagerung von einer Blutzelle (A), einem Agglomerat aus zwei (B) und mehreren Blutzellen (C) in die Sensorschicht und deren Interaktion mit dem elektrischen Feld.

Bei der Messung des Widerstands zeigt sich, dass dieser mit zunehmendem Alter ansteigt. Dabei werden bei der Templatblutgruppe A₁ bei frischen Blutproben Widerstandswerte von 10691 Ω (< 2 Wochen) und 17278 Ω (3 Monate) gemessen, während bei älteren Blutproben der Widerstand auf 29665 Ω (6 Monate) erhöht wird. Bei Blutproben mit einem Alter von 9 beziehungsweise 12 Monaten werden dabei Widerstandswerte von 51310 Ω und 97913 Ω gemessen, wie in Abb. 157 zu sehen ist. Weiters ist zu erkennen, dass bei älteren Blutproben die Differenzierbarkeit der Blutgruppen nicht mehr gegeben ist, da die unterschiedlichen Blutgruppen ähnliche Widerstandswerte liefern. Das ist, wie bei der Kapazitätsmessung, auf die Veränderung der Oberflächenproteine und der dadurch auftretenden Agglutination zurückzuführen, welche eine Einlagerung in die vorhandenen Kavitäten verschlechtert und somit die Polymerschicht die Erythrozyten-Agglomerate der unterschiedlichen Blutgruppen gleich gut aus der Lösung extrahiert.

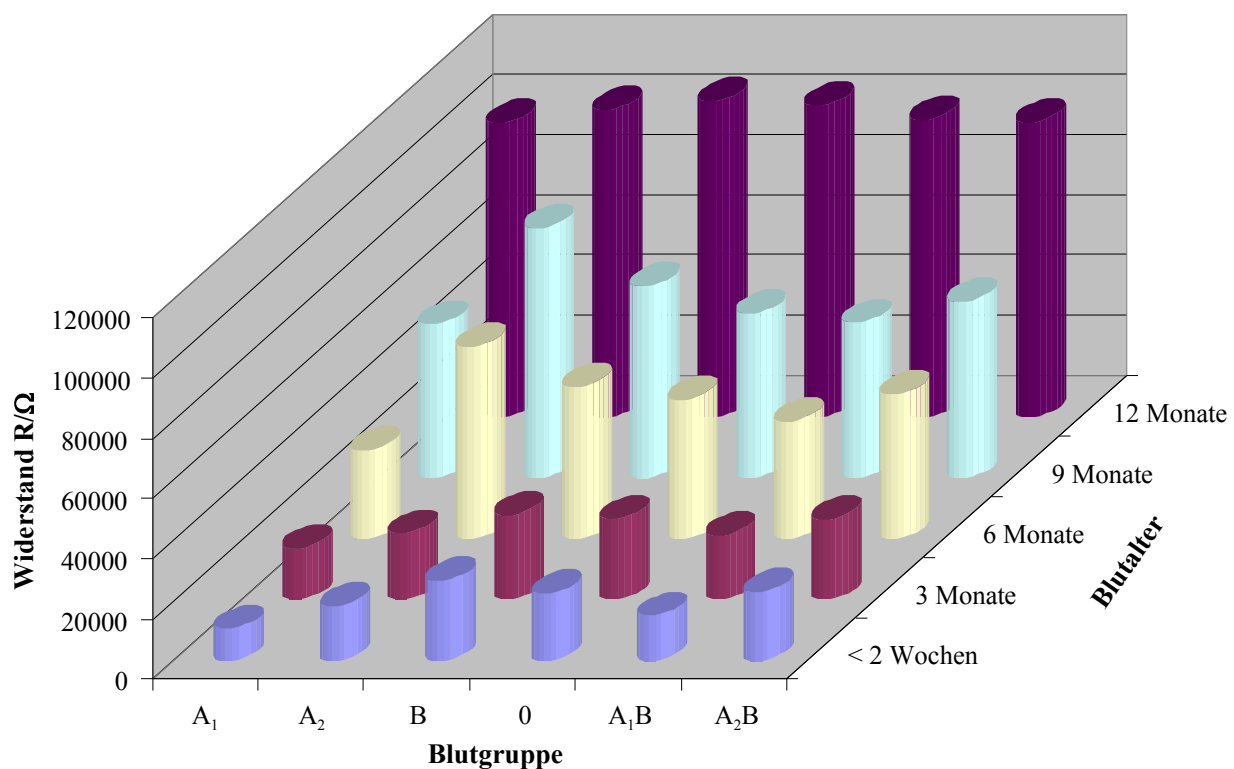


Abb. 157: Zusammenfassung der Widerstandsmessungen von unterschiedlich alten Blutproben. Die Messung erfolgte mittels eines 10 μm -IDK-Sensor mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht und einer A₁-Prägung bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Die Konzentration der Probelösungen betrug $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml (in Deionat).

Das Zunehmen der Widerstandswerte ist aufgrund von zwei Phänomenen zu erklären, auf der einen Seite wird durch die Agglutination und dem Zusammenheften mehrere Blutzellen, diese stabilisiert und die Blutzellen platzen nicht mehr so häufig auf, trotz der nicht isotonischen

Umgebungsbedingungen des Deionats. Somit gelangen auch weniger Ionen in die Lösung und der Widerstand wird nicht so stark verringert. Auf der anderen Seite werden durch die An beziehungsweise Einlagerung der Erythrozyten-Agglomerate die vorhandenen Poren im Polymer verschlossen und eine Wanderung der Ionen zwischen den Elektroden verhindert. Liegt das Polymer im Lösungsmittel ohne Analyt vor, so können vorhandene Ionen in die Poren eindringen und zwischen den Elektroden wandern. Wird nur eine einzelne Blutzelle in das Polymer extrahiert, so bleiben die in der Umgebung befindlichen Poren offen und es kann weiterhin ein Ionentransport in die Kanäle des Polymers erfolgen. Werden jedoch Agglomerate eingelagert, verhindern diese aufgrund ihrer Größe die Ionen auch in nebenan liegenden Poren einzudringen. Werden die Agglomerate größer und heften sich mehrere Blutzellen aneinander, so können auch Poren, welche weiter entfernt sind verschlossen werden, was zu einem höheren Widerstandswert aufgrund der unterbrochenen Ionenwanderung führt. In Abb. 158 sind die verschiedenen Einlagerungen von einzelnen Blutzellen oder Erythrozyten-Agglomeraten in die Polymerschicht und der damit verbundenen Verschließung der Poren im Polymer schematisch dargestellt.

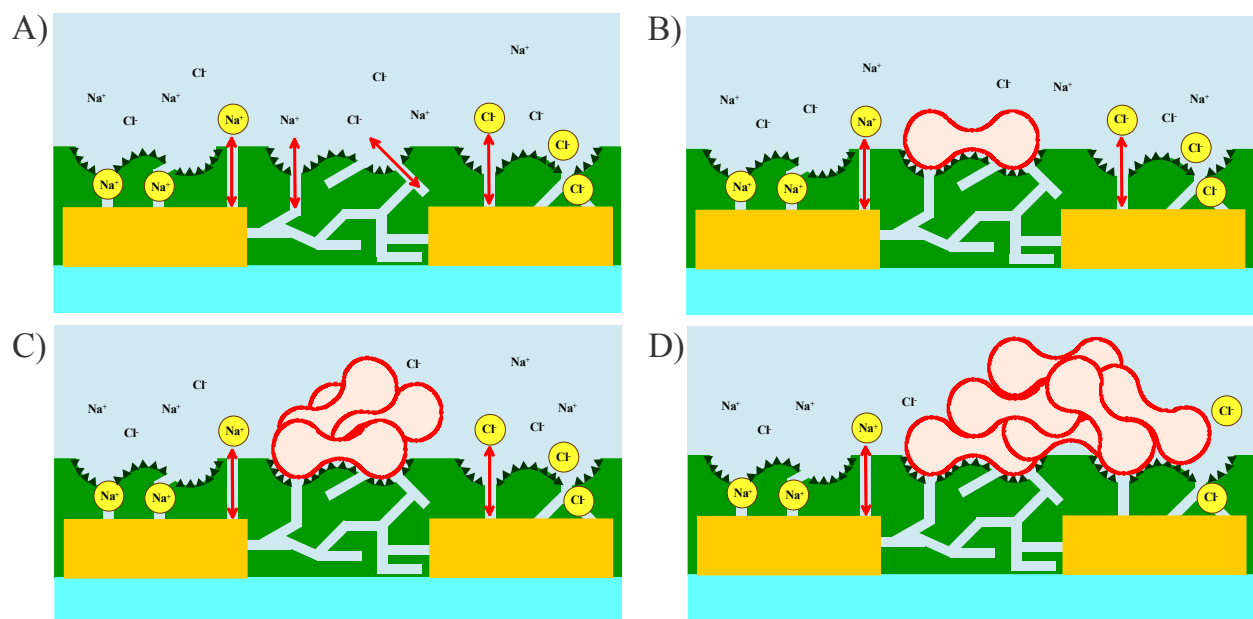


Abb. 158: Schematische Darstellung der Einlagerung von Blutzelle und Blutzellenagglomerate in eine Polymerschicht mit Poren und Kanälen zwischen den Elektroden eines IDK: **A:** Polymerschicht ohne Blutzellen in Lösungsmittel mit Ionen, welche in die Poren eindringen können; **B:** Einlagerung einer Blutzelle in die Kavität und Verschluss der Poren in der Kavität; **C:** Einlagerung mehrerer zusammengehefteten Blutzellen in eine Kavität im Polymer; **D:** Einlagerung eines Erythrozyten-Agglomerats und Verschluss der Poren in der Kavität, sowie in der benachbarten Umgebung.

Für die Bestimmung des Einflusses des Alters der Vollblutproben auf die QCM-Messung wurde ein A₁-geprägter 10 MHz-Quarz herangezogen, welcher mit zwei Elektroden versehen war (geprägte Mess- und ungeprägte Referenzelektrode). Die Prägung erfolgte mit einem Erythrozytenkonzentrat aus einer frischen (<2 Wochen) Blutprobe und besaß eine Konzentration von $1,0 \cdot 10^7$ Erythrozyten/ μ l. Die Messung wurde bei einer angelegten Spannung von 12 V durchgeführt. Die Konzentration der Probelösungen betrug $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und Deionat wurde als Lösungsmittel herangezogen, wobei die hergestellten Proben innerhalb von 5 Minuten gemessen wurden, um das Platzen der Zellen zu verhindern.

Für die erste Messung wurden die Probelösungen mit einem Alter von unter 2 Wochen herangezogen. Bei der aufgezeichneten Messkurve, Abb. 159, ist gut zu erkennen, dass die Templatblutgruppe A₁ die größte Frequenzerniedrigung aufweist (-7372,2 Hz). Die Blutgruppe A₁B zeigt eine Änderung von -5036,8 Hz, die Blutgruppe A₂B von -3273,9 Hz, die Blutgruppe B von -3230,5 Hz, die Blutgruppe 0 von -2690,0 Hz und die Blutgruppe A₂ von -1671,2 Hz.

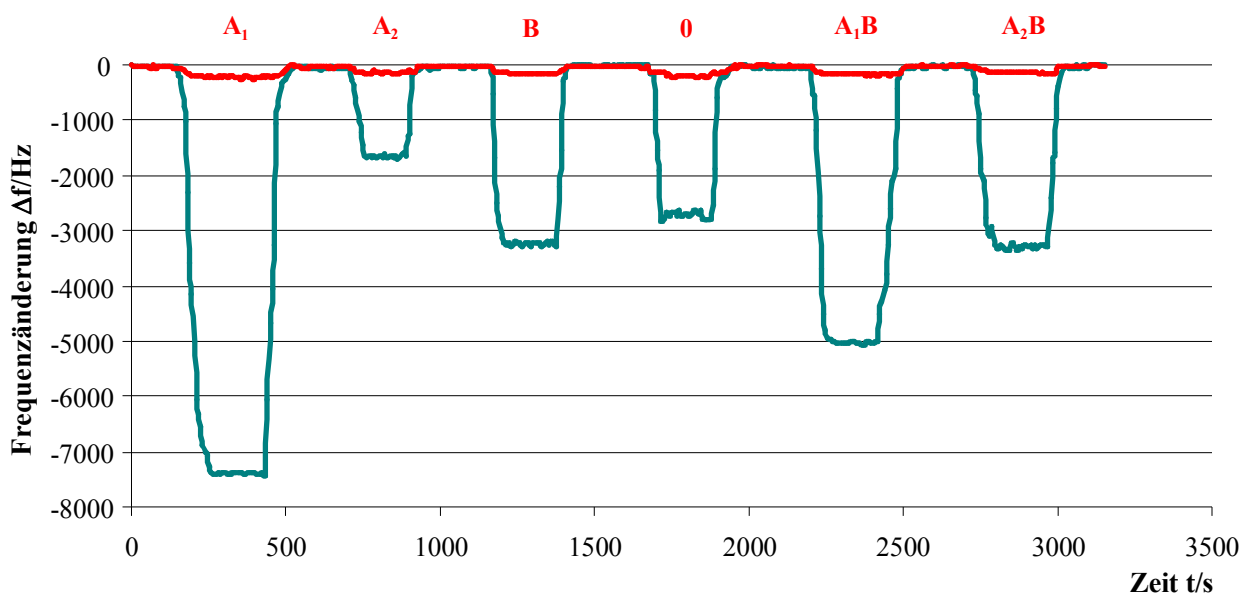


Abb. 159: QCM-Messung zur Bestimmung der Stabilität der Erythrozyten in der Vollblutprobe. Probelösungen mit einem Alter von unter 2 Wochen und einer Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Für die Messung wurde ein A₁-geprägter 10 MHz-Quarz mit einer Zweielektrodenstruktur herangezogen (türkis: Messelektrode; rot: Referenzelektrode).

Werden mit demselben A₁-Sensor Blutproben mit einem Alter von 3 Monaten gemessen, so ist zu erkennen, dass die Templatblutgruppe A₁ das höchste Signal zeigt. Dabei erreicht die Blutgruppe A₁ eine Frequenzänderung von -7036,1 Hz und die Blutgruppe A₁B von -5436,4 Hz und somit das zweitstärkste Signal. Die anderen Blutgruppen liegen mit ihren

Frequenzerniedrigungen in einem Bereich von 3000 bis 4000 Hz, wobei die Blutgruppe A₂B eine Änderung von -3938,9 Hz, die Blutgruppe B von -3931,5 Hz und die Blutgruppe A₂ von -3856,4 Hz aufweisen. Die Blutgruppe 0 besitzt mit einer Frequenzänderung von -3058,3 Hz das geringste Messsignal dieser Messung, welche in Abb. 160 dargestellt ist.

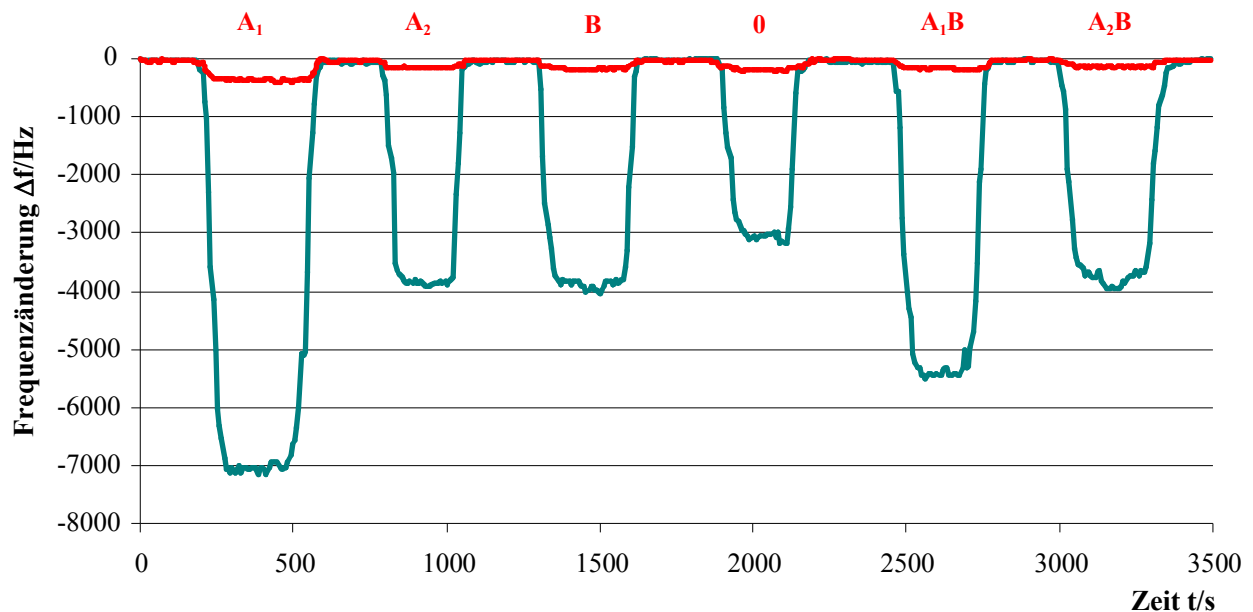


Abb. 160: QCM-Messung zur Bestimmung der Stabilität der Erythrozyten in der Vollblutprobe. Probelösungen mit einem Alter von 3 Monaten und einer Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Für die Messung wurde ein A₁-geprägter 10 MHz-Quarz mit einer Zweielektrodenstruktur herangezogen (türkis: Messelektrode; rot: Referenzelektrode).

In Abb. 161 ist die Messkurve einer Blutprobe mit einem Alter von 6 Monaten dargestellt. Zwar zeigt die Templatblutgruppe A₁ noch immer die höchste Frequenzerniedrigung, jedoch liegen die anderen Blutgruppen mit ihrem Signal nur um 500 bis 1300 Hz von dieser entfernt. Dabei erreicht die Blutgruppe A₁ eine Änderung von -9626,5 Hz, die Blutgruppe A₂ von -8337,5, die Blutgruppe B von -8794,8 Hz, die Blutgruppe 0 von -9097,4 Hz, die Blutgruppe A₁B von -9137,6 Hz und die Blutgruppe A₂B von -9129,2 Hz.

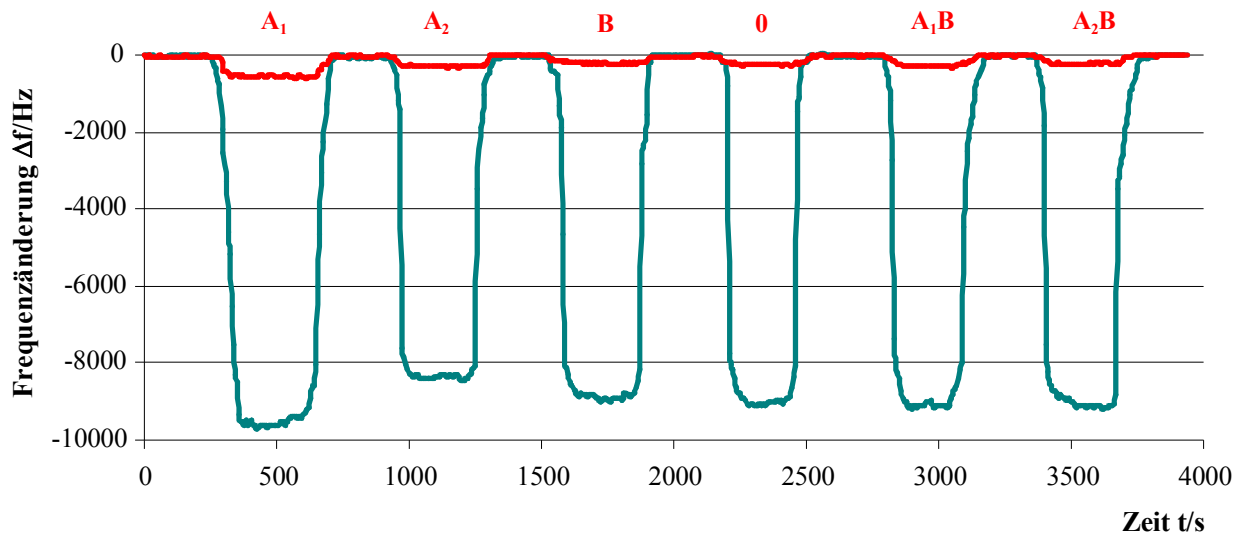


Abb. 161: QCM-Messung zur Bestimmung der Stabilität der Erythrozyten in der Vollblutprobe. Probelösungen mit einem Alter von 6 Monaten und einer Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Für die Messung wurde ein A_1 -geprägter 10 MHz-Quarz mit einer Zweielektrodenstruktur herangezogen (türkis: Messelektrode; rot: Referenzelektrode).

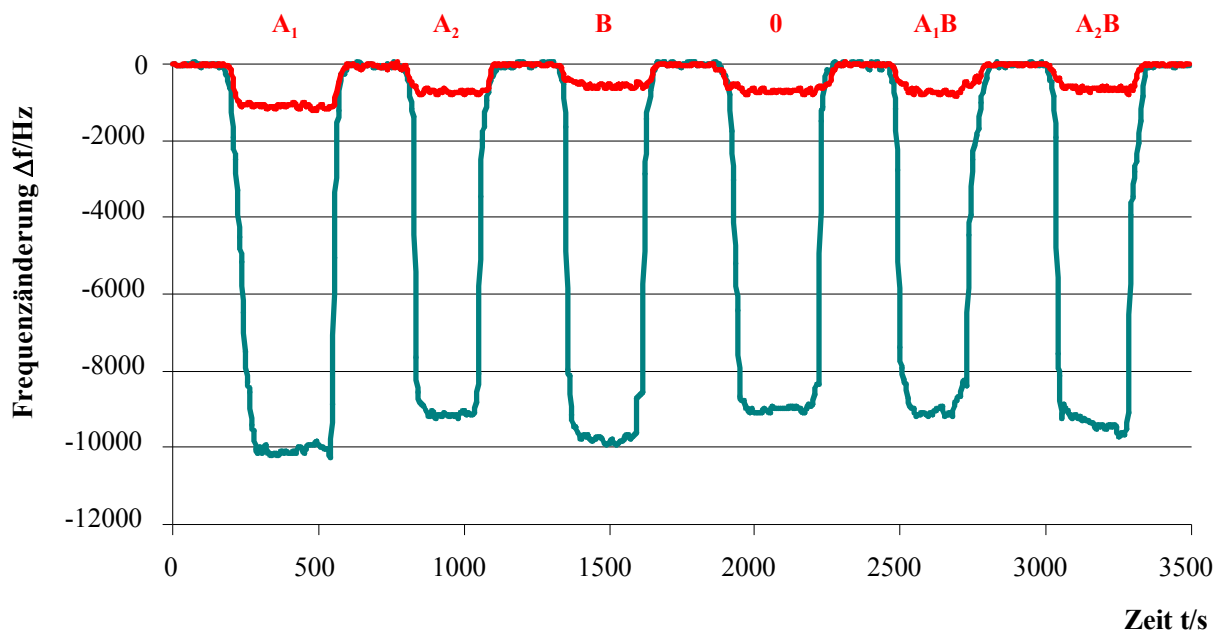


Abb. 162: QCM-Messung zur Bestimmung der Stabilität der Erythrozyten in der Vollblutprobe. Probelösungen mit einem Alter von 9 Monaten und einer Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Für die Messung wurde ein A_1 -geprägter 10 MHz-Quarz mit einer Zweielektrodenstruktur herangezogen (türkis: Messelektrode; rot: Referenzelektrode).

Wird eine noch ältere Vollblutprobe (9 Monate) zur Gewinnung der Erythrozyten herangezogen, so sind die Blutgruppen nicht mehr voneinander zu unterscheiden, wie in Abb. 162 zu sehen ist. Die Templatblutgruppe A_1 und die Blutgruppe B zeigen annähernd die gleiche Frequenzerniedrigung auf (A_1 : -10143,6 Hz und B: -9814,1 Hz). Die Blutgruppe A_2 liefert eine

Änderung von -9229,2 Hz, die Blutgruppe 0 von -9063,0 Hz, die Blutgruppe A₁B von -8965,4 Hz und die Blutgruppe A₂B von -9427,6 Hz. Des Weiteren ist an der Messkurve zu erkennen, dass die Referenzelektrode ein wesentlich größeres Signal liefert, als bei den vorangegangenen Messungen. Dabei liegt die Frequenzerniedrigung auf der Referenzseite zwischen 600 Hz und 1 kHz. Dieses resultiert daraus, dass sich nicht mehr kleine einzelne Blutzellen auf dem Polymeranlagern, sondern große und schwere Agglomerate von mehreren Blutzellen. Diese bewirken eine stärkere Massebeladung und somit auch eine höhere Frequenzänderung.

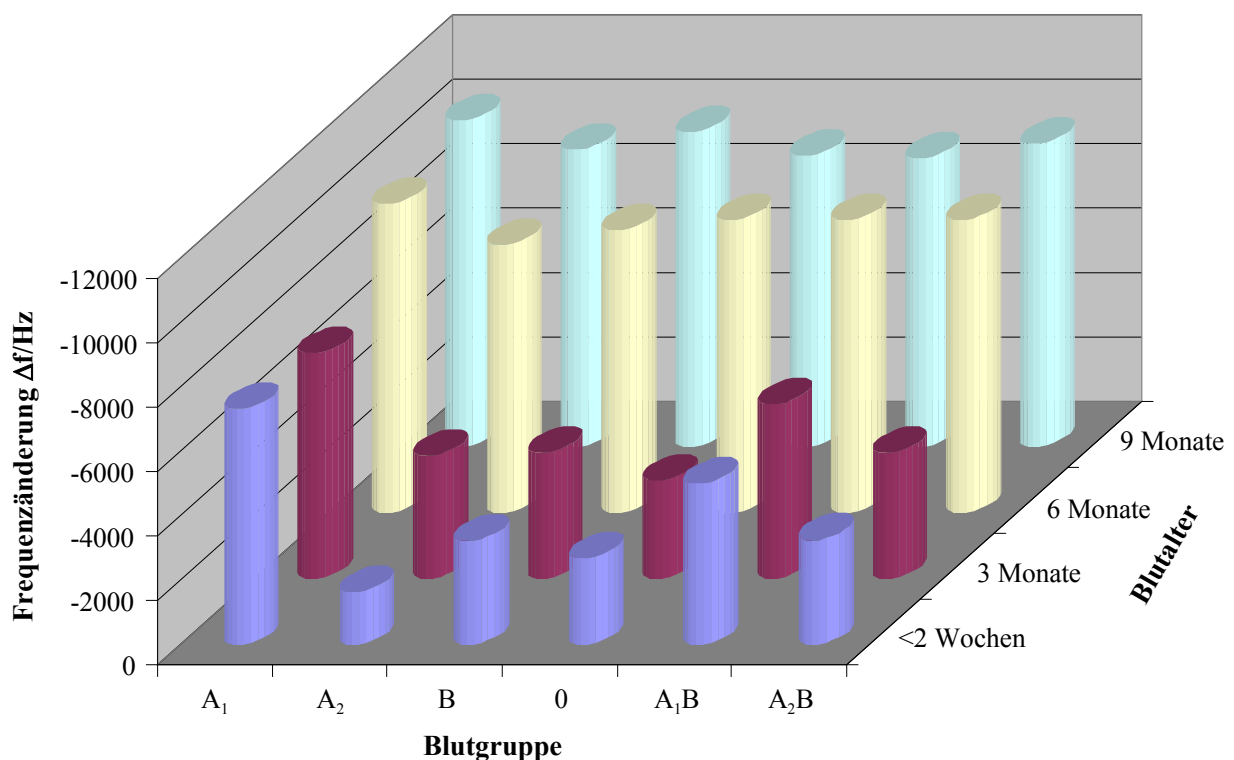


Abb. 163: Zusammenfassung der QCM-Messungen zur Bestimmung des Einflusses des Alters der Vollblutproben. Darstellung der Frequenzerniedrigungen der Messelektrode (A₁-geprägte Polyvinylpyrrolidonschicht) in Abhängigkeit vom Blutalter und der jeweiligen Probeblutgruppe.

Werden die erhaltenen Frequenzänderungen zusammen gefasst, wird Abb. 163 erhalten. Darauf ist zu erkennen, dass die Frequenzerniedrigungen mit dem Alter der Blutproben zunehmen. Dieses ist darauf zurückzuführen, dass die Erythrozyten aufgrund ihres Alters zusammenklumpen und Agglomerate bilden. Somit lagern sich in die Kavitäten nicht nur eine Blutzelle ein, sondern mehrere und bewirken so eine stärkere Massenbeladung der Elektrode. Im Gegenzug dazu nimmt die selektive Einlagerung in die Kavitäten ab, da die Zellenmembran aufgrund der Agglomeration ihre Bindungsstellen verändert. So zeigen bei hohem Blutalter (>

6 Monate) alle Blutgruppe eine ähnliche Frequenzerniedrigung und sind nicht mehr für eine Differenzierung mittels QCM-Sensor brauchbar. In der Abb. 164 ist die Einlagerung der zusammengeklumpten Blutzellen in die Sensorschicht schematisch dargestellt. Je mehr Blutzellen aneinander anhaften, umso größer ist die Massenänderung der Polymerschicht.

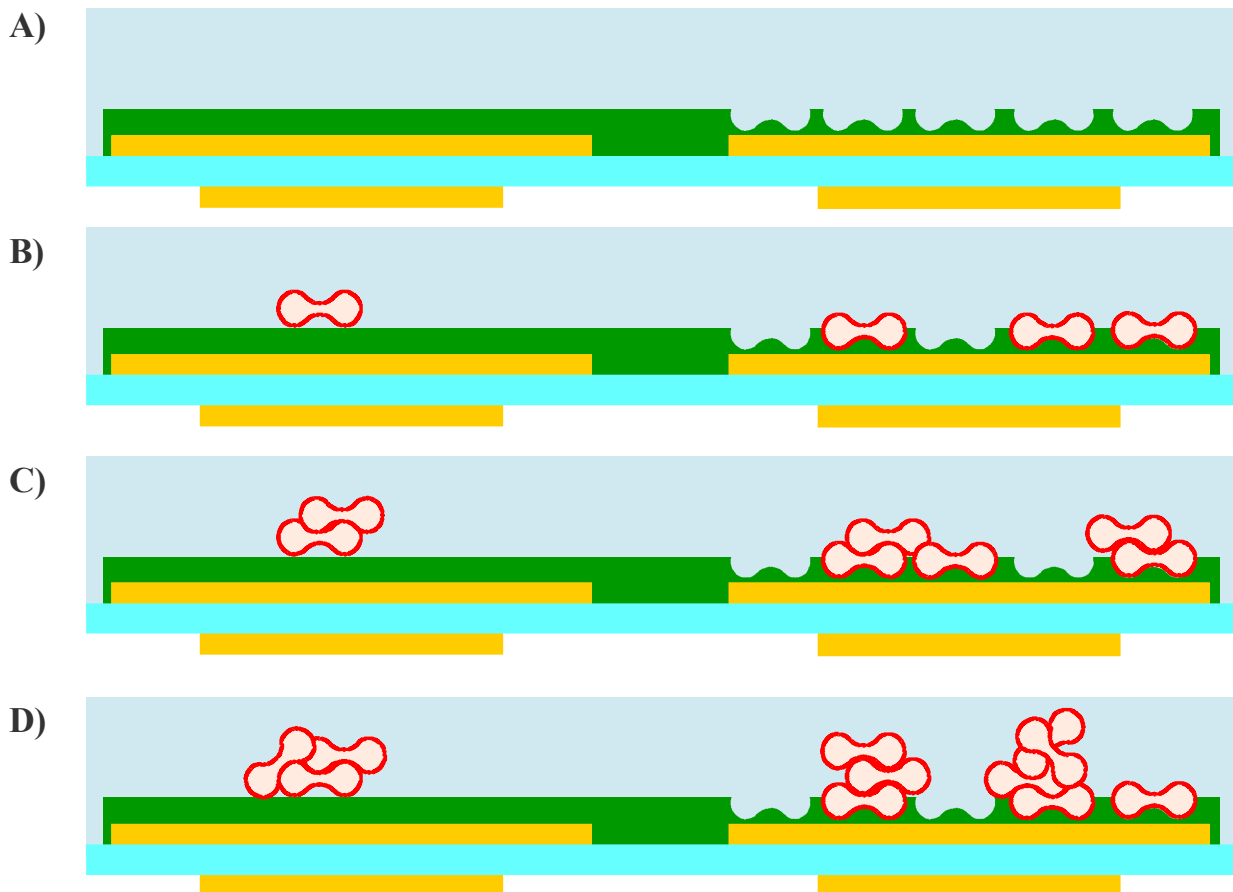


Abb. 164: Schematische Darstellung der unterschiedlichen Massenbeladungen durch Blutzellenagglomerate: **A:** Beschichteter Quarz mit einer geprägten und ungeprägten Elektrode ohne Blutzellen; **B:** Einlagerung von einzelnen Blutzellen (frische Blutprobe) in die Kavitäten und Anlagerung einzelner Zellen an die ungeprägte Polymerschicht; **C:** Einlagerung von zusammenhängenden Blutzellen (ältere Blutproben) in die Kavitäten; **D:** Einlagerung von Blutzellenagglomerate in die Kavitäten und Anlagerung an der Polymerschicht auf der Referenzelektroden-seite (alte Blutproben)

4.7.3. Zusammenfassung der Stabilitätstests

Die Bestimmung der Alterung der Polyvinylpyrrolidon-Sensorschicht, mit einem Quervernetzeranteil von 5 w%, zeigt, dass die Polymerschicht eine hohe Stabilität über einen langen Messzeitraum besitzt und ein konstantes Messsignal liefert. So ist bei den Messungen über die ersten 72 Stunden ein annähernd gleicher Kapazitätswert aufgezeichnet worden. Wie in der Abb. 165 zu sehen ist, sinkt die Kapazität mit einem Alter über 72 Stunden zwar ab, jedoch bleiben die unterschiedlichen Blutgruppen auch bis zu einer Betriebsdauer von 302 Stunden unterscheidbar.

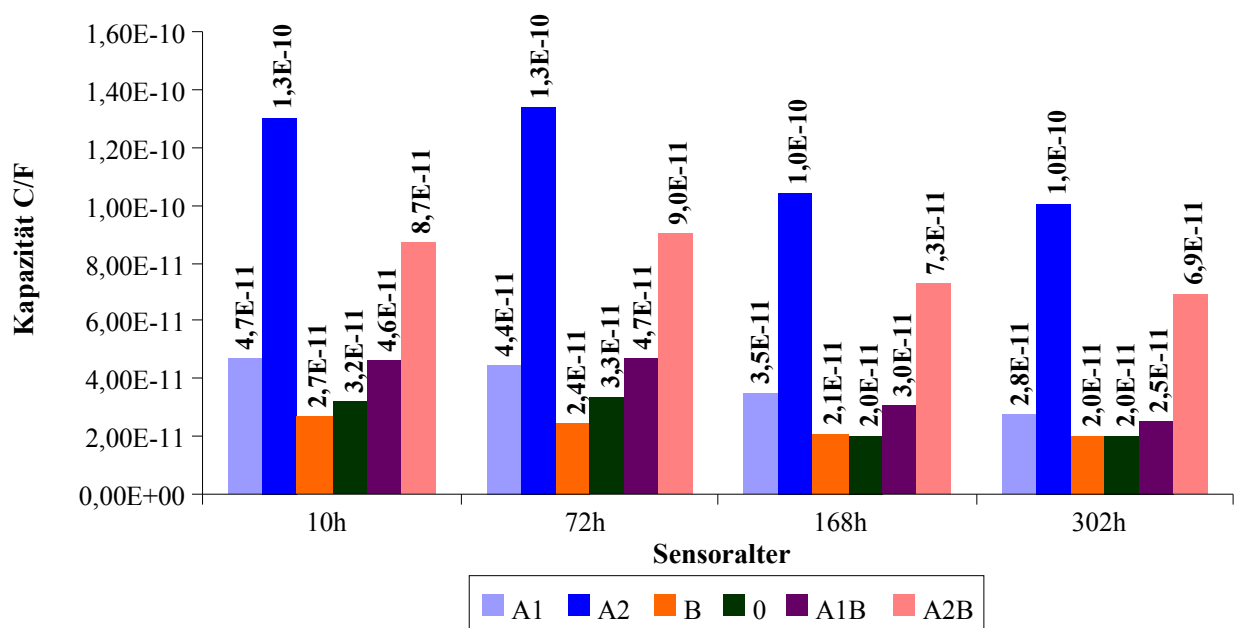


Abb. 165: Zusammenfassung der Kapazitätsmessung für die Bestimmung des Verhaltens des 10 μm -IDK-Sensors in Abhängigkeit des Alters der A₂-geprägten Polyvinylpyrrolidonschicht. Die Messungen erfolgten bei einer Frequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Die Konzentration der Blutprobenlösungen in Deionat betrug $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml.

Werden die Messkurven mit einem Alter von 10 Stunden und 72 Stunden verglichen, ist zu sehen, dass die Kurvenform der Kapazitätsmessungen annähernd gleich ist. Der Abfall der Kapazität von ihrem Maximalwert nach dem Befüllen der Messzelle und dem Wert kurz vor dem Waschprozess erfolgt in allen 12 Messungen asymptotisch. Die Dauer des Ansteigens und des Abfallens der Kapazität beträgt bei allen Messungen in etwa 2 Minuten und bleibt auch bei den weiteren Messungen über ein Sensoralter von 72 Stunden konstant. Somit werden die Blutzellen gleich schnell in die Kavitäten eingelagert und aus diesen herausgewaschen. Die Messkurven für die Messungen nach 10 beziehungsweise 72 Stunden sind in der folgenden Abb. 166 dargestellt.

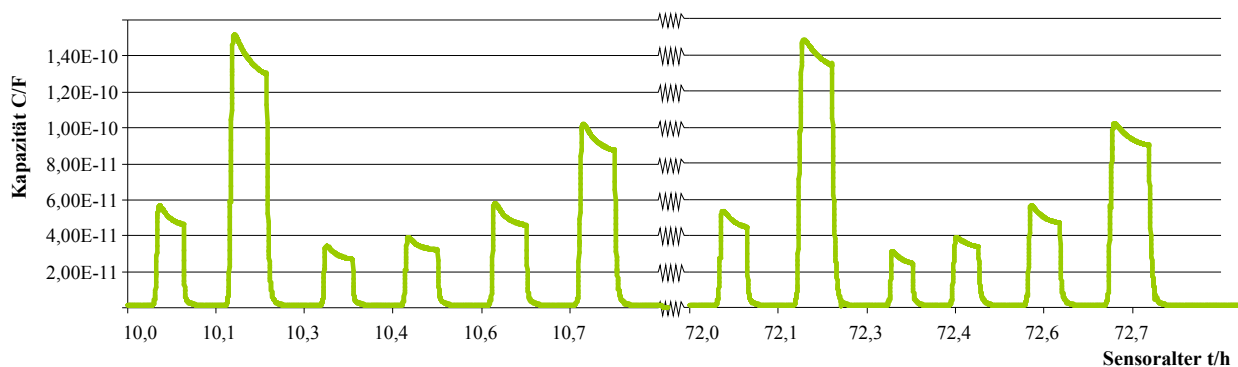


Abb. 166: Messkurve für den Sensorstabilitätstest mit einem A₂-geprägten 10 µm-IDK-Sensor mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht. Das Alter der Schicht betrug bei dieser Messung 10 beziehungsweise 72 Stunden und es wurde mit einer Frequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V gemessen. Die Blutproben hatten eine Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml und wurden frisch vor der Messung (< 5 min) hergestellt. Die Messung der Blutgruppen erfolgte in der Reihenfolge: A₁, A₂, B, 0, A₁B, A₂B.

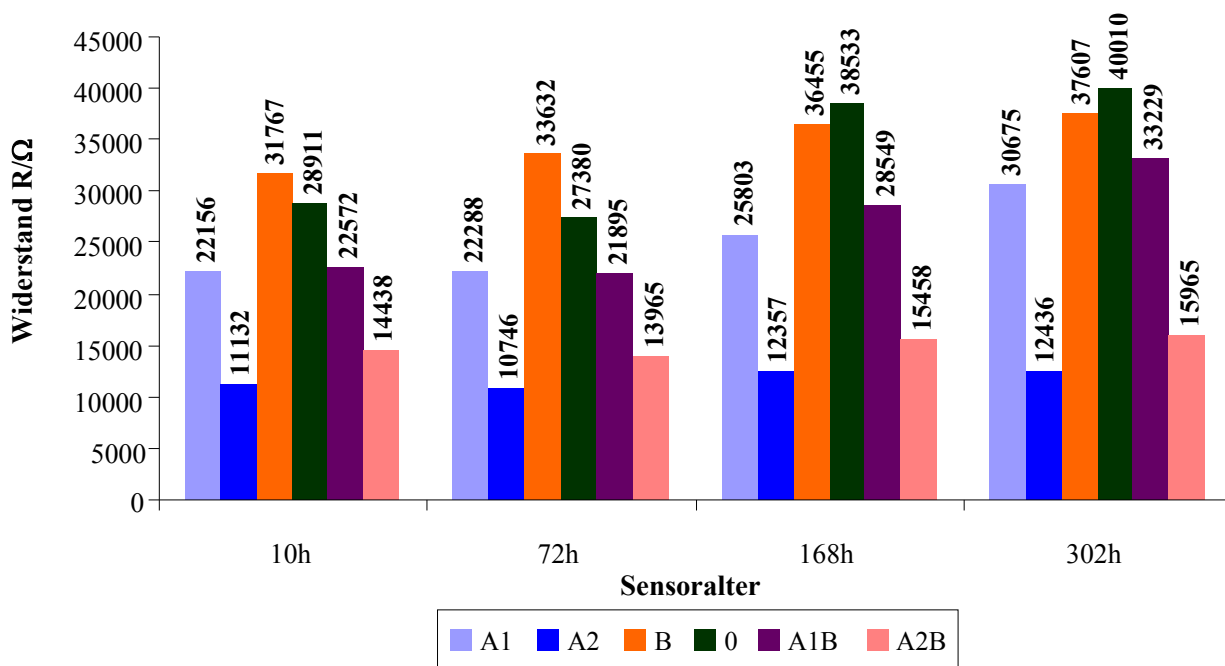


Abb. 167: Zusammenfassung der Widerstandsmessung für die Bestimmung des Verhaltens des 10 µm-IDK-Sensors in Abhängigkeit des Alters der A₂-geprägten Polyvinylpyrrolidonschicht. Die Messungen erfolgten bei einer Frequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1 V. Die Konzentration der Blutprobenlösungen in Deionat betrug $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml.

Bei der Widerstandsmessung ist zu erkennen, dass diese bereits nach 72 Stunden einen geringfügig anderen Wert aufweist. Dabei sinkt der Messwert für die Templatblutgruppe geringfügig ab, genauso wie für die an die nächst besten in die Kavitäten passende Blutgruppe A₂B. Dabei fällt der Widerstand für die Blutgruppe A₂ von 11132 Ω auf 10746 Ω ab, für die Blutgruppe A₂B wird der Wert von 14438 Ω auf 13965 Ω herabgesenkt. Die Blutgruppen A₁B

und 0 weisen ebenfalls einen geringeren Messwert auf, während der Widerstand für die Blutgruppen A₁ und B ansteigen. Bei einem Sensoralter über 72 Stunden steigt der Widerstand für alle gemessenen Blutproben an. Jedoch weist die Templatblutgruppe A₂ und die Blutgruppe A₂B bei allen vier Messungen die geringsten Widerstandswerte auf, welche nur geringfügig ansteigen: Bei der Blutgruppe A₂ steigt der Wert nach 168 Stunden auf 12357 Ω und nach 302 Stunden auf 12436 Ω an und bei der Blutgruppe A₂B steigt der Wert auf 15458 Ω beziehungsweise auf 15965 Ω an. Die anderen Blutgruppen zeigen eine wesentliche Erhöhung des Messsignals, wie in der zuvor angeführten Graphik (Abb. 167) zu sehen ist. In allen Messungen ist die Blutgruppe A₂ von den anderen fünf Blutgruppen zu unterscheiden.

In Tabelle 25 sind die erhaltenen Messwerte aus Kapazitäts- und Widerstandsmessungen bei unterschiedlichem Alter der Sensorschicht nochmals zusammengefasst und gegenübergestellt. Es ist zu erkennen, dass bei jeder Messung die Templatblutgruppe A₂ von den anderen Blutgruppen unterscheidbar war. Die Kapazitätswerte sinken dabei mit zunehmendem Alter ab und die Widerstandswerte steigen an.

Tabelle 25: Zusammenfassung des Alterungstestes eines A₂-geprägten 10 µm-IDK-Sensors bei einer Messfrequenz von 10 kHz und einer Messspannung von 1V.

Messwert	Blutgruppen					
	A ₁	A ₂	B	0	A ₁ B	A ₂ B
	10 Stunden					
Kapazität C [pF]	47	130	27	32	46	87
Widerstand R [Ω]	22156	11132	31767	28911	22572	14438
	72 Stunden					
Kapazität C [pF]	44	130	24	33	47	90
Widerstand R [Ω]	22288	10746	33632	27380	21895	13965
	168 Stunden					
Kapazität C [pF]	35	100	21	20	30	73
Widerstand R [Ω]	25803	12357	36455	38533	28549	15458
	302 Stunden					
Kapazität C [pF]	28	100	20	20	25	69
Widerstand R [Ω]	30675	12436	37607	40010	33229	15965

Betrachtet man die Stabilität der Erythrozyten in Abhängigkeit des Lösungsmittels, ist zu erkennen, dass in nicht isotonischen Bedingungen – wie Deionat – nur eine geringe Stabilität gegeben ist. So zeigen die roten Blutzellen schon nach kurzer Verweildauer in deionisiertem Wasser ein wesentlich geringeres Kapazitätssignal auf, wobei die Blutgruppen A₁ und A₂ noch zu unterscheiden sind. Wie auch an den Werten in Tabelle 26 zu erkennen ist, verändert sich der prozentuelle Abfall der Messwerte von ihrem maximalen Wert nach dem Befüllen der Messzelle und dem abgelesenen Kapazitätswert am Ende der Messung.

Tabelle 26: Zusammenfassung der Kapazitätswerte für die Messung der Blutgruppe A₁ und A₂ mit einer unterschiedlichen Inkubationszeit der Erythrozyten in Deionat. Die Konzentration der Probelösungen betrug $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Es wurde bei einer Frequenz von 10 kHz und einer Spannung von 1 V eines A₂-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidion-beschichtung) gemessen.

Kapazität C			
Verweildauer in Deionat	Messwert (Anfang)	Messwert (Ende)	Änderung
[min]	[pF]	[pF]	[pF] ([%]*)
Blutgruppe A₁			
5	36,4	27,3	9,7 (25,0)
10	35,1	25,0	10,1 (28,8)
20	28,4	21,3	7,1 (25,0)
30	21,2	15,4	5,8 (27,4)
Blutgruppe A₂			
5	280	257	23,0 (8,2)
10	241	223	18,0 (7,5)
20	104	82,4	21,6 (20,8)
30	77,7	55,0	22,7 (29,2)

* Änderung in Prozent zum maximal erreichten Messwert nach der Füllung der Messzelle

Bei den Widerstandsmessungen ist ein Absinken der Messwerte zu beobachten, da durch das Platzen von roten Blutzellen intrazelluläre Bestandteile, wie Na^+ - oder K^+ -Ionen, in die Messlösung gelangen und so die Ionenkonzentration und mit dieser die Leitfähigkeit der Lösung erhöht. Dadurch wird der Widerstand erniedrigt, wie die Zusammenfassung der gemessenen Werte in Tabelle 27 zeigt.

Tabelle 27: Zusammenfassung der Widerstandswerte für die Messung der Blutgruppe A₁ und A₂ mit einer unterschiedlichen Inkubationszeit der Erythrozyten in Deionat. Die Konzentration der Probelösungen betrug $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Es wurde bei einer Frequenz von 10 kHz und einer Spannung von 1 V mittels A₂-geprägten 10 µm-IDK-Sensor (Polyvinylpyrrolidion-beschichtung) gemessen.

Widerstandsmessungen			
Blutgruppe A ₁		Blutgruppe A ₂	
Verweildauer	Widerstand R	Verweildauer	Widerstand R
[min]	[Ω]	[min]	[Ω]
5	47785	5	13275
10	52463	10	14219
20	38278	20	12976
30	36858	30	11036

Es zeigt sich, dass die Blutzellen nur eine geringe Stabilität in Deionat besitzen und deshalb die Messung innerhalb von maximal 10 Minuten, besser jedoch unter 5 Minuten, nach der Zusammenmischung des Erythrozytenkonzentrats mit dem Lösungsmittel (Deionat) erfolgen soll. Bei einer längeren Inkubationszeit der roten Blutzellen in einem nicht isotonischen Lösungsmittel verringerten sich die Unterschiede der Kapazitäts- und Widerstandswerte zueinander, wodurch eine mögliche Differenzierung der sechs Blutgruppen wesentlich schlechter wurde.

Wird das Alter der Vollblutproben als Stabilitätskriterium herangezogen, zeigt sich, dass eine Differenzierung der Blutproben mittels IDK-Messung bis zu einem Alter von 3 Monaten möglich war. Dazu konnte sowohl die Kapazitäts- als auch die Widerstandsmessungen herangezogen werden. Bei einem Blutprobenalter von 6 Monaten oder älter, nähern sich die Messwerte jener der Templatblutgruppe an und sind bei einem Alter von mehr als 9 Monaten nicht mehr voneinander zu unterscheiden. Weiters zeigt sich, dass durch die Ausbildung von Blutzellenagglomeraten die Kapazitäts- und Widerstandswerte ansteigen. Der Kapazitätsanstieg ist dabei auf die größere Interaktionsfläche mit dem elektrischen Feld zurückzuführen. Der Widerstandsanstieg ist durch den Verschluss von Poren im Polymer durch die Einlagerung und der unspezifischen Ablagerung von großen Erythrozyten-Agglomeraten zu erklären.

Tabelle 28: Zusammenfassung der IDK-Messungen von unterschiedlich alten Blutproben (<2 Wochen, 3 Monate, 6 Monate, 9 Monate und 12 Monate) mit einem 10 µm-IDK und mit Probelösungen der unterschiedlichen Blutgruppen mit einer Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml in Deionat. Die Messfrequenz betrug 10 kHz und die Messspannung 1 V.

Messwert	Blutgruppen					
	A ₁	A ₂	B	0	A ₁ B	A ₂ B
	< 2 Wochen					
Kapazität C [pF]	128	72,1	28,7	34,3	86,4	27,7
Widerstand R [Ω]	10691	18202	26643	22336	15014	22852
	3 Monate					
Kapazität C [pF]	122	74,2	52,2	45,1	94,1	45,2
Widerstand R [Ω]	17278	22115	28238	26897	21543	26875
	6 Monate					
Kapazität C [pF]	170	123	134	125	143	134
Widerstand R [Ω]	29665	63932	50651	46484	39271	48137
	9 Monate					
Kapazität C [pF]	197	167	181	179	193	170
Widerstand R [Ω]	21310	83273	63839	54814	51752	58758
	12 Monate					
Kapazität C [pF]	276	262	271	267	273	265
Widerstand R [Ω]	97913	102293	105238	103717	99194	98205

Bei der Verwendung eines QCM-Sensors, sind nur Blutproben mit einem geringeren Alter als 3 Monate für eine signifikante Differenzierung der unterschiedlichen Blutgruppen gut geeignet. Mit weiter zunehmendem Alter der Erythrozyten ist eine Unterscheidung nicht mehr möglich und es erfolgt eine unspezifische Einlagerung der Blutzellen in die Polymerschicht auf der Messelektrode. Weiters steigt auch das Referenzsignal an, da Blutzellenagglomerate an die Referenzelektrode angelagert werden und eine größere Massenänderung bewirken. Die Ergebnisse der Messung von vier unterschiedlich alten Proben (< 2 Wochen, 3 Monate, 6 Monate und 9 Monate) sind in der folgenden Tabelle 29 zusammengefasst.

Tabelle 29: Zusammenfassung der QCM-Messungen von unterschiedlich alten Blutproben (<2 Wochen, 3 Monate, 6 Monate und 9 Monate) mit einem 10 MHz-Quarz mit einer Zweielektroden-Struktur bei einer Spannung von 12 V und mit Probelösungen mit einer Konzentration von $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml in Deionat.

Messwert	Blutgruppen					
	A ₁	A ₂	B	0	A ₁ B	A ₂ B
	< 2 Wochen					
Frequenzänderung $\Delta f/\text{Hz}$	-7372,2	-1671,2	-3230,5	-2690,0	-5036,8	-3273,9
	3 Monate					
Frequenzänderung $\Delta f/\text{Hz}$	-7036,1	-3856,4	-3058,3	-3058,3	-5436,4	-3938,9
	6 Monate					
Frequenzänderung $\Delta f/\text{Hz}$	-9626,5	-8337,5	-8794,8	-9097,4	-9137,6	-9129,2
	9 Monate					
Frequenzänderung $\Delta f/\text{Hz}$	-10143,6	-9229,2	-9814,1	-9063,0	-8965,4	-9427,6

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass ein Sensor aus einem IDK in Kombination mit einer Polymerschicht eine hohe Stabilität liefert und die Blutzellen, unabhängig vom Alter der Polymerschicht, sowohl mittels Kapazitäts-, als auch mittels Widerstandsmessungen unterschieden werden können. Dabei zeigt die Polyvinylpyrrolidonschicht auch über eine Betriebsdauer von 72 Stunden die gleiche Selektivität zu den unterschiedlichen Blutproben. Bei einer längeren durchgehenden Verwendung des Sensors (302 Stunden), sinken zwar die erhaltenen Signale der Kapazitätsmessung beziehungsweise steigen die Widerstandswerte an, die Blutgruppen sind jedoch noch immer voneinander zu unterscheiden und zu charakterisieren.

Im Gegensatz dazu, stellt der Analyt – die Erythrozyten – aufgrund der Stabilität der Membran und der Haltbarkeit seiner Oberflächenstruktur eine Limitierung dar. In Messungen mit nicht isotonischen Lösungsmitteln – wie Deionat – sind die Blutzellen nur über einen geringen Zeitraum von rund 15 Minuten im Lösungsmittel stabil. Bei den Kapazitäts- und Widerstandsmessungen sind aufgrund des Platzens der Zellen entweder eine schnelle Messung nötig, oder die Verwendung von isotonischen Lösungsmitteln, welche jedoch einen Einfluss auf die Messprinzipien, aufgrund einer höheren Ionenkonzentration, aufzeigen.

Des Weiteren erleiden die Blutzellen auch in den Erythrozytenkonzentraten und in den Vollblutproben eine Degeneration der Zellenmembran, vor allem von den Proteinen auf deren Zellmembran, und verringern so deren Unterscheidbarkeit mittels Kapazitäts-, Widerstands- und QCM-Messungen. Durch das Altern der Zellmembran bilden sich auch Agglomerate aus, welche bei der QCM-Messung, aufgrund der höheren eingelagerten Masse, eine größere Frequenzerniedrigung mit steigendem Alter der Zellen bewirken. Dabei liegt das limitierende Alter der Vollblutproben bei der QCM-Messung bei 3 Monaten. Bei der Kapazitätsmessung zeigt sich, dass die Blutzellen bis zu einem Alter von 6 Monaten gut zu unterscheiden sind. Werden jedoch ältere Blutproben herangezogen, zeigen alle Blutgruppen eine gleich große Kapazität auf und sind nicht mehr zu unterscheiden. Dabei ist zu beobachten, dass höhere Kapazitätswerte bei älteren Blutproben gemessen wurden. Die Form der Kurvenverläufe bei der Messung der Kapazität ändert sich ebenfalls mit dem Alter der Blutproben und zeigt einen geringeren Abfall der Kapazität nach dem Befüllen der Messzelle, wenn ältere Proben verwendet werden. Bei der Widerstandsmessung sind die Blutgruppen ebenfalls bis zu einem Probenalter von 6 Monaten gut zu unterscheiden, wobei der Widerstand mit zunehmendem Alter ansteigt. Eine rasche Aufbereitung, Reinigung und Messung der Probelösungen ist in jedem Fall notwendig, damit der Analyt in einer messbaren Form vorliegt.

5. Zusammenfassung

5.1. Zusammenfassung

In dieser Dissertation wurden chemische Sensoren für die Typisierung und Charakterisierung von Erythrozyten entwickelt. Durch molekulares Prägen wurden 10 µm-, 5 µm-Interdigitalkondensatoren und 10 MHz-Zweielektroden-Quarzmikrowaagen mit einer Polymerschicht versehen, welche Kavitäten mit einem exakten Abbild der chemischen Bindungseigenschaft der Erythrozyten besitzt. Dies wird über das Prägen eines Präpolymers mit Analytzellen während des Aushärtens erreicht, da aufgrund der Polymerisation gemäß eines Selbstorganisationprozesses die Monomere sich um die Erythrozyten assemblieren und deren Oberflächenstruktur abbilden. Da die Erythrozyten der Blutgruppen A, B, AB und 0 unterschiedliche Antigene auf deren Membranen besitzen, war es möglich mittels einer sensitiven Polymerschicht unter Verwendung von IDK und QCM als Transducer diese voneinander zu differenzieren. Auch die Subblutgruppen der Blutgruppe A – A₁, A₂, A₁B, A₂B – konnten so typisiert werden, obwohl sie sich nur aufgrund der Anzahl der Antigene auf der Zellmembran unterscheiden. Dabei zeigte sich, dass sowohl mittels massensensitiver Sensoren (QCM), als auch bei der Messung mit kapazitiven und resistiven Sensoren (IDK) das Templat die größten Messsignale lieferte und somit von den anderen Blutgruppen differierte. Bei IDK-Sensoren zeigte sich eine Messfrequenz von 1 bis 10 kHz als ideal, da die Messwerte in diesem Bereich keine Abhängigkeit von der Frequenz des angelegten Wechselstroms aufwiesen.

Als Polymere wurden Polyvinylpyrrolidon, Polyacrylat und Polyurethan getestet. Alle Polymere zeigten eine signifikante Unterscheidbarkeit der Blutgruppe A₁ und A₂ zueinander, wobei Polyvinylpyrrolidon, sowohl bei den massensensitiven, als auch bei den kapazitiven und resistiven Messungen, die höchsten Messeffekte und die geringste unspezifische Adsorption lieferte. Bei der Kapazitätsbestimmung mittels IDK konnte bei der Differenzierung der A-Subblutgruppen für die Templatblutgruppe ein bis um den Faktor 2 größeres Signal ermittelt werden. Ebenso unterschied sich der gemessene Widerstand um zirka den Faktor 2. Bei der QCM-Messung wies Polyvinylpyrrolidon für die Templatblutgruppe A₁ im Vergleich zur Blutgruppe A₂ eine um den Faktor 4 größere Frequenzänderung auf und die unspezifische Adsorption auf der Referenzelektrode belief sich auf unter 3 % des Messsignals. Sensoren mit einer Polyvinylpyrrolidonschicht in Kombination mit einem IDK zeigten auch nach einer durchgehenden Betriebszeit von über 302 Stunden eine signifikante Unterscheidbarkeit aller Blutgruppen zur Templatblutgruppe.

Des Weiteren wurde der Einfluss der umgebenden Lösung auf die Polymerschicht und die Widerstandsmessungen beobachtet. Dazu wurde mit unterschiedlichen Salzkonzentrationen gearbeitet, wobei auch hier die Polyvinylpyrrolidonschicht eine sehr gute Reversibilität und Selektivität aufwies. Durch die im Polymer vorhandenen Poren wurde eine Widerstandserniedrigung aufgrund der Ionenwanderung zwischen den Elektroden des IDK nachgewiesen. Bei der Verwendung von Deionat degradierten die Blutzellen aufgrund von Osmose und die austretenden Ionen bewirkten eine Widerstandserniedrigung. Bei der Messung unter isotonischen Bedingungen führte dagegen die Einlagerung der Erythrozyten zum Verschluss der Poren und zu einer Erhöhung des Widerstandes. Beim Heranziehen von kleineren Kammstrukturen (5 μm -IDK-Sensoren) wurde dieses Messprinzip auf eine Widerstandserhöhung von deutlich über 100% optimiert, womit das Messen der Blutzellen in einem für deren Haltbarkeit idealen, isotonischen Umgebungsmedium ermöglicht wurde.

Sowohl die Kapazitätsmessungen mittels IDK-Sensoren, als auch die Frequenzmessungen mittels QCM-Sensoren, zeigten bei der Bestimmung der Konzentrationsabhängigkeit der Messprinzipien einen linearen Bereich für Konzentrationen von $2,0 \cdot 10^7$ bis $1,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten/ml. Die Widerstandsmessungen zeigten in diesem Konzentrationsbereich einen exponentiellen Zusammenhang.

Selbst Alterungsphänomene der Blutkonserven, welche aufgrund von Agglutinationsvorgängen auftraten, waren zugänglich. Dabei war zu beobachten, dass mittels massensensitiven Messmethoden Blutproben mit einem Alter von über 3 Monaten die Differenz der Messsignale zwischen Templat- und Testblutgruppe abnahm. Bei der Verwendung von kapazitiven und resistiven Sensoren lag das limitierende Alter des Blutes bei 6 Monaten. Es war zu sehen, dass bei allen Messungen die Messsignale anstiegen und die Differenz zwischen der bei der Prägung verwendeten Blutgruppe zu den anderen Testblutgruppen abnahm. Beim Vergleich von Proben der Templatblutgruppe A₁ mit einem Alter von 2 Wochen zu einem Alter von 12 Monaten wurde ein Anstieg der Kapazitäten um den Faktor 2 und des Widerstandes um den Faktor 9 beobachtet, da die eingelagerten Erythrozyten-Agglutinate eine größere Interaktion mit dem elektrischen Feld lieferten. Mit zunehmendem Alter zeigte sich auch, dass bei den IDK Sensoren, die Form der Kapazitätsmesskurven verändert wurde und nach dem Befüllen der Messzelle und dem Stoppen der Pumpe kein starkes Abfallen der Kapazität mehr auftrat.

5.2. Summary

In this PhD thesis, chemical sensors have been developed for differentiation, typing, and characterization of erythrocytes. Molecular imprinted polymers are applied as sensitive layers on transducers such as interdigital capacitors (IDCs) of width 5 or 10 μm , and 10-MHz dual electrodes quartz microbalances (QCMs). During polymerization, monomers engulf the template molecules (erythrocytes) by self organization process, leads to the structuring of polymer surface for the reversible incorporation of blood cells after removal of template. On the basis of different antigen structure on erythrocytes, blood groups are classified in ABO blood group system. Moreover, these structured polymers show appreciable selectivity and enable us to differentiate between subgroups A_1 , A_2 , A_1B and A_2B . The subgroups A_1 and A_2 owe same antigen structure but differ only by the number of antigens on the membrane surface. In capacitance, resistance, and mass-sensitive measurements, the templated blood groups show the higher sensor signals. Optimum frequency range to measure capacitance and resistance on IDCs is 1 to 10 kHz.

Polyvinylpyrrolidone, polyacrylate, and polyurethane were used as sensitive layers for analysis. All these materials allow us to differentiate between A_1 and A_2 blood groups. Whereas, pronounced sensor responses and minimal non-specific adsorption on reference electrode were achieved in the case of polyvinylpyrrolidone as sensitive layer. In capacitance measurements, the templated blood group A_1 show higher sensor signals by a factor greater than two than the other A-subgroup; while, a factor of about two in measuring resistance. In mass sensitive measurements, four times higher frequency shift was observed towards templated blood group A_1 in comparison to the blood group A_2 , while using polyvinylpyrrolidone as sensitive layer. Moreover, excellent rigidity of the polyvinylpyrrolidone layer in combination with IDCs is good compromise to measure more than 302 hours. During this time span, typing of the blood groups was feasible.

Furthermore, the influence of different analyte solutions on polymer layer was observed as a function of resistance. Polyvinylpyrrolidone layer shows excellent reversibility and selectivity while exposing to different concentrations of salt ions. A decrease in the resistance of material was observed due to the incorporation of ions into the layer. Disintegration of erythrocytes occurred when they remain in non-isotonic solvent systems – e.g. deionized water – and as a reason of ions attaining into the solvent reduction of the resistant signals were observed. In the measurements under isotonic conditions, the inclusion of red cells into the cavities leads to an

increase in resistance due to closure of pores. Increase in the resistance above 100% was observed while using IDC of 5 μm comb width. Through this measurement a differentiation under isotonic conditions were practicable.

Concentration dependent sensor responses were obtained while capacitive and mass sensitive measurements. In this case, a concentration range of 2.0×10^7 - 1.5×10^8 erythrocytes/ml was available for analysis. In this range, an exponential relation exists between concentration and measured resistance.

Even, degradation of blood samples could was monitored. In samples with an age of more than 3 months, agglomeration of blood cells occurred due to the agglutination of erythrocytes and the measured differences between template and blood group samples decreased. The age limit of blood cells reduces to 6 months while exposing to IDCs for capacitance or resistance measurements. Due to agglomeration of blood cells, enhanced sensor responses were obtained for almost all the samples. Thus, differentiation between various blood types is going to be decreased. The comparative studies represent that blood group A₁ at an age of two weeks shows an increase in capacitance by a factor of two whereas resistance by a factor nine in comparison to blood groups with an age of twelve months. As a result of agglutination, the erythrocytes provide a greater interaction to the electric field. In the case of exposing fresh blood samples to measurement cell, a permanent change in the capacitance was observed, because of the disintegration of the erythrocytes. In contrast, by the use of older red blood cell solutions, a constant capacitance was measured, as represented by the shape of response curve.

6. Anhang

6.1. Chemikalienverzeichnis

1,4-Dithiothreitol (Merck; >99%; M=154,24 g/mol; C₄H₁₀O₂S₂; CAS: 3483-12-3)

1-Vinyl-2-Pyrolidon (Fluka; >97,0%; M=111,16 g/mol; C₆H₉NO; CAS: 88-12-0)

Azo-bis-(isobutyronitril) (Merck; >98,0%; M=164,21 g/mol; C₈H₁₂N₄; CAS: 78-67-1)

Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat (Merck; M=250,25 g/mol; C₁₅H₁₀N₂O₂; CAS: 101-68-8)

Methacrylsäure (Merck; >99%; M=86,09 g/mol; C₄H₆O₂; CAS: 79-41-4)

N,N'-(1,2-Dihydroxyethylen)bisacrylamid (Aldrich; >97%; M=200,19 g/mol; C₈H₁₂N₂O₄; CAS: 868-63-3)

N,N'-Methylbisacrylamid (BDH Chemicals Ltd Poole England; >97%; M=154,71g/mol; C₇H₁₀N₂O₂; CAS: 110-26-9)

Natriumchlorid (Fluka; >99,5%; M=58,44 g/mol; NaCl; CAS: 7647-14-5)

Phloroglucin (Merck; >99%; M=126,11 g/mol; C₆H₆O₃; CAS: 108-73-6)

Poly(4-Vinylphenol) (Aldrich; M=11000 g/mol; [C₈H₈O]_n; CAS: 24979-70-2)

Tetrahydrofuran (Merck; getrocknet, >99,9%; M=72,11 g/mol; C₄H₈O; CAS: 109-99-9)

Blutproben; Blutgruppen A₁, A₂, B, 0, A₁B, A₂B (Österreichischen Roten Kreuz - Blutspendezentrale in Wien; Vollblutproben mit EDTA-Zusatz)

Silicon Elastomer Kit (Fa. Dow Corning; bestehend aus Silicon Elastomer Base und Silicon Elastomer Agent)

Goldglanzpaste (Fa. W.C. Heraeus GmbH.; 12% Au-Anteil)

Photolack AZOCOL (Fa. Kissel+Wolf GmbH)

6.2. Geräteverzeichnis

LCR-Meter HP 4284 A (Fa. Hewlett Packard)

Messhalterung HP16047 für LCR Meter (Fa. Hewlett Packard)

Frequenzzähler Universal Counter Agilent 53131A (Fa. Agilent Technologies)

Netzwerkanalysator E5062A ENA Serie Network Analyzer (Fa. Agilent Technologies)

Peristaltikpumpe MCP Process IP-65 (Fa. Ismatec)

Atomic Force Microscope Nanoscope IIIa (Fa. Digital Instrument; Veeco Metrology Group)

Fluoreszenz-Lichtmikroskop Eclipse LV100 (Fa. Nikon)

Zentrifuge Centrifuge 5702 (Fa. Eppendorf)

Ultraschallbad Elmasonic S120 (Fa. Elma)

Kammerofen Thermicon P (Fa. Heraeus)

Analysenwaage BP210s ($\pm 0,1$ mg) (Fa. Sartorius)

Präzisionswaage BP2100 ($\pm 0,1$ g) (Fa. Sartorius)

6.3. Abkürzungsverzeichnis

AFM	Atomkraftmikroskopie (<i>atomic force microscopy</i>)
AIBN	Azo-bis-(isobutyronitril)
Deionat	deionisiertes Wasser
DHEBA	N,N'-(1,2-Dihydroxyethylen)bisacrylamid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ESL	Ersatzreiheninduktivität (<i>equivalent series inductivity</i>)
ESR	Ersatzreihenwiderstand (<i>equivalent series resistance</i>)
IDK	Interdigitalkondensator
MIP	molekular geprägtes Polymer (<i>molecular imprinted polymer</i>)
QCM	Quarzmikrowaage (<i>quartz crystal microbalance</i>)
THF	Tetrahydrofuran

7. Literatur

- ¹ Lieberzeit P.A., Dickert F.L.; Sensor technology and its application in environmental analysis; Anal. Bioanal. Chem. 387, 2007, **237-247**
- ² Hulanicki A., Glab S., Ingemann F.; IUPAC Discussion Paper; Commission V.I.; Juli 1989
- ³ Otto M.; Analytische Chemie, Dritte Auflage, Wiley-VCH Verlag, 2006, **594**
- ⁴ Mosbach K., Haupt K.; Molecularly imprinted polymers and their use in biomimetic sensors; Chem. Rev. 100, 2000, **2495-2504**
- ⁵ Dickert F.L., Thierer S.; Molecular imprinted polymers for optochemical sensors; Adv. Mater. 8 (12), 1996, **987-989**
- ⁶ Wulff, G.; Molecular imprinting in cross-linked materials with aid of molecular templates – A way towards artificial antibodies; Angewandte Chemie (International Edition in English) 34 (17), 1995, **1812-1832**
- ⁷ Seifner A., Lieberzeit P., Jungbauer C., Dickert F.L.; Synthetic receptors for selectively detecting erythrocyte AB0 subgroups; Anal. Chim. Acta 641, 2009, **215-219**
- ⁸ Dickert F.L., Tortschanoff M., Bulst W.E., Fischerauer G.; Molecularly imprinted sensor layers for the detection of polycyclic aromatic hydrocarbons in water; Anal. Chem. 71 (20), 1999, **4559-4563**
- ⁹ Dickert F.L., Haunschild A.; Sensor materials for solvent vapor detection – Donor-acceptor and host-guest interactions; Adv. Mater. 5 (12), 1993, **887-895**
- ¹⁰ Hayden O., Dickert F.L.; Selective microorganism detection with cell surface imprinted polymers; Adv. Mater. 13 (19), 2001, **1480-1483**
- ¹¹ Dickert F.L., Lieberzeit P.A., Achatz P., Palfinger C., Fassnauer M., Schmid E., Werther W., Horner G.; QCM array for on-line-monitoring of composting procedures; Analyst 129, 2004, **432-437**
- ¹² Böhmer E., Ehrhardt D., Oberschelp W.; Elemente der angewandten Elektronik; 15. Auflage; Vieweg; 2007; **2-12; 42-54;**
- ¹³ Busch R.; Elektrotechnik und Elektronik; 5. Auflage; Vieweg; 2008; **90-105**
- ¹⁴ Vsevolozhskii L.A., Filinov V.A.; Methods of measuring nonlinear capacity; Measurement Techniques 19 (10), 1976, **1497-1500**

-
- ¹⁵ Schwab A.; Begriffswelt der Feldtheorie: Praxisnahe, anschauliche Einführung. Elektromagnetische Felder, Maxwellsche Gleichungen, Gradient, Rotation, Divergenz; 6.Auflage, Springer Verlag, 2002, Berlin
- ¹⁶ Schwaigerer F., Sailer B., Glaser J., Meyer H.J.; Strom eiskalt serviert: Supraleitfähigkeit; Chemie in unserer Zeit 36, 2002, **108-124**
- ¹⁷ Hering E., Bressler K., Gutekunst J.; Elektronik für Ingenieure; 4. Auflage, Springer-Verlag, 2005, **30-49**
- ¹⁸ Anthony J.W., Bideaux R.A., Bladh K.W., Nichols M.C.; Handbook of Mineralogy, Mineral Data Publishing; Tucson Arizona USA, Mineralogical Society of America, 1990
- ¹⁹ Curie P., Curie J.; Développement, par pression, de l'électricité polaire dans les cristaux hémipède à faces inclinées. Présentée par M. Friedel; Comptes Rendus 91, 1880, **294-295**
- ²⁰ Curie P., Curie J.; Sur l'électricité polaire dans les cristaux hémipède à faces inclinées. Présentée par M. Desains; Comptes Rendus 91, 1880, **383-386**
- ²¹ Eichelbaum F., Borngräber R., Schröder J., Lucklum R., Hauptmann P.; Interface circuits for quartz-crystal-microbalance sensors; Rev. Sci. Instrum. 70 (5), 1999, **2537-2545**
- ²² Sauerbrey, G.; Verwendung von Schwingquarzen zur Wägung dünner Schichten und zur Mikrowägung; Zeitschrift für Physik 155; 1957; **206**
- ²³ Kanazawa K. K., Gordon J. G.; The oscillation frequency of a quartz resonator in contact with liquid; Anal. Chim. Acta 175, 1985, **99-105**
- ²⁴ Martin S. J., Granstaff V. E., Frye G. C.; Characterization of a quartzcrystal microbalance with simultaneous mass and liquid loading; Anal. Chem. 63, 1991, **2272-2281**
- ²⁵ Polyakov M. V., Kuleshina L. P., Neimark I. E.; On the dependence of silica gel adsorption properties on the character of its porosity; Zhur. Fiz. Khim. 10, 1937, **100-112**
- ²⁶ Polyakov M. V.; Adsorption properties and structure of silica gel; Zhur. Fiz. Khim. 2, 1931, **799**
- ²⁷ Dickert F. L., Hayden O.; Bioimprinting of polymers and sol-gel-phases, selective detection of yeasts with imprinted polymers; Anal. Chem. 74, 2002, **1302-1306**
- ²⁸ Dickert F.L.; Molecular Imprinting; Anal. Bioanal. Chem. 389, 2007, **353-354**

-
- ²⁹ Dickert F.L., Hayden O., Halikias K.P.; Synthetic receptors as sensor coatings for molecules and living cells; *Analyst* 126, 2001, **766-771**
- ³⁰ Binnig, G., Quate, C.F., Gerber, C.; Atomic force microscope; *Physical Review Letter* 56 (9), 1986, **930-933**
- ³¹ Oesterschulz E.; The potential of the scanning probe microscopy for thin film characterization; *Surface and Coatings Technology* 97 (1-3), 1997, **694-706**
- ³² Myshkin N.K., Grigoriev A.Y., Chizik S.A., Choi K.Y., Petrokovets M.I.; Surface roughness and texture analysis in microscale; *Wear* 254 (10), 2003, **1001-1009**
- ³³ Müller D.J., Anderson K.; Biomolecular imaging using atomic force microscopy; *Trends in Biotechnology*; 20 (8), 2002, **45-49**
- ³⁴ Jandt K.D.; Atomic force microscopy of biomaterials surfaces and interfaces; *Surface Science*, 497 (3), 2001, **303-332**
- ³⁵ Drenckhahn D.; *Anatomie*; 16. Auflage; Elsevier; 2004, München
- ³⁶ Levick J.R.; *Physiologie des Herz-Kreislauf-Systems*; UTB, Stuttgart; 1998
- ³⁷ Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L.; *Biochemie*, Spektrum Akademischer Verlag; 5. Auflage; 2003; **334; 625; 675; 936**
- ³⁸ Randall, Burggren, French; *Animal Physiology*; 5. Auflage, Verlag W.H. Freeman and Company, 2002, USA
- ³⁹ Rassow J., Hauser K., Netker R., Deutzmann R.; *Biochemie*; Thieme Verlag, 2. Auflage, 2008, **652-663**
- ⁴⁰ Löffler G., Petrides P.E., Heinrich P.C.; *Biochemie und Pathobiochemie*; Springer Medizin Verlag Heidelberg, 8. Auflage, 2007, **951-998**
- ⁴¹ Snyder G. K., Sheafor B. A.; Red Blood Cells: Centerpiece in the evolution of the vertebrate circulatory system; *American Zoologist* 39 (2), 1999, **189-198**
- ⁴² Rosenberg S.A., Guidotti G.J.; The protein of human erythrocyte membranes. Preparation, solubilisation and partial characterization; *J. Biol. Chem.* 243, 1968, **1985-1992**
- ⁴³ Steck T.L.; The organization of proteins in the human red blood cell membrane. A review.; *J. Cell. Biol.* 62, 1974, **1-19**
-

-
- 44 Van Deenen L.L.M., De Gier J.; Lipids of the red cell membran; Academic Press Inc.; New York; 1974; **147-211**
- 45 Palumbo A.P., Isobe M., Huebner K., Shane S., Rovera G., Demuth D., Curtis P.J., Ballantine M., Croce C.M., Showe L.C.; Chromosomal localization of a human band 3-like gene to region 7q35----7q36; Am. J. Hum. Genet. 39 (3); 1986; **307-316**
- 46 Landsteiner K.; Über Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes; Wiener Klinische Wochenschrift 14, 1901; **1132-1134**
- 47 Benett E. P., Steffensen R., Cöausen H., Weghus D. O., Van Kessel A. G.; Genoic cloning of the human histo-blood group ABO locus; Biochem. Biophys. Res. Commun. 206, 1995, **318-325**
- 48 Schenkel-Brunner, H.; Blood-group-ABH antigens of human erythrocytes. Quantitative studies on the distribution of H antigenic sites among different classes of membrane components; Eur. J. Biochem. 104; 1980; **181-189**
- 49 Schenkel-Brunner, H.; Human Blood Groups, Chemical and Biochemical Basis of Antigen Specificity; Springer Wien/New York; 2000
- 50 Bird, G.W.G.; Relationship of the blood sub-groups A1, A2 and A1B, A2B to Hæmagglutinins present in the seeds of dolichos biflorus; Nature, 170 (4329); 1952; **674**
- 51 Schachter H., Michaels M.A., Crookston M.C., Tilley C.A., Crookston J.; A quantitative difference in the activity of blood group A-specific N-acetylgalactosaminyltransferase in serum from A1 and A2 human subjects; Biochem. Biophys. Res. Commun. 45, 1971, **1011-1018**
- 52 Economidou J., Hughes Jones N.C., Gardner B.; Quantitative measurements concerning A and B antigen sites; Vox Sang., 12 (5); 1967; **321-328**
- 53 Landsteiner K., Wiener A. S.; Studies on an agglutinogen (Rh) in human blood reacting with anti-rhesus sera and with human isoantibodies; J- Exp. Med., 74, 1941, **309-320**
- 54 Cartron J.P.; Defining the Rh blood group antigens – Biochemistry and molecular genetics; Blood Rev. 8, 1994, **199-212**
- 55 Daniels G.L., Annstee D.J., Cartron J.P., Dahr W., Henry s., Issitt P.D., Jorgensen J., Judd W.J., Kornstad L., Levene C., Lomas-Francis C., Lubenko A., Mallory D., Moulds J.M., Moulds J.J., Okubo Y., Overbeeke M., Reid M.E., Rouger P., Seidl S., Sistonen P., Wendel S., Zelinski T.; Terminology for red cell surface antigens; Makuhari report; Vox Sang. 71; 1996; **246-248**

-
- ⁵⁶ Daniels G.L., Annstee D.J., Cartron J.P., Dahr W., Issitt P.D., Jorgensen J., Kornstad L., Levene C., Lomas-Francis C., Lubenko A., Mallory D., Moulds J.M., Moulds J.J., Okubo Y., Overbeeke M., Reid M.E., Rouger P., Seidl S., Sistonen P., Wendel S., Zelinski T.; Blood group terminology 1995 – ISBT working party on terminology for red cell surface antigens; Vox Sang. 69; 1995; **265-279**
- ⁵⁷ Operation Manual – Agilent 4284A Precision LCR Meter; 8th Edition; Agilent Technologies; January 2001
- ⁵⁸ Loutit J.F., Mollison P.L., Young I.M.; Citric acid-sodium citrate-glucose mixtures for blood storage; J Exp Physiol 32, 1943, **183-202**
- ⁵⁹ Gibson J.G., Rees S.B., McManus T.J., Scheitlin W.A.; A Citratephosphate dextrose solution for the preservation of human blood; Am J Clin Pathol 28, 1957, **569-578**
- ⁶⁰ Sweeney J., Kouttab N., Kurtis J.; Stored red blood cell supernatant facilitates thrombin generation; Transfusion 49, 2009, **1569-1579**
- ⁶¹ Heaton A.L., Rebulli P., Pappalettera M., Dzik W.H.; A comparative analysis of different methods for routine blood component preparation; Transfusion Medicine Reviews 11 (2), 1997, **116-129**

Lebenslauf

Curriculum Vitae

Persönliche Daten

Name:	Mag. Stephan Aigner
Geburtsdatum:	04.02.1984
Geburtsort:	Wien Hietzing
Familienstand:	ledig
Staatbürgerschaft:	Österreich

Schulische und Akademische Ausbildung

1990 – 1994	Volksschule Laimäckergasse in Wien Favoriten
1994 – 1998	Bundesrealgymnasium in Tulln
1998 – 2003	Höhere Bundeslehr- und Versuchsanstalt für Chemische Industrie in Wien Hernals
13.06.2003	Reife- und Diplomprüfung
10.2004 – 06.2009	Diplomstudium Chemie an der Universität Wien
02.2009 – 06.2009	Diplomarbeit am Institut für Analytische Chemie und Lebensmittelchemie in der Abteilung Chemosensoren und optische Molekülspektroskopie bei Herrn O. Univ.-Prof. Dr. F. L. Dickert Thema: „Charakterisierung von Erythrozyten mittels molekular geprägten massensensitiven, kapazitiven und resistiven Sensoren“
seit 07.2009	Dr.-Studium der Naturwissenschaften an der Universität Wien
seit 07.2009	Dissertation am Institut für Analytische Chemie in der Abteilung Chemosensoren und optische Molekülspektroskopie bei Herrn O. Univ.-Prof. Dr. F. L. Dickert
